



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 383 383**

21 Número de solicitud: 201001567

51 Int. Cl.:

C08G 63/06 (2006.01)

C08G 63/89 (2006.01)

C12P 7/62 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación: **24.11.2010**

43 Fecha de publicación de la solicitud: **20.06.2012**

43 Fecha de publicación del folleto de la solicitud:
20.06.2012

71 Solicitante/s: **Jesús Zorrilla González**
c/ Marejada, nº 60 - Pta. 8
29730 Torre de Benagalbón, Málaga, ES

72 Inventor/es: **Zorrilla González, Jesús**

74 Agente/Representante:
No consta

54 Título: **Extracción de polihidroxicanoatos (PHA), a partir de biomasa oleaginosa y utilización del disolvente obtenido para la extracción de polihidroxicanoatos (PHA), a partir de biomasa.**

57 Resumen:

Extracción de polihidroxicanoatos (PHA), a partir de biomasa oleaginosa y utilización del disolvente obtenido para la extracción de polihidroxicanoatos (PHA), a partir de biomasa.

La presente invención está relacionada con un proceso para separar polihidroxicanoatos (PHA) en una biomasa oleaginosa que contenga PHA y que comprende las siguientes fases:

- a) Introducción de la biomasa oleaginosa en una estufa a 100°C durante 6 horas, aproximadamente.
- b) Tratamiento de la biomasa oleaginosa con un disolvente específico de PHA.
- c) Realización del tratamiento en un equipo de extracción SOXHLET.
- d) Obtención de un precipitado de PHA y un disolvente con características específicas.
- e) Separación por filtración del precipitado de PHA y el disolvente obtenido.
- f) El disolvente obtenido tiene propiedades para poder extraer PHA en biomasa, tanto oleaginosa como no oleaginosa.

ES 2 383 383 A1

DESCRIPCIÓN

Extracción de polihidroxicanoatos (PHA), a partir de biomasa oleaginosa y utilización del disolvente obtenido para la extracción de polihidroxicanoatos (PHA), a partir de biomasa.

5

Sector de la técnica

La presente invención está basada en la patente ES 2 185 796 T3, en la que se realiza la extracción de un polihidroxicanoato a partir de un sistema biológico, tal como una planta o bacteria, llevando a cabo la extracción con un disolvente.

10

Con la presente invención, se trata de mejorar los rendimientos en la extracción de PHA a partir de una biomasa oleosa con el uso de un disolvente para PHA y recuperación, con el procedimiento descrito, de un disolvente con características especiales, utilizable en la extracción de PHA a partir de una biomasa.

15

Estado de la técnica

Las industrias petroquímicas eran la fuente mayoritaria y rentable de obtención de polímeros para la industria plástica. Ante la demanda de dichas industrias de conseguir materias primas no contaminantes se han conseguido recientes avances en la tecnología, dando como resultado nuevas fuentes de polímeros útiles en este tipo de industrias.

20

Cabe resaltar la producción de resinas plásticas usando organismos vivos ("bioplástico"), incluyendo bacterias y plantas de cultivo genéticamente manipuladas, que se diseñan para producir polímeros tales como polihidroxicanoato (PHA); también, un gran número de bacterias que producen PHA de forma natural es una fuente prometedora de PHA (véase, por ejemplo, Poirier, Y., D.E. Dennis, K. Klomparens y C. Somerville, "Polyhydroxybutyrate, a biodegradable thermoplastic, produced in transgenic plants", SCIENCE, Vol. 256, pp. 520-523 (1992); la publicación de solicitud de WO 95/05472, publicada el 23 de febrero de 1995; la publicación de solicitud de WO 93/02187, publicada el 4 de febrero de 1993; NOVEL BIODEGRADABLE MICROBIAL POLYMERS, E.A. Dawes, ed., NATO ASI Series, Series E: Applied Sciences - Vol. 186, Kluwer Academic Publishers (1990)).

25

30

En una producción a gran escala, es necesaria encontrar métodos más rentables para la obtención y purificación de PHA.

35

Los métodos de separación convencionales usados de forma extensiva en la extracción de lípidos de bajo peso molecular no son prácticos para emplearlos en un procedimiento de aislamiento de resina. Por ejemplo, una presión mecánica simple es impracticable debido a que, a diferencia de la separación de aceites vegetales a partir de frutos oleaginosos, los plásticos sólidos no se pueden extraer mediante estrujamiento de las cosechas por prensado mecánico.

40

La separación de PHA por métodos de sedimentación debería ser, en principio, posible. Sin embargo, la sedimentación gravitacional (fuerza de 1G) simple en un medio de suspensión líquido es, de hecho, bastante impracticable. La velocidad de sedimentación es extremadamente lenta. Además, tal sedimentación lenta se rompe fácilmente por el movimiento Browniano de las partículas de PHA inducido por la fluctuación térmica de las moléculas del fluido de suspensión que rodea a las partículas. Además, el extenso período de tiempo requerido para sedimentar partículas de PHA muy finas introduce el problema de la contaminación bacteriana y posterior biodegradación de la suspensión de las partículas.

45

Los métodos conocidos de extracción con disolventes también están limitados para la separación a gran escala de PHA a partir de una biomasa. Un disolvente usado habitualmente para la extracción de PHA procedente de bacterias es cloroformo. También se describen para uso otros disolventes hidrocarbonados halogenados tales como diclorometano, dicloroetano y cloropropano (véase, por ejemplo, la US 4.562.245, Stageman, expedida el 31 de diciembre de 1985; la US 4.324.907, Senior, Wright y Anderson, expedida el 13 de abril de 1982; la US 4.310.684, Vanlautem y Gilain, expedida el 12 de enero de 1982; la US 4.705.604, Vanlautem y Gilain, expedida el 10 de noviembre de 1987; la solicitud de EP 036 699, Homes y Wright, publicada el 3 de septiembre de 1981; y la solicitud de DE 239.609, Schmidt, Schmiechen, Rehm y Trennert, Publicada el 10 de enero de 1986).

55

En el proceso de extracción del disolvente, la disolución de PHA concentrada forma a menudo un fluido de viscosidad muy alta, o incluso algunas veces un gel, que puede ser extremadamente difícil de procesar. Además, tales disolventes son potencialmente dañinos para la salud y el medio ambiente si no se eliminan completamente del PHA.

60

En consecuencia, no sería deseable el uso de una gran cantidad de tales disolventes que dan como resultado la formación de disoluciones o geles altamente viscosos, especialmente próximos al sitio de recolección.

En los documentos EP 0.473.043, EP 0.124.309 y ES 2 177 796 T3 están basados en la necesidad de un procedimiento simple y económico para recuperar bioplásticos y sugieren procedimientos alternativos para extraer PHA de biomasa, a partir de una fuente biológica a gran escala.

65

ES 2 383 383 A1

El documento ES 2 185 796 T3 extrae polihidroxicanoatos a partir de un sistema biológico, tal como una planta o bacteria, llevando a cabo la extracción con un disolvente. En dicha invención utiliza la agitación como método de extracción de PHA con el disolvente. Posteriormente, elimina el disolvente para poder obtener el precipitado de PHA.

5

Descripción de la invención

El presente documento está basado en un procedimiento para separar polihidroxicanoato (PHA) a partir de una biomasa con características oleaginosas, que contiene el PHA en grandes cantidades. El procedimiento es el siguiente:

10

- a) Introducir la muestra seleccionada en una estufa a 100°C durante 6 horas, aproximadamente.
- b) Tratar la biomasa oleaginosa con un disolvente específico de PHA.
- 15 c) Realizar el tratamiento en un equipo de extracción SOXHLET.
- d) Obtención de un precipitado de PHA y un disolvente con características específicas.
- e) Separación por métodos convencionales, como filtración, del precipitado de PHA y el disolvente obtenido.
- 20 f) El disolvente obtenido tiene propiedades para poder extraer PHA en biomasa, tanto oleaginosa como no oleaginosa.

25

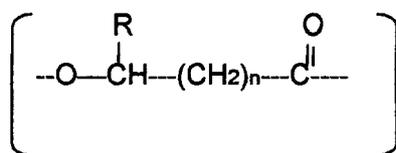
Tal procedimiento satisface la necesidad de un procedimiento relativamente simple y económico para recuperar bioplásticos a partir de una fuente biológica a gran escala.

Definiciones de los términos usados en la descripción de este método:

30

- Biomasa: Materia orgánica originada en un proceso biológico, espontáneo o provocado.
- Biomasa oleaginosa: Biomasa procedente de frutos ricos en aceites, (aceituna, aguacate y otros).
- Polihidroxicanoato y PHA: Polímero que tiene la unidad que se repite:

35



40

Los términos polihidroxicanoato y PHA incluyen polímeros que contienen una o más unidades que se repiten diferentes.

45

- Extraer polihidroxicanoato a partir de una biomasa, además de referirse a la extracción del PHA particular producido por una biomasa que produce un único PHA, también se refiere a la recuperación de uno o más tipos de PHA cuando la biomasa produce más de un tipo de PHA.
- 50 - Disolvente: Sustancia capaz de disolver otra sustancia (soluto) para formar una mezcla uniformemente dispersa (disolución) a nivel de tamaño molecular o iónico.
- Precipitado: Sólido que se produce en una disolución por efecto de una reacción química o bioquímica.
- 55 - Extractor SOXHLET (Fig. 1): A escala de laboratorio, es un tipo de material de vidrio utilizado para la extracción de compuestos, generalmente de naturaleza lipídica, contenidos en un sólido, a través de un solvente a fin.

60

El extractor consta de un condensador provisto de una chaqueta, con espigas para la entrada y salida del refrigerante. Está conformado por un cilindro de vidrio vertical. La columna está dividida en una cámara superior y otra inferior. La superior o cámara de muestra sostiene un sólido o polvo del cual se extraerán compuestos. La cámara de disolvente, exactamente abajo, contiene una reserva de disolvente. Dos tubos vacíos, o brazos, corren a lo largo a un lado de la columna para conectar las dos cámaras. El brazo de vapor va desde la parte superior de la cámara del disolvente a la parte superior de la cámara del sólido. El otro brazo, para el retorno de disolvente, describe dos U sobrepuestas, que llevan desde la cámara de la muestra el disolvente hasta la cámara de disolvente.

65

ES 2 383 383 A1

El SOXHLET funciona cíclicamente, para extraer las concentraciones necesarias de algún determinado compuesto.

Éste funciona de la siguiente forma: Cuando se evapora el disolvente sube hasta el área donde es condensado; aquí, al caer y regresar a la cámara de disolvente, va separando los compuestos, hasta que se llega a una concentración deseada.

Descripción detallada de la invención

Para la obtención de PHA en el presente procedimiento, se va a utilizar una biomasa procedente de especies de plantas oleaginosas como puede ser olivo y sus frutos, aunque se puede aplicar a otras especies oleaginosas y en los residuos generados en su tratamiento para la obtención de aceites.

Con el disolvente obtenido en el presente procedimiento, tras la extracción del PHA de la biomasa oleaginosa, tiene la propiedad de actuar como un disolvente para la extracción de PHA de otras biomásas, como pueden ser:

- Organismos unicelulares como bacterias, hongos y organismos superiores, tales como plantas, preferiblemente especies genéticamente manipuladas, diseñadas específicamente para la producción de un PHA específico de interés.

La información genética que se modifica en este tipo de plantas deriva de bacterias que producen PHA naturalmente.

Principalmente, las plantas que se utilizan para la extracción de PHA tanto modificadas genéticamente, como sin modificar, son aceituna, granos de cereales, cebada, remolachas, judía, trigo, zanahoria, coco, maíz, semilla de algodón, calabacín, lentejas, mijo, frijol, avena, palma de aceite, guisantes, cacahuete, patata, calabaza, colza, arroz, sorgo, soja, remolacha azucarera, caña de azúcar, girasol, batata, tabaco y sésamo, manzana, albaricoque, plátano, melón, cerezas, uvas, limón, lima, naranja, papaya, melocotones, pera, piña, mandarinas, almendra, tomate y sandía.

Preferiblemente, las plantas son manipuladas por ingeniería genética para producir PHA conforme a los métodos descritos en Poirier, Y., D.E. Dennis, K. Klomparens y C. Somerville, "Polyhydroxybutyrate, a biodegradable thermoplastic, produced in transgenic plants", SCIENCE, Vol. 256, pp. 520-523 (1992); y la publicación de solicitud de WO 93/02187, Somerville y col., publicada el 4 de febrero de 1993.

Las bacterias útiles utilizadas en el presente procedimiento incluyen cualesquiera bacterias manipuladas por ingeniería genética diseñadas para producir PHA, así como bacterias que producen PHA de forma natural.

Los ejemplos de tales bacterias incluyen aquellos descritos en NOVEL BIODEGRADABLE MICROBIAL POLYMERS, E.A. Dawes, ed., NATO ASI Series, Series E: Applied Sciences - Vol. 186, Kluwer Academic Publishers (1990); y las US 5.292.860, Shiotani y Kobayashi, expedida el 8 de marzo de 1994, las US 5.250.430, Peoples y Sinskey, expedida el 5 de octubre de 1993, las US 5.245.023, Peoples y Sinskey, expedida el 14 de septiembre de 1993, las US 5.229.279, Peoples y Sinskey, expedida el 20 de julio de 1993, la ES 2 061 405, Universidad Granada y González publicada el 1 de diciembre de 1994.

Los disolventes de PHA utilizados pueden ser acetona, acetonitrilo, benceno, acetato de butilo, propionato de butilo, β -butirolactona, γ -butirolactona, dióxido de carbono licuado, cloroformo, 1,2-dicloroetano, carbonato de dietilo, succinato de dimetilo, dimetilsulfóxido, dimetilformamida, 1,4-dioxano, acetato de etilo, diacetato de etilenglicol, acetato de metilo, metil-etil-cetona, 1,1,2,2-tetracloroetano, tetrahidrofurano, 1,1,2-tricloroetano, 1,2,3-tricloropropano, tolueno, xileno, o sus mezclas.

Principalmente, la acetona es el disolvente preferible medioambientalmente hablando, así como acetonitrilo, γ -butirolactona, 1,4-dioxano, acetato de metilo, tolueno, metil-etil-cetona, acetato de etilo, o sus mezclas.

El disolvente empleado se utilizará, en este procedimiento, a temperatura de ebullición, puesto que a altas temperaturas, la velocidad de extracción de PHA aumenta, mejorando el rendimiento de estos procesos.

Ejemplo de realización de la invención

1. Preparación de una muestra de la biomasa con alta cantidad de PHA desecada y empaquetada en papel de filtro.

2. A continuación, introducimos la muestra en un extractor SOXHLET (Fig. 1), junto con el disolvente para PHA. Se realiza una filtración y así, se retiene la biomasa insoluble al paso del disolvente.

3. Realizamos el proceso de extracción durante 3 horas, manteniendo el disolvente a temperatura de ebullición.

Durante el proceso de extracción se favorece el aumento de la concentración de PHA en el disolvente que a su vez es capaz de extraer otros compuestos de interés contenidos en la biomasa oleaginosa, como aceites y ceras.

ES 2 383 383 A1

Los aceites y ceras extraídos en este procedimiento facilitarán el precipitado de los PHA.

4. A medida que se está realizando la extracción, los lavados que realiza el disolvente aumenta la concentración de PHA en el disolvente del “balón” (Fig. 1), hasta que se alcanza una concentración crítica de estos PHA provocando la polimerización y posterior precipitación del PHA.

5. Se obtienen dos fases diferenciadas:

Una fase sólida compuesta de monómeros de PHA polimerizados y sus mezclas. Una fase líquida compuesta del disolvente inicial empleado, enriquecido con ceras y aceites contenidos en la biomasa, que han ayudado a la precipitación de los PHA.

6. A continuación se procede a la separación de las dos fases obtenidas, realizando un filtrado y lavado, o cualquier otro método de separación de sólidos-líquidos, como por ejemplo, centrifugación.

El disolvente obtenido en el punto 6 del método empleado está enriquecido en aceites y ceras, procedentes de la muestra de partida y se puede utilizar, usando el mismo método anterior, para la extracción de PHA procedentes de otras biomasa de plantas no oleaginosas, así como biomasa procedente de bacterias y hongos, que necesitan para su extracción este tipo de disolvente y también, biomasa oleaginosa.

El método empleado en el presente procedimiento es económicamente muy rentable en comparación con los métodos conocidos, debido a que se realiza en un solo paso y con el uso de un solo disolvente, obteniendo un disolvente enriquecido en aceites y ceras, que es utilizable, utilizando el mismo método, para extraer PHA de biomasa que necesitarían la adición de un disolvente que ayude en la extracción de PHA. Además, como disolvente se utiliza principalmente acetona y acetato de etilo, que son baratos, seguros y fácilmente disponibles, incluso a partir de fuentes renovables. Tales disolventes del PHA también se consideran mucho menos dañinos al medioambiente, especialmente para la capa de Ozono de la Tierra, comparados con los compuestos que contienen halógenos usados típicamente para la extracción de PHA de bacterias; y a la obtención de dos productos diferentes y de gran interés.

La obtención de los PHA obtenidos en la presente invención es interesante en varios tipos de industrias diferentes, como puede ser:

Uso en agricultura: Se puede actuar sobre la necesidad que tiene la agricultura del uso de plásticos biodegradables y así evitar utilizar residuos contaminantes no degradables.

Industrias envasadoras: En un intento de ofrecer herramientas a las industrias, en las mejoras de sus políticas medioambientales y en respuesta a la creciente demanda por parte de los consumidores, de un estilo de vida, cada vez más ecológico, el uso de bioplásticos puede ofrecer una oportunidad de diferenciación, respecto a la competencia.

En industrias orientadas al mercado ecológico ven en estos plásticos biodegradables, una oportunidad de mejora de sus productos en su uso como envases no contaminantes y respetuosos con el medio ambiente.

Industrias farmacéuticas: Ofrecer envases para formas farmacéuticas, apósitos, jeringas, pipetas, suturas, etc.

Industrias Biomédicas: Actuamos sobre la necesidad en biomedicina de utilizar productos biodegradables, que pueden actuar como soportes en ingeniería de tejidos, vehículos de moléculas, con especial interés en el departamentos de I+D para investigar y desarrollar nuevos materiales.

Otra ventaja sorprendente del presente procedimiento es su capacidad para producir suspensiones de PHA que se pueden usar, por ejemplo, como revestimientos, aglutinantes, aditivos para pinturas, alimentos, adhesivos, así como vehículos para colorantes, pigmentos, ingredientes bioactivos y perfumes.

REIVINDICACIONES

5 1. Un procedimiento para separar PHA a partir de una biomasa oleaginosa que contiene el PHA, **caracterizado** el procedimiento por:

- a) Tratar la biomasa con un disolvente de PHA.
- b) Utilización de un sistema extracción SOXHLET (Fig. 1) para la extracción de PHA.
- 10 c) Obtención de una fase sólida de precipitado de PHA y una fase líquida compuesta por el disolvente inicialmente utilizado y residuos de ceras y aceites procedentes de la biomasa.

15 2. Un procedimiento según la reivindicación 1 consistente en un filtrado y lavado del precipitado, dejando libre la mezcla de PHA de ceras y aceites.

3. Un procedimiento según la reivindicación 1 por el cual se obtiene un precipitado de PHA y sus mezclas.

20 4. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el disolvente del polihidro- xialcanoato se selecciona del grupo que consiste en acetona, acetonitrilo, benceno, acetato de butilo, propionato de butilo, β -butirolactona, γ -butirolactona, dióxido de carbono licuado, cloroformo, 1,2-dicloroetano, carbonato de dietilo, dietilformamida, carbonato de dimetilo, succinato de dimetilo, dimetilsulfoxido, dimetilformamida, 1,4-dioxano, acetato de etilo, diacetato de etilenglicol, acetato de metilo, metil-etil-cetona, 1,1,2,2-tetracloroetano, tetrahydrofurano, 1,1,2-tricloroetano, 1,2,3-tricloropropano, tolueno, xileno, y sus mezclas.

25 5. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el disolvente obtenido en el procedimiento se puede considerar como disolvente para la extracción de PHA en biomasa no oleaginosa, así como oleaginosa.

30 6. Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la biomasa sea de origen bacteriano, hongos, levaduras o plantas, así como sus modificaciones genéticas.

35

40

45

50

55

60

65

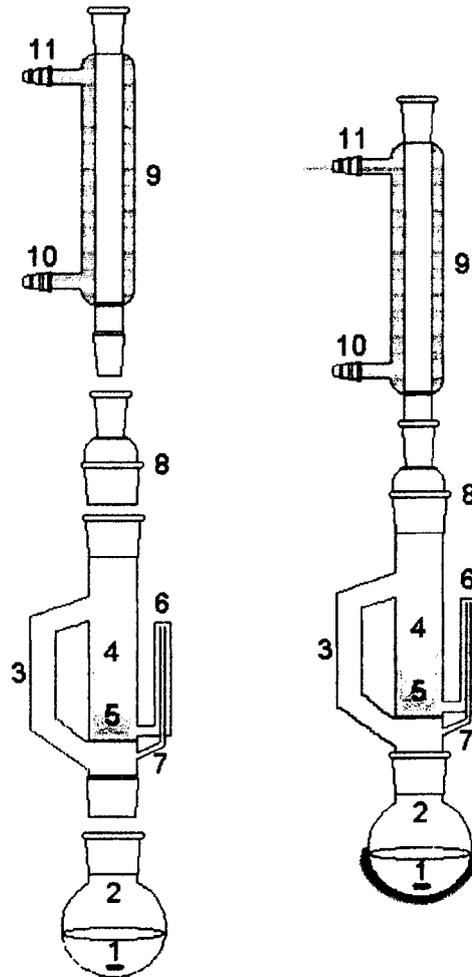


Fig. 1. Extractor SOXHLET

ES 2 383 383 A1

1. Buzo / agitador / granallas o esferas
2. Balón
3. Brazo para ascenso del vapor
4. Cartucho de extracción o cartucho SOXHLET
5. Muestra (residuo)
6. Entrada del sifón
7. Descarga del sifón
8. Adaptador
9. Refrigerante (condensador)
10. Entrada de agua de refrigeración
11. Salida de agua de refrigeración



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②① N.º solicitud: 201001567

②② Fecha de presentación de la solicitud: 24.11.2010

③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	WO 9715681 A1 (METABOLIX INC) 01.05.1997, todo el documento; en particular, ver, p. ej.: página 19, ejemplo 3.	1-6
X	FERNANDEZ D et al. Biochemical Engineering Journal. (15.11.2005) Vol. 26 , No. 2-3, Páginas: 159-167. Agro-industrial oily wastes as substrates for PHA production by the new strain Pseudomonas aeruginosa NCIB 40045: Effect of culture conditions. Isbn: ISSN 1369-703X. Todo el documento. Ver p. ej.: página 163, párrafos 1º y 2º.	1-6
X	NTAIKOU I et al. Bioresource Technology. (01.08.2009) Vol. 100, No. 15, Páginas: 3724-3730. Exploitation of olive oil mill wastewater for combined biohydrogen and biopolymers production. Isbn: ISSN 0960-8524. Todo el documento. Ver, p. ej.: página 3726, 2ª columna, párrafo 2º.	1-6
X	IMPALLOMENI G et al. International Journal of Biological Macromolecules. (28.10.2010) Vol. 48, No. 1, Páginas: 137-145. Synthesis and characterization of poly(3-hydroxyalkanoates) from Brassica carinata oil with high content of erucic acid and from very long chain fatty acids. Isbn: ISSN 0141-8130. Todo el documento. Ver, p. ej.: página 139, apartado 2.2.	1-6
X	HABA E et al. Biochemical Engineering Journal. (15.07.2007) Vol. 35, No. 2, Páginas: 99-106. Poly 3-(hydroxyalkanoates) produced from oily substrates by Pseudomonas aeruginosa 47T2 (NCBIM 40044): Effect of nutrients and incubation temperature on polymer composition. Isbn: ISSN 1369-703X. Todo el documento. Ver, p. ej., página 100, apartado 2.4.	1-6

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
31.01.2012

Examinador
A. Maquedano Herrero

Página
1/4

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

C08G63/06 (2006.01)

C08G63/89 (2006.01)

C12P7/62 (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C08G, C12P

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, XESP

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 31.01.2012

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones	SI
	Reivindicaciones 1-6	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones	SI
	Reivindicaciones 1-6	NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	WO 9715681 A1 (METABOLIX INC)	01.05.1997
D02	FERNANDEZ D et al. Biochemical Engineering Journal. Vol. 26, No. 2-3, Páginas: 159-167. Agro-industrial oily wastes as substrates for PHA production by the new strain Pseudomonas aeruginosa NCIB 40045: Effect of culture conditions. Isbn: ISSN 1369-703X. Todo el documento. Ver p. ej.: página 163, párrafos 1º y 2º.	15.11.2005
D03	NTAIKOU I et al. Bioresource Technology. Vol. 100, No. 15, Páginas: 3724-3730. Exploitation of olive oil mill wastewater for combined biohydrogen and biopolymers production. Isbn: ISSN 0960-8524. Todo el documento. Ver, p. ej.: página 3726, 2ª columna, párrafo 2º.	01.08.2009
D04	IMPALLOMENI G et al. International Journal of Biological Macromolecules. Vol. 48, No. 1, Páginas: 137-145. Synthesis and characterization of poly(3-hydroxyalkanoates) from Brassica carinata oil with high content of erucic acid and from very long chain fatty acids. Isbn: ISSN 0141-8130. Todo el documento. Ver, p. ej.: página 139, apartado 2.2.	28/10/2010
D05	HABA E et al. Biochemical Engineering Journal. Vol. 35, No. 2, Páginas: 99-106. Poly 3-(hydroxyalkanoates) produced from oily substrates by Pseudomonas aeruginosa 47T2 (NCBIM 40044): Effect of nutrients and incubation temperature on polymer composition. Isbn: ISSN 1369-703X. Todo el documento. Ver, p. ej., página 100, apartado 2.4.	15.07.2007

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

La solicitud reivindica un procedimiento para separar PHA (polihidroxiálcanoatos) a partir de una biomasa oleaginosa. Para ello utiliza un sistema de extracción Soxhlet y disolventes orgánicos. Al final de la extracción con el dispositivo Soxhlet, se obtiene una fase sólida de precipitado de PHA y otra líquida con el disolvente e impurezas.

D01-D05 reflejan el estado de la técnica anterior. En cualquiera de estos documentos se describen procedimientos de extracción de PHA a partir de biomasa mediante dispositivos Soxhlet y disolventes orgánicos. Por ejemplo, en D01 se describe la extracción mediante Soxhlet de PHA a partir de biomasa oleosa.

En D02 se describe la obtención de PHA a partir de bacterias que han crecido en residuos vegetales oleosos. Se extrae mediante dispositivo Soxhlet utilizando cloroformo como disolvente.

En D03 se obtiene PHA a partir de residuos de la molturación de la aceituna en la extracción de aceite de oliva.

En D04 y D05 se extrae PHA a partir de bacterias que han crecido en un medio oleoso.

Por todo ello, se considera que las reivindicaciones 1-6 de la solicitud no cumplen el requisito de novedad en el sentido del artículo 6.1 de la Ley 11/1986 ni el de actividad inventiva en el sentido del artículo 8.1 de la Ley 11/1986.