

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 403 881**

51 Int. Cl.:

**C08G 63/89** (2006.01)

**C12P 7/62** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.07.2003 E 03766892 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.09.2012 EP 1529072**

54 Título: **Métodos de extracción de polímeros**

30 Prioridad:

**06.08.2002 US 401498 P**  
**25.11.2002 US 428963 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**22.05.2013**

73 Titular/es:

**METABOLIX, INC. (100.0%)**  
**21 ERIE STREET**  
**CAMBRIDGE, MA 02139, US**

72 Inventor/es:

**WALSEM, JOHAN VAN;**  
**ZHONG, LUHUA y**  
**SHIH, SIMON S.**

74 Agente/Representante:

**URÍZAR ANASAGASTI, José Antonio**

**ES 2 403 881 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Métodos de extracción de polímeros

Campo técnico

5 [0001] La invención se refiere a métodos de extracción de polímeros.

Antecedentes

10 [0002] Un polihidroxialcanoato ("PHA") se puede extraer de biomasa que tiene células que contienen el PHA. Generalmente, este proceso implica combinar la biomasa con un disolvente para el PHA, seguido por calentamiento y agitación. Normalmente, esto proporciona un sistema que incluye dos fases, una fase es una solución que contiene el disolvente y el PHA, y la otra fase contiene la biomasa residual con células que contienen una cantidad reducida del PHA. Generalmente, las dos fases se separan, y luego se retira el PHA del disolvente.

Resumen

15 [0003] La invención se refiere a métodos de extracción de polímeros tal como se define en las reivindicaciones adjuntas. También se divulgamos un método de separación de un polímero de una biomasa que contiene el polímero. El método incluye poner en contacto la biomasa con un sistema disolvente para proporcionar una biomasa residual y una solución. El sistema disolvente incluye un disolvente para el polímero y un agente de precipitación para el polímero, y la solución incluye el polímero, el disolvente para el polímero y el precipitante para el polímero. El método también incluye aplicar una fuerza centrífuga a la solución y la biomasa residual para separar al menos parte de la solución de la biomasa residual.

20 [0004] También divulgamos un método de separar un polímero de biomasa que contiene el polímero. El método incluye poner en contacto la biomasa con un sistema disolvente para proporcionar una biomasa residual y una solución que incluye el polímero y el sistema disolvente, y separar al menos algo de la solución de la biomasa residual. El método también incluye añadir un precipitante para el polímero a la solución para eliminar al menos parte del polímero del sistema disolvente.

25 [0005] También se describe un método de separación de un polímero de biomasa que contiene el polímero. El método incluye poner en contacto la biomasa con un sistema disolvente para proporcionar una biomasa residual y una solución que incluye el polímero y el sistema disolvente. La solución tiene una concentración de polímero de al menos cerca de dos por ciento y una viscosidad de como máximo unos 100 centipoises. El método incluye también separar al menos parte de la solución de la biomasa residual.

30 [0006] También divulgamos un método de separar un polímero de biomasa que contiene el polímero. El método incluye poner en contacto la biomasa con un sistema disolvente para proporcionar una biomasa residual y una solución. El sistema disolvente incluye un disolvente para el polímero, y la solución incluye el polímero y el disolvente para el polímero. El disolvente para el polímero puede tener un punto de ebullición mayor que 100 °C. El método también incluye separar el polímero de la biomasa residual.

35 [0007] También divulgamos un método de separar un polímero de biomasa que contiene el polímero. El método incluye poner en contacto la biomasa con un volumen de un sistema disolvente para proporcionar una biomasa residual y una solución que incluye el polímero y el disolvente para el polímero, y separar al menos parte de la solución de la biomasa residual. El método también incluye añadir un volumen de un precipitante para el polímero a la solución separada para eliminar al menos parte del polímero de la solución. El volumen de precipitante añadido es menor que aproximadamente dos partes respecto al volumen del sistema disolvente.

40 [0008] También divulgamos un método de separar un polímero de una biomasa que contiene el polímero e impurezas de biomasa. El método incluye poner en contacto la biomasa con un precipitante para el polímero para eliminar al menos algunas de las impurezas de la biomasa de la biomasa que contiene el polímero y las impurezas de biomasa, proporcionando de ese modo una biomasa purificada que contiene el polímero. El método también incluye poner en contacto la biomasa purificada con un sistema disolvente para proporcionar una biomasa residual y una solución que incluye el polímero y el disolvente para el polímero.

45 [0009] También divulgamos un método de separar un polímero de una biomasa que contiene el polímero e impurezas de biomasa. El método incluye pre-tratar químicamente la biomasa para eliminar al menos algunas de las impurezas de biomasa de la biomasa que contiene la biomasa y las impurezas, proporcionando de ese modo una biomasa purificada que contiene el polímero. Los tratamientos químicos incluyen manipulación de pH, temperatura y tiempo de contacto con o sin presencia de productos químicos adicionales como tensioactivos, detergentes, enzimas o materiales similares que pueden ayudar a eliminar impurezas de la biomasa. El método también incluye poner en contacto la biomasa purificada con un sistema disolvente para proporcionar una biomasa residual y una solución que incluye el polímero y el disolvente para el polímero.

50 [0010] También divulgamos un método de separar un polímero de una biomasa que contiene el polímero. El método incluye poner en contacto la biomasa con un sistema disolvente en condiciones de flujo a contracorriente.

[0011] También divulgamos un método de separar un polímero de una biomasa que contiene el polímero. El método incluye poner en contacto la biomasa con un sistema disolvente utilizando un procedimiento de una etapa que forma una fase PHA y una fase de biomasa residual. La proporción de volumen del sistema disolvente presente en la fase PHA al volumen del sistema disolvente en contacto con la biomasa es al menos aproximadamente 0.8.

5 [0012] También divulgamos un método de separar un polímero de una biomasa que contiene el polímero. El método incluye poner en contacto la biomasa con un sistema disolvente utilizando un procedimiento de una etapa que forma una fase PHA y una fase de biomasa residual. La proporción de volumen del sistema disolvente presente en la fase de biomasa residual al volumen del sistema disolvente en contacto con la biomasa es como máximo aproximadamente 0.2.

10 [0013] En ciertas realizaciones, los métodos pueden extraer polímero de la biomasa con un rendimiento relativamente alto. En algunas realizaciones, un rendimiento relativamente alto de polímero puede ser extraído de la biomasa sin utilizar múltiples etapas (por ejemplo, con un proceso de una sola etapa).

[0014] En algunas realizaciones, los métodos pueden extraer polímero relativamente puro.

15 [0015] En ciertas realizaciones, los métodos pueden utilizar disolvente (s) y/o precipitante (s) de una manera relativamente eficiente. Por ejemplo, se pueden recuperar un porcentaje relativamente alto del disolvente (s) y/o precipitante (s) utilizados en los métodos (por ejemplo, para su reutilización).

[0016] En algunas realizaciones, los métodos pueden tener un impacto ambiental reducido.

[0017] En ciertas realizaciones, los métodos pueden extraer el polímero a una velocidad espacial relativamente alta (por ejemplo, con alto caudal con un tiempo total de residencia bajo en equipos de proceso).

20 [0018] En ciertas realizaciones, los métodos pueden dar lugar a una cantidad relativamente pequeña de productos de reacción secundarios no deseables (por ejemplo, ácidos orgánicos). Esto puede, por ejemplo, disminuir la probabilidad de corrosión u otro daño no deseado a los sistemas utilizados en los métodos y/o extender la vida útil de tales sistemas.

25 [0019] En algunas realizaciones, los métodos pueden proporcionar un caudal volumétrico relativamente alto (por ejemplo, mediante el uso de un proceso de una etapa).

[0020] En ciertas realizaciones, los métodos pueden proporcionar una recuperación del disolvente relativamente alta.

[0021] En ciertas realizaciones, el proceso se puede realizar con un dispositivo de una etapa (por ejemplo, un contactor centrífugo de contracorriente).

30 [0022] En algunas realizaciones, se forma una biomasa residual de viscosidad relativamente baja (por ejemplo, usando condiciones de contracorriente), que puede mejorar el procesamiento subsiguiente tal como eliminar el disolvente residual y concentración del contenido de sólidos (por ejemplo, por evaporación, filtración o secado).

[0023] Las características, objetos y ventajas de la invención están en la descripción, dibujos y reivindicaciones.

#### Breve descripción de los dibujos

[0024]

35 La figura 1 es un diagrama de flujo de una realización de un método de extracción de PHA de una biomasa con células que contienen PHA;

La figura 2 es un diagrama de flujo de una porción de una realización de un método de extracción de PHA de una biomasa con células que contienen PHA; y

La figura 3 es un gráfico que muestra la viscosidad y contenido de polímero del Ejemplo III.

#### 40 Descripción detallada

[0025] La figura. 1 es un diagrama de flujo de una realización de un proceso para extraer PHA de biomasa con células que contienen el PHA. Se proporciona una suspensión que contiene la biomasa y agua. Se añade un sistema disolvente a la suspensión para formar una mezcla que contiene la suspensión y el sistema disolvente. Se agita la mezcla (por ejemplo, removiendo) para proporcionar una combinación que comprende dos fases. Una fase está formada por una solución que contiene el PHA y el sistema disolvente con cantidades traza de biomasa ("la fase de PHA"). La segunda fase se forma de la biomasa residual que tiene células con reducido contenido de polímero, agua y una porción residual del sistema disolvente ("la fase de biomasa residual"). Las dos fases incluidas en la combinación se separan mediante un dispositivo apropiado que utiliza la fuerza centrífuga para facilitar la separación (por ejemplo, centrífuga de discos, centrífuga de cilindro, centrífuga de decantación, hidrociclón, contactor centrífugo a contracorriente). Opcionalmente, uno o más disolventes se pueden añadir al dispositivo que utiliza la fuerza centrífuga para facilitar la separación. Se añade un precipitante para el PHA a la fase de PHA para formar una mezcla que contiene la fase de PHA y el precipitante. Se agita la mezcla (por ejemplo, removiendo) para formar una combinación que contiene PHA precipitado, el sistema disolvente y el precipitante. En ciertas realizaciones, el sistema disolvente y el precipitante son miscibles lo que se traduce en la combinación (PHA

precipitado, sistema disolvente y precipitante) con dos fases (por ejemplo, una fase que contiene el PHA precipitado , y una fase que contiene el sistema disolvente y precipitante). La combinación (PHA precipitado, sistema disolvente y precipitante) se separa (por ejemplo, por filtración o utilizando fuerza centrífuga) para proporcionar el PHA extraído aislado.

5 [0026] El proceso en la Figura. 1 puede denominarse como un proceso de una sola etapa. En general, un proceso de una sola etapa es un proceso en el que se utiliza una sola etapa de centrifugación durante la separación del polímero de la biomasa. En general, un proceso de múltiples etapas se refiere a un proceso en el que se utiliza más de una etapa de centrifugación durante la separación del polímero de la biomasa (ver discusión adicional a continuación).. Por ejemplo, la biomasa residual formada en el proceso en la Figura 1 se puede tratar y en última instancia, centrifugarse, creando de ese modo un proceso de dos etapas (ver, por ejemplo, la Fig. 2 y la discusión más adelante).

15 [0027] En algunas realizaciones, el proceso da como resultado una producción relativamente alta de PHA. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la relación del peso seco del PHA extraído al peso seco de PHA inicialmente contenido en la biomasa es al menos unos 0.9 (por ejemplo, al menos unos 0.95, al menos unos 0.97, al menos unos 0.98). En ciertas realizaciones, una producción relativamente alta de PHA puede lograrse sin utilizar un proceso de múltiples etapas (por ejemplo, con un proceso de una sola etapa).

20 [0028] En ciertas realizaciones, el proceso puede ser realizado con una cantidad relativamente grande del disolvente que se transfiere a la fase de PHA. Por ejemplo, en algunas realizaciones, una relación del volumen de disolvente recuperado en la fase de PHA al volumen de disolvente en contacto con la biomasa es al menos aproximadamente 0.8 (por ejemplo, 0.85, al menos aproximadamente 0.9, al menos aproximadamente 0.95, al menos aproximadamente 0.98, al menos aproximadamente 0.99). En algunas realizaciones, una cantidad relativamente grande de disolvente puede ser transferida a la fase de PHA usando, por ejemplo, condiciones de contracorriente durante la separación del polímero de la biomasa.

25 [0029] En ciertas realizaciones, el proceso puede ser realizado con una cantidad relativamente pequeña del disolvente que se transfiere a la fase de biomasa residual. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la relación del volumen de disolvente recuperado en la fase de biomasa residual al volumen de disolvente en contacto con la biomasa es como máximo aproximadamente 0.2 (por ejemplo, como máximo un 0.15, como máximo un 0.1, como máximo un 0.05, como máximo un 0.02, como máximo un 0.01). En algunas realizaciones, una cantidad relativamente pequeña del disolvente es transferida a la fase de biomasa residual usando, por ejemplo, condiciones de contracorriente durante la separación del polímero de la biomasa.

30 [0030] La suspensión puede proporcionarse en cualquier forma deseada. Normalmente, la suspensión se proporciona formando un caldo de fermentación que contiene agua y la biomasa, y eliminando una parte del agua del caldo de fermentación. El agua se puede eliminar, por ejemplo, por filtración (por ejemplo, microfiltración, filtración por membrana) y/o por decantación y/o mediante el uso de la fuerza centrífuga. En ciertas realizaciones, las impurezas de la biomasa, tales como impurezas de la pared celular y de la membrana celular, se pueden eliminar durante el proceso de producción de la suspensión. Tales impurezas pueden incluir proteínas, lípidos (por ejemplo, triglicéridos, fosfolípidos y lipoproteínas) y lipopolisacáridos.

35 [0031] El contenido en PHA de la biomasa (por ejemplo, contenido en PHA de la biomasa seca, incluido su contenido de polímero, en base de porcentaje en peso) puede variar como se desee. Como ejemplo, en realizaciones en las que la biomasa es de origen microbiano, la biomasa puede tener un contenido en PHA de por lo menos cerca de un 50 por ciento en peso (por ejemplo, al menos un 60 por ciento en peso, al menos un 70 por ciento en peso, al menos un 80 por ciento en peso). Como otro ejemplo, en realizaciones en las que la biomasa es de origen vegetal, la biomasa puede tener un contenido de PHA de menos de un 50 por ciento en peso (por ejemplo, menos de un 40 por ciento en peso, menos de un 30 por ciento en peso, menos de un 20 por ciento en peso).

45 [0032] En algunas realizaciones, la suspensión tiene un contenido en sólidos (por ejemplo, peso de biomasa seca, incluso su contenido en PHA, respecto al peso húmedo total de la suspensión) de desde un 25 por ciento en peso a un de 40 ciento en peso (por ejemplo, de un 25 por ciento en peso a un 35 por ciento en peso).

50 [0033] La biomasa puede estar formada de una o más de una variedad de entidades. Estas entidades incluyen, por ejemplo, cepas microbianas para producir PHAs (por ejemplo, *Alcaligenes eutrophus* (renombrado como *Ralstonia eutropha*), *Alcaligenes latus*, *Azotobacter*, *Aeromonas*, *Comamonas*, *Pseudomonas*), organismos genéticamente modificados para la producción de PHAs (por ejemplo, *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Escherichia coli*, *Klebsiella*), levaduras para producir PHAs, y sistemas de plantas para producir PHAs. Estas entidades se divulgan, por ejemplo, en Lee, *Biotechnology & Bioengineering* 49:1-14 (1996); Braunegg et al., (1998), *J. Biotechnology* 65: 127-161; Madison and Huisman, 1999; y Snell and Peoples 2002, *Metabolic Engineering* 4: 29-40.

55 [0034] En realizaciones en las que la biomasa contiene células microbianas, el tamaño de las células microbianas contenidas en la biomasa también se puede variar como se desee. En general, las células microbianas (por ejemplo, células bacterianas) tienen al menos una dimensión con un tamaño de al menos unas 0.2 micras (por ejemplo, al menos unas 0.5 micras, al menos una micra, al menos unas dos micras, al menos unas tres micras, al menos unas cuatro micras, al menos unas cinco micras). En ciertas realizaciones, el uso de células microbianas relativamente grandes (por ejemplo, células bacterianas relativamente grandes) en la biomasa puede ser ventajoso ya que puede facilitar la separación de la biomasa para formar la suspensión de biomasa.



cetona), 2-pentanona (metil n-propil cetona), diisobutil cetona, 2-hexanona (metil n-butyl cetona), 3-pentanona (dietil cetona), 2-metil-3-heptanona (butil isopropil cetona), 3-heptanona (etil n-butyl cetona), 2-octanona (metil n-hexil cetona), 5-metil-3-heptanona (etil amil cetona), 5-metil-2-hexanona (metil iso-amil cetona), heptanona (pentil metil cetona), ciclopentanona, ciclo-hexanona.

5 [0047] En general, los ésteres pueden ser cíclicos o acíclicos, de cadena lineal o ramificada, y/o sustituidos o no sustituidos. Ejemplos de ésteres acíclicos y ésteres cíclicos incluyen acetato de etilo, acetato de propilo, acetato de butilo, acetato de amilo, iso-butilato de butilo, n-butilato de metilo, propionato de butilo, butirato de butilo, valerato de metilo, valerato de etilo, caproato de metilo, butirato de etilo, acetato de etilo, gammabutirolactona, gamma-valerolactona.

10 [0048] En general, los alcoholes que tienen al menos cuatro átomos de carbono pueden ser cíclicos o acíclicos, de cadena lineal o ramificada, y/o sustituidos o no sustituidos. Ejemplos de tales alcoholes cíclicos y alcoholes acíclicos incluyen metil-1-butanol, etil-1-butanol, 3-metil-1-butanol (alcohol amílico), 2-metil-1-pentanol, 2-metil-2 butanol (alcohol amílico), 3-metil-2-pentanol (metil-iso-butyl carbinol), metil-2-pentanol, 4-metil-2-pentanol, alcohol butílico, alcohol pentílico, alcohol hexílico, alcohol heptílico, ciclo-hexanol, metil-ciclo-hexanol y aceite de fusel (una mezcla de alcoholes superiores, que a menudo es un subproducto de destilación de alcohol, y por lo general es predominantemente alcohol amílico (metil butanol)).

15 [0049] En general, los alcanos pueden ser cíclicos o acíclicos, de cadena lineal o ramificada, y/o sustituidos o no sustituidos. En algunas realizaciones, los alcanos incluyen alcanos de cadena lineal con cinco o más átomos de carbono (por ejemplo, heptano, hexano, octano, nonano, dodecano). En ciertas formas de realización los alcanos incluyen isoalcanos (por ejemplo metil heptano, metil octano, dimetil heptano). En ciertas realizaciones, se puede utilizar Soltrol® 100 (una mezcla de isoalcanos C9-C11, comercialmente disponible de Chevron Chemical Phillips ubicada en Houston, TX).

20 [0050] - Generalmente, la cantidad de disolvente presente en el sistema disolvente puede variar como se desee. En ciertas realizaciones, el sistema disolvente tiene por lo menos aproximadamente cinco partes (por ejemplo, al menos unas 10 partes, por lo menos unas 15 partes) de disolvente por parte de PHA y/o menos de unas 50 partes (por ejemplo, menos de unas 30 partes, menos de unas 25 partes) de disolvente por parte de PHA.

25 [0051] En algunas realizaciones, un disolvente para el PHA es no halogenado. El uso de un disolvente no halogenado puede ser ventajoso ya que esto puede reducir el efecto ambiental negativo del disolvente, reducir los riesgos para la salud asociados con el uso del disolvente, y/o reducir los costos asociados con almacenar, manipular y/o eliminar el disolvente.

30 [0052] En ciertas realizaciones, un disolvente para el PHA puede tener una densidad relativamente baja. Por ejemplo, un disolvente para el PHA puede tener una densidad de menos de aproximadamente 0.95 kilogramos por litro (por ejemplo, menos de unos 0.9 kilogramos por litro, menos de unos 0.8 kilogramos por litro, menos de unos 0.7 kilogramos por litro) a 20 °C. Sin querer estar limitado por la teoría, se cree que el uso de un disolvente de densidad relativamente baja puede mejorar la calidad de la separación de la fase de PHA de la fase de biomasa residual.

35 [0053] En algunas realizaciones, un disolvente para el PHA tiene una solubilidad relativamente baja en agua. Por ejemplo, un disolvente para el PHA puede tener una solubilidad en agua de menos de cerca de un uno por ciento (por ejemplo, menos de aproximadamente 0.5 por ciento, menos de un 0.2 por ciento) a 20 °C. Un disolvente con una solubilidad relativamente baja en agua puede ser deseable porque tal disolvente tiene menos probabilidades de mezclarse con el agua. Esto puede mejorar la facilidad de proporcionar dos fases separadas durante el proceso, reduciendo así el coste y/o complejidad del proceso.

40 [0054] En ciertas realizaciones, un disolvente para el PHA es sustancialmente no hidrolizable. Por ejemplo, el disolvente puede ser a lo sumo tan hidrolizable como acetato de etilo. El uso de un disolvente sustancialmente no hidrolizable puede reducir la probabilidad de formación de productos secundarios no deseables (por ejemplo, especies químicamente reactivas, tales como ácidos orgánicos). Esto puede reducir la cantidad y/o velocidad de, por ejemplo, corrosión de partes (por ejemplo, plomería) del sistema en el cual se realiza la extracción de PHA.

45 [0055] En algunas realizaciones, un disolvente para el PHA se separa relativamente fácil del agua. Por ejemplo, el disolvente puede tener un valor de logK relativo al agua a 100 °C de al menos un 1.5 (por ejemplo, al menos un 1.8, al menos unos dos, al menos unos 2.2) como se determina de acuerdo con Hwang et al., Ind. Eng., Chem. Res., Vol. 31, N° 7, pp 1753-1767 (1992). El uso de un disolvente que es relativamente fácil de separar del agua puede ser deseable porque tal disolvente puede ser recuperado y reciclado más fácilmente en relación con otros disolventes que no son tan fácilmente separables del agua.

50 [0056] En ciertas realizaciones, un disolvente para el PHA tiene un punto de ebullición superior a 100 °C.

55 [0057] En ciertas realizaciones, un disolvente apropiado es no halogenado, tiene una solubilidad en agua relativamente baja (por ejemplo, menor que la del acetato de etilo), y una reactividad relativamente baja desde la perspectiva de hidrólisis y/o desde la perspectiva de reactividad hacia el polímero.

[0058] En algunas realizaciones, la solubilidad del PHA en el precipitante es inferior a un 0.2 por ciento (por ejemplo, menos de un 0.1 por ciento) del PHA a 20 °C.

- [0059] En ciertas realizaciones, se añade un volumen relativamente pequeño de precipitante a la fase de PHA en relación al volumen de sistema disolvente que se añade a la suspensión. Por ejemplo, la relación entre el volumen de precipitante añadido a la fase PHA respecto al volumen de sistema disolvente añadido a la suspensión es menor que un 0.2 (por ejemplo, menos de un 0.1, menos de un 0.07, menos de un 0.05).
- 5 [0060] En realizaciones en las que el sistema disolvente que contiene uno o más disolventes para el PHA y uno o más precipitantes para el PHA, el disolvente (s) y el precipitante (s) pueden tener una volatilidad relativa de al menos aproximadamente dos (por ejemplo, al menos unos tres, al menos unos cuatro) en el punto de burbuja equimolar del disolvente (s) y el precipitante (s) a presión atmosférica.
- 10 [0061] En algunas realizaciones en las que el sistema disolvente que contiene uno o más disolventes para el PHA y uno o más precipitantes para el PHA, el disolvente (s) y el precipitante (s) no forman un azeótropo. Usar disolvente (s) y precipitante (s) que no forman un azeótropo puede ser deseable, porque puede ser más fácil separar y recuperar el disolvente y el precipitante para su reutilización en relación con un disolvente y un precipitante que forman un azeótropo.
- 15 [0062] En ciertas realizaciones en las que el sistema disolvente contiene un disolvente para el PHA y un precipitante para el PHA, la solución formada por el PHA y el sistema disolvente contiene menos de aproximadamente 25 por ciento en volumen (por ejemplo, menos de un 20 por ciento en volumen, menos de un 15 por ciento en volumen, menos de un 10 por ciento en volumen) de precipitante.
- [0063] En general, la mezcla que contiene el sistema disolvente y la suspensión se calienta para mejorar la interacción del sistema disolvente con el PHA, permitiendo de esta forma que el PHA se elimine de la biomasa.
- 20 [0064] En general, se puede variar la temperatura de la mezcla sistema disolvente/suspensión durante la agitación según se desee. En algunas realizaciones, la temperatura es inferior a unos 160 °C (por ejemplo, menos de unos 125 °C, menos de unos 95 °C, menos de unos 65 °C) y/o al menos unos 20 °C. En ciertas realizaciones, la temperatura es desde la temperatura ambiente hasta unos 95 °C (por ejemplo, desde unos 40 °C a unos 80 °C, de unos 60 °C a unos 70 °C). En ciertas realizaciones, la presión puede regularse a una presión mayor que la presión atmosférica para facilitar la extracción a temperatura elevada (por ejemplo, mayor que 1 atmósfera, hasta 20 atmósferas).
- 25 [0065] En general, la fuerza de cizallamiento utilizada cuando se agita la mezcla sistema disolvente/suspensión se puede variar como se desee. En ciertas realizaciones, la mezcla sistema disolvente/suspensión se agita por agitación para que se reduzca el tiempo de disolución. En algunas realizaciones, para ayudar a la disolución, se puede utilizar un impulsor de alto cizallamiento y agitador (por ejemplo, un impulsor de álabe plano como la turbina de Rushton de 6 palas) a velocidades punta de, por ejemplo, unos cinco metros por segundo o más (por ejemplo, a unos 10 metros por segundo). En ciertas realizaciones un dispersor de alta velocidad con un álabe de bajo perfil puede utilizarse a velocidades punta de, por ejemplo, unos 10 metros por segundo o más (por ejemplo, unos 15 metros por segundo o más, unos 20 metros por segundo a unos 25 metros por segundo). Normalmente, los dispersores de alta velocidad tienen un álabe con perfil bajo de pala o con forma de diente de sierra para generar alto cizallamiento a velocidades punta mejoradas. En ciertas realizaciones, se utiliza un sistema de rotor/estator que genera un cizallamiento relativamente alto (por ejemplo, a velocidad punta de hasta unos 50 metros por segundo) en el espacio entre un rotor de alta velocidad que gira dentro de un estator ranurado. En general, la geometría del rotor y del estator se puede variar para adaptarse a aplicaciones particulares, y muchos diseños están comercialmente disponibles.
- 30 [0066] En general, la mezcla de sistema disolvente y suspensión se agita hasta que una muestra centrifugada de la mezcla tiene una fase PHA con el contenido deseado de sólidos de PHA. En algunas realizaciones, la mezcla de sistema disolvente y suspensión se agita durante menos de unas tres horas (por ejemplo, menos de unas dos horas) y/o al menos un minuto (por ejemplo, al menos unos 10 minutos, al menos unos 30 minutos).
- 35 [0067] En ciertas realizaciones, la fase PHA contiene menos de un 0.5 por ciento en peso (por ejemplo, menos de un 0.25 por ciento en peso, menos de un 0.1 por ciento en peso) de biomasa respecto a la cantidad de PHA disuelto en la fase PHA.
- 40 [0068] En algunas realizaciones, la fase de biomasa contiene menos de un 25 por ciento en peso (por ejemplo, menos de un 20 por ciento en peso, menos de un 15 por ciento en peso) del disolvente que estaba presente inicialmente en el sistema disolvente y o al menos un porcentaje en peso (por ejemplo, al menos un cinco por ciento en peso, al menos un 10 por ciento en peso) del disolvente que estaba presente inicialmente en el sistema disolvente.
- 45 [0069] En algunas realizaciones, la fase de de PHA tiene una viscosidad relativamente baja. Por ejemplo, esta fase puede tener una viscosidad de menos de aproximadamente 100 centipoise (por ejemplo, menos de unos 75 centipoise, menos de unos 50 centipoise, menos de unos 40 centipoise, menos de unos 30 centipoise). Sin querer estar limitado por la teoría, se cree que la preparación de tal fase PHA que tiene una viscosidad relativamente baja puede dar como resultado una separación relativamente buena de la fase PHA de la fase de biomasa residual. En particular, se cree que la velocidad de separación de las fases durante la centrifugación es inversamente proporcional a la viscosidad de la fase PHA para que, para un tiempo de centrifugación dado, disminuir la viscosidad de la fase PHA de lugar a una mejor separación de las fases en relación con determinados sistemas en los que la fase PHA tiene una mayor viscosidad.
- 50  
55  
60

[0070] En ciertas realizaciones, la fase PHA tiene una concentración de polímero relativamente alta. Por ejemplo, la fase PHA puede tener una concentración de polímero de al menos un dos por ciento (por ejemplo, al menos un 2.5 por ciento, al menos un tres por ciento, al menos un 3.5 por ciento, al menos un cuatro por ciento, al menos un 4.5 por ciento, al menos un cinco por ciento).

5 [0071] Se pueden utilizar varios tipos de dispositivos que aprovechan la fuerza centrífuga. Como ejemplo, en algunas realizaciones la centrifugación se lleva a cabo mediante una pila de discos (por ejemplo, un modelo SC-6, disponible de Westfalia Separator US, Inc., ubicado en Northvale, NJ). En ciertas realizaciones la centrifugación se lleva a cabo utilizando un decantador (p. ej., un modelo CA-220, disponible de Westfalia Separator US, Inc., ubicado en Northvale, NJ). En algunas realizaciones, se puede utilizar un hidrociclón.

10 [0072] En ciertas realizaciones se puede utilizar un contactor centrífugo a contracorriente (por ejemplo, un contactor centrífugo Podbielniak, un contactor centrífugo Luwesta, un contactor centrífugo Taylor-Couette). En general, se utiliza un contactor centrífugo a contracorriente que tiene dos (o posiblemente más) corrientes de fluido en contacto entre sí. Una corriente (la corriente de disolvente) comienza como una corriente de fluido que es relativamente rica en disolvente. Otra corriente (la corriente de biomasa) comienza como una corriente de fluido que es relativamente rica en PHA. Las dos corrientes contactan entre sí en condiciones de contracorriente de forma que una parte de la corriente de disolvente que es más rica en disolvente entra en contacto con una parte de la corriente de biomasa que es la más pobre en PHA (para mejorar, por ejemplo, optimizar, la recuperación de PHA de la corriente de biomasa), y/o de forma que una parte de la corriente de biomasa que es la más rica en PHA entra en contacto con una parte de la corriente de disolvente que es la más cargada de PHA (para mejorar, por ejemplo, optimizar la concentración de PHA en la corriente de disolvente). En ciertas realizaciones, esto se logra haciendo fluir la corriente de disolvente de forma inversa a la corriente de biomasa (condiciones de flujo inverso). Los contactores centrífugos a contracorriente están disponibles de, por ejemplo, B & P Process Equipment (Saginaw, MI) y Quadronics. Ejemplos de contactores centrífugos a contracorriente disponibles en el mercado incluyen el contactor centrífugo a contracorriente Podbielniak A-1 (B & P Process Equipment) y el contactor centrífugo a contracorriente Podbielniak B-10 (B & P Process Equipment).

[0073] En general, las condiciones (por ejemplo, fuerza, tiempo) que se utilizan para la centrifugación se pueden variar como se desee.

30 [0074] En algunas realizaciones en las que se utiliza una pila de discos, la centrifugación se puede realizar utilizando por lo menos unos 5.000 RCF (fuerza centrífuga relativa) (por ejemplo, al menos unos 6.000 RCF, al menos unos 7.000 RCF, al menos unos 8.000 RCF) y/o menos de unos 15.000 RCF (por ejemplo, menos de unos 12.000 RCF, menos de unos 10.000 RCF). En ciertas realizaciones en las que se utiliza un decantador, la centrifugación se puede realizar utilizando al menos unos 1.000 RCF (por ejemplo, al menos unos 1.500 RCF, al menos unos 2.000 RCF, al menos unos 2.500 RCF) y/o menos de unos 5.000 RCF (por ejemplo, menos de unos 4.000 RCF, menos de unos 3.500 RCF). En ciertas realizaciones en las que se utiliza un contactor centrífugo a contracorriente, la centrifugación puede realizarse utilizando al menos unos 1.000 RCF (por ejemplo, al menos unos 1.500 RCF, al menos unos 2.000 RCF, al menos unos 2.500 RCF) y/o menos de unos 5.000 RCF (por ejemplo, menos de unos 4.000 RCF, menos de unos 3.500 RCF).

40 [0075] En algunas realizaciones en las que se usa una pila de discos, la centrifugación se puede realizar durante menos de una hora (por ejemplo, menos de unos 30 minutos, menos de unos 10 minutos, menos de unos cinco minutos, menos de un minuto) y/o al menos unos 10 segundos (por ejemplo, al menos unos 20 segundos, al menos unos 30 segundos). En ciertas realizaciones en las que se utiliza un decantador, la centrifugación se puede realizar durante menos de una hora (por ejemplo, menos de unos 30 minutos, menos de unos 10 minutos, menos de unos cinco minutos, menos de un minuto) y/o al menos unos 10 segundos (por ejemplo, al menos unos 20 segundos, al menos unos 30 segundos). En ciertas realizaciones en las que se usa un contactor centrífugo a contracorriente, la centrifugación puede realizarse durante menos de una hora (por ejemplo, menos de unos 30 minutos, menos de unos 10 minutos, menos de unos cinco minutos, menos de un minuto) y/o al menos unos 10 segundos (por ejemplo, al menos unos 20 segundos, al menos unos 30 segundos).

50 [0076] Después de la centrifugación, se añade un precipitante para el PHA a la fase separada de PHA para formar una mezcla. En realizaciones en las que el sistema disolvente contiene uno o más precipitantes para el PHA, el precipitante añadido a la fase separada de PHA puede ser el mismo que o diferente del precipitante (s) contenido en el sistema disolvente.

55 [0077] En general, la cantidad del precipitante añadido a la fase separada de PHA puede variarse según se desee. En algunas realizaciones, la cantidad de precipitante añadido a la fase separada de PHA es al menos aproximadamente 0.1 parte (por ejemplo, al menos una 0.25 parte, al menos una 0.5 parte) de precipitante en volumen relevante para el volumen de disolvente en la fase PHA y/o menos de unas dos partes (por ejemplo, menos de unas 1.5 partes, menos de una parte, menos de una 0.75 parte) de precipitante en volumen relevante para el volumen de disolvente en la fase de PHA.

60 [0078] La mezcla fase PHA/precipitante se agita para mejorar la interacción del PHA con el precipitante para el PHA. Esto permite precipitar el PHA de la mezcla, resultando una combinación formada de PHA precipitado y una mezcla que contiene el sistema disolvente y el precipitante añadido para el PHA. En general, la agitación de la mezcla fase PHA/precipitante se lleva a cabo a temperatura ambiente, pero pueden usarse otras temperaturas si se desea.

En algunas realizaciones, la mezcla fase PHA/precipitante se mezcla con ayuda de dispositivos de alta cizalladura tales como impulsores de alto cizallamiento (por ejemplo, una turbina de seis palas Rushton), dispersores de alta

velocidad y mezcladores rotor/estator de alto cizalladura en línea o en tanque. Las tasas de cizallamiento están determinadas por las velocidades periféricas de los diversos dispositivos y pueden variar entre, por ejemplo, de unos cinco metros por segundo a unos 50 metros por segundo (por ejemplo, desde unos 10 metros por segundo a unos 25 metros por segundo). Sin querer estar limitado por la teoría, se cree que el mezclado de alta cizalladura puede, bajo ciertas condiciones, mejorar la calidad del polímero precipitado

[0079] El PHA precipitado se separa entonces del líquido restante (por ejemplo, sistema disolvente y precipitante). Esta separación puede realizarse mediante, por ejemplo, filtración o centrifugación (por ejemplo, utilizando una centrífuga de cesta, usando un filtro de banda de vacío).

[0080] Normalmente, el PHA precipitado se lava luego para ayudar a eliminar impurezas no deseadas, tales como el disolvente restante y/o precipitante. En algunas realizaciones, el polímero puede lavarse con disolvente (por ejemplo, un disolvente relativamente recién preparado), como, por ejemplo, una mezcla del disolvente de PHA y el precipitante de PHA (por ejemplo, con cualquier relación entre 0-100%). Usualmente, la composición para el lavado se selecciona para reducir (por ejemplo, minimizar) la redisolución del polímero y/o mejorar (por ejemplo, maximizar) la eliminación de impurezas. En ciertas realizaciones, la proporción adecuada puede depender de la particular composición de polímero y/o se puede determinar mediante experimentación estándar (eficiencia de lavado). En algunas realizaciones, esta etapa de lavado puede llevarse a cabo a temperatura elevada y tiempo de residencia apropiado para facilitar más el lavado y la eliminación de impurezas.

[0081] Normalmente, el PHA precipitado lavado se seca (por ejemplo, a una temperatura de desde unos 40 ° C a unos 100 °C). El secado se puede realizar bajo vacío (por ejemplo, para ayudar a facilitar la recuperación del disolvente residual). En ciertas realizaciones, puede ser deseable para extruir directamente el polímero precipitado que contiene todavía disolvente en, por ejemplo, un extrusor desvolatilizante. Tal extrusión puede realizarse, por ejemplo, a una temperatura cercana al punto de fusión del polímero, y el disolvente puede recuperarse directamente del extrusor. Opcionalmente se puede inyectar agua a presión en el extrusor desvolatilizante (por ejemplo, para generar vapor in situ para facilitar la extracción y eliminación eficiente de trazas de disolvente residual). Una corriente de gas (por ejemplo aire, CO<sub>2</sub> o vapor) se puede inyectar opcionalmente en la extrusora (por ejemplo, para facilitar la eliminación del disolvente). La extrusión puede consolidar las operaciones de secado y formación de producto (por ejemplo, peletización) en una sola unidad con, por ejemplo, ahorros de costes de capital y de operación del proceso.

[0082] El líquido restante (sistema disolvente y precipitante) se pueden seguir procesando de manera que los componentes del líquido (disolvente (s) y/o precipitante (s)) pueden ser reutilizados. Por ejemplo, el líquido puede destilarse para separar el disolvente del precipitante. En algunas realizaciones, el disolvente separado y/o precipitante puede reutilizarse en el proceso descrito antes (por ejemplo, como disolvente en el sistema disolvente, como precipitante en el sistema disolvente, como precipitante añadido a la fase PHA). En ciertas realizaciones, el disolvente y/o precipitante separado puede reutilizarse en el proceso descrito en la figura. 2 (véase discusión más adelante) (por ejemplo, como disolvente en el sistema disolvente, como precipitante en el sistema disolvente, como precipitante añadido a la fase PHA).

[0083] En ciertas realizaciones, el proceso (o partes del proceso) pueden llevarse a cabo en forma continua y/o en línea. Por ejemplo, el proceso puede implicar un proceso rotor/estator en línea para la disolución, y/o un proceso rotor/estator en línea para la precipitación de PHA y/o una extrusora desvolatilizante en línea (por ejemplo, una extrusora Werner y Pfleiderer ZSK suministrado por Coperion Corporación de Ramsey, NJ) para retirar el disolvente y formar sólidos de PHA (por ejemplo, gránulos).

[0084] En algunas realizaciones, el proceso utiliza el disolvente de una manera relativamente eficiente. Por ejemplo, al menos un 90 por ciento en volumen (por ejemplo, al menos un 95 por ciento en volumen, al menos un 97 por ciento en volumen, al menos un 98 por ciento en volumen) del disolvente utilizado inicialmente en el disolvente se recupera para su reutilización.

[0085] En ciertas realizaciones, el proceso usa el precipitante de una manera relativamente eficiente. Por ejemplo, al menos un 90 por ciento en volumen (por ejemplo, al menos un 95 por ciento en volumen, al menos un 97 por ciento en volumen, al menos un 98 por ciento en volumen) de la cantidad combinada de precipitante inicialmente utilizado en el disolvente y añadido a la fase PHA se recupera para su reutilización.

[0086] La figura. 2 es un diagrama de flujo que muestra una forma de realización de una segunda etapa de un proceso de dos etapas que puede ser utilizado para mejorar la eficiencia de la extracción de PHA mediante extracción de al menos una parte del PHA presente en la fase de biomasa residual (Fig. 1). Como se muestra en la Figura. 2, un sistema disolvente se añade a la fase de biomasa para proporcionar una mezcla que contiene la fase de biomasa y el sistema disolvente. La mezcla se agita (por ejemplo, usando las condiciones descritas anteriormente respecto a la agitación de la mezcla de la suspensión y el sistema disolvente) para proporcionar una combinación que incluye una fase de PHA (que contiene predominantemente sistema disolvente y PHA) y una fase de biomasa (que contiene principalmente biomasa, agua y sistema disolvente residual). La fase de PHA y la fase de biomasa son separadas mediante centrifugación (por ejemplo, usando las condiciones descritas antes respecto a la centrifugación de la fase PHA y la fase de biomasa). La fase de PHA puede ser tratada como se ha descrito anteriormente (por ejemplo, añadiendo un precipitante para el PHA, agitando, separando, lavando, secando), o la fase de PHA se puede añadir a la mezcla suspensión/disolvente antes descrita. Los componentes del sistema disolvente (por ejemplo, disolvente (s) y/o precipitante (s)) pueden ser obtenidos de la fase de biomasa restante usando técnicas estándar. El disolvente residual contenido en la biomasa se puede recuperar a través de una

variedad de medios tales como la extracción con vapor en una columna adecuada, un secador de desolventización (por ejemplo tostadora desolventizadora utilizada comúnmente en la recuperación de disolvente residual de la harina de soja después de extracción de aceite) o secado directo con recuperación de disolvente por ejemplo, secador de vacío, secador de lecho fluido con circulación de gas inerte y condensación de disolvente). En algunas realizaciones, la biomasa que contiene el disolvente puede ser co-secada con un material de alimentación animal compatible (por ejemplo, pienso de gluten, grano seco de destilería, harina de semillas oleaginosas) en un secador que está adecuadamente dimensionado para manejar y recuperar y/o eliminar de forma segura (por ejemplo, adsorción o incineración) el disolvente residual en el proceso global de la Figura. 2, la primera etapa se muestra en la Figura 1, y la segunda etapa se muestran en la Figura 2. En ciertas realizaciones, la biomasa residual puede ser utilizada como nutriente para fermentación (por ejemplo, fermentación de etanol usando *Saccharomyces*), opcionalmente después de eliminar el disolvente residual como se describió anteriormente. En algunas realizaciones, la biomasa puede ser hidrolizada (por ejemplo, por exposición a condiciones ácidas a alta temperatura, tratamiento con enzimas proteasas, enzimas líticas) para mejorar su perfil nutriente para fermentación.

[0087] Mientras que ciertos métodos para la extracción de un PHA de biomasa han sido descritas, otras realizaciones son también posibles.

[0088] En algunas realizaciones, se puede combinar biomasa seca con agua para proporcionar una suspensión.

[0089] Como otro ejemplo, se puede añadir un precipitante para el PHA a la suspensión antes de añadir el sistema disolvente. En algunas realizaciones, la cantidad de precipitante añadido es al menos unos 0.5 volúmenes (por ejemplo, desde unos 0.5 volúmenes hasta unos dos volúmenes) en relación a la suspensión.

[0090] Añadir precipitante antes de añadir el sistema disolvente puede dar lugar a la formación de un PHA extraído aislado relativamente puro (por ejemplo, con una pureza de al menos un 99%, una pureza de al menos un 99.5%, una pureza de al menos un 99.9%). La pureza del polímero se puede determinar por análisis mediante cromatografía de gases (GC) (por ejemplo, con un GC Hewlett Packard 5890 serie II equipado con una columna Supelco 24044 SBP™ -1 de 30 m x 0,32 mm ID con película 0,25 µm) después de butanolisis de la muestra de polímero bajo condiciones ácidas para formar ésteres butílicos de las unidades monómeras de PHA, así como los ésteres butílicos de los residuos de ácidos grasos de lípidos y fosfolípidos. Estándares adecuados de los ácidos grasos y los hidroxiácidos (por ejemplo ácido palmítico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido linoleico y ácido 3-hidroxi butírico) se utilizan para calibrar, estandarizar y cuantificar la respuesta cromatográfica. Esto puede usarse para cuantificar tanto el contenido de polímero como el contenido de impurezas. Las impurezas inorgánicas se pueden cuantificar mediante reducción a cenizas.

[0091] Sin querer estar limitado por la teoría, se cree que la adición de un precipitante para el PHA a la suspensión antes de añadir el sistema disolvente puede ayudar a eliminar impurezas de biomasa presentes en la biomasa (por ejemplo, fosfolípidos, lípidos neutros, lipoproteínas). Esto puede ser particularmente ventajoso si el contenido de sólidos de PHA de la biomasa es relativamente alto (por ejemplo, un contenido de sólidos de PHA de al menos un 65%, al menos un 75%).

[0092] Como ejemplo adicional, la suspensión puede ser pretratada químicamente, por ejemplo, con unas condiciones cáusticas relativamente suaves (por ejemplo, un pH de un 8.5 a 10, de un 8.5 a un 9, de un 9 a un 9.5, de un 9.5 a un 10), seguido de neutralización antes de añadir el sistema disolvente. Esto puede dar como resultado la formación de un PHA extraído, aislado relativamente puro (por ejemplo, de una pureza de al menos un 99%, al menos un 99.5%). Las condiciones cáusticas pueden ser preparadas utilizando uno o más materiales relativamente básicos, tales como, por ejemplo, hidróxido de potasio, hidróxido de sodio y/o hidróxido de amonio.

[0093] Como otro ejemplo, la temperatura puede ser elevada (por ejemplo, cualquier temperatura entre temperatura ambiente y unos 95 °C) y añadidos otros productos químicos tales como agentes tensioactivos, detergentes y/o enzimas durante el paso de pre-tratamiento químico para facilitar aún más la formación de un PHA extraído aislado relativamente puro (por ejemplo, de al menos un 99.5%).

[0094] Sin querer estar limitado por la teoría, se cree que un tratamiento químico (por ejemplo, un tratamiento cáustico relativamente suave) de la suspensión antes de añadir el sistema disolvente puede ayudar a eliminar impurezas de biomasa presentes en la biomasa (por ejemplo, lípidos, fosfolípidos, lipoproteínas). Esto puede ser particularmente ventajoso si el contenido de sólidos de PHA de la biomasa es relativamente alto (por ejemplo, un contenido de sólidos de PHA de al menos un 65%, al menos un 75%).

[0095] Como otro ejemplo, los métodos pueden incluir concentración (por ejemplo, evaporación) de la fase de PHA después de la separación de esta fase de la fase de biomasa residual pero antes de la adición de precipitante para el PHA para la fase de PHA. Esto puede reducir el volumen de la solución, reduciendo de ese modo el precipitante.

[0096] Como un ejemplo adicional, en algunas realizaciones, los procesos se pueden realizar sin la adición de un precipitante por el PHA para la fase de PHA.

[0097] Además, el sistema disolvente se puede formar y, a continuación poner en contacto con la biomasa, o la biomasa puede ser contactada con tan sólo una parte de los componentes del sistema disolvente, seguido por adición posterior de la parte restante del sistema disolvente (por ejemplo, en serie o todos a la vez). Por ejemplo, en realizaciones en las que el sistema disolvente incluye un disolvente para el PHA y un precipitante para la PHA, se puede poner en contacto la suspensión con el disolvente, seguido de la adición de precipitante, o viceversa.

Alternativamente, el disolvente y el precipitante y se pueden combinar para formar el sistema disolvente, seguido del contacto con la biomasa.

5 [0098] Además, si bien se ha descrito la extracción de un único PHA de una biomasa, los procesos podrían ser utilizados para extraer múltiples PHAs (por ejemplo, dos, tres, cuatro, cinco, seis) de una biomasa. Tales procesos pueden implicar el uso de múltiples disolventes, precipitantes y/o sistemas de disolventes.

[0099] Además, mientras que se han descrito sistemas disolventes que contienen un disolvente único para el PHA y, opcionalmente, un precipitante único para el PHA, pueden utilizarse múltiples disolventes para el PHA (por ejemplo, dos, tres, cuatro, cinco, seis) y/o o múltiples precipitantes para el PHA (por ejemplo, dos, tres, cuatro, cinco, seis).

10 [0100] Como otro ejemplo, en algunas realizaciones, la mezcla suspensión/sistema disolvente puede agitarse sin calentamiento. Alternativamente, la mezcla suspensión/sistema disolvente se puede agitar con calentamiento bajo presión.

[0101] Como ejemplo adicional, los métodos pueden incluir destilar la mezcla sistema disolvente/precipitante formada (por ejemplo, destilada) para separar los componentes (por ejemplo, disolvente para el PHA, precipitante para el PHA) a fin de que uno o más de los componentes puedan ser reutilizados.

15 [0102] Los siguientes ejemplos son ilustrativos y no pretenden ser limitantes. En los ejemplos, los productos químicos eran de Aldrich Chemical Co. Inc. (Milwaukee, WI), el agitador superior era un agitador superior IKA®-Werke EUROSTAR power control- vise (Ika Work Inc., Wilmington, NC), y la centrifuga fue una centrifuga Sorvall RC 5B plus.

#### Ejemplo I

20 [0103] Un lote de suspensión de biomasa de *Escherichia coli* (que contiene 70% de polímero en base seca con una composición de polihidroxibutirato co 4-hidroxibutirato con 25% de 4-hidroxibutirato fue dividido en tres formas y tratado como sigue:

a. atomizado y recogida de 30 g de biomasa seca.

b. atomizado, recogida de 30 g de biomasa y rehumidificada con agua desionizada (DI) a 100 g.

25 c. 100 g de suspensión original conteniendo 30 g de biomasa seca sin modificación.

[0104] Cada lote se extrajo con 400 ml de acetato de butilo a temperatura ambiente con un agitador superior a 500 rpm durante 2 horas. La suspensión resultante se centrifugó a 5000 g durante 20 minutos y se recuperó la fase de PHA. Se determinó el contenido de PHA por precipitación del PHA de la fase de PHA utilizando hexano como precipitante seguido de secado durante una noche bajo vacío de un milímetro Hg y 40 °C. El polímero recuperado representó 32% de disolución del polímero de partida (método 1), 43 % del polímero de partida (método 2), y superior al 97% del polímero de partida (método 3).

#### Ejemplo II

35 [0105] En un ensayo uno al lado del otro se comparó un caldo procedente de la fermentación de *Escherichia coli* que contiene células con una dimensión superior a 2 micras con uno de *Ralstonia eutropha* que contiene células con una dimensión máxima de 0.5 micras. El tiempo para obtener un sobrenadante claro se determinó a 12000 rpm en una micro-centrifuga Eppendorf 5415C, utilizando tubos de centrifuga de 1.5 ml llenos con 1 ml de caldo. Se obtuvo un sobrenadante claro en el caso del caldo de *E. Coli* en menos de 1 minuto de tiempo de centrifugación, mientras que el de *Ralstonia eutropha* requiere más de 5 minutos de centrifugación para una claridad similar.

#### Ejemplo III

40 [0106] Una solución de polímero que contiene 5% de polímero en peso (expresado respecto al peso total de la solución) se preparó por disolución de una suspensión de biomasa de *Escherichia coli* que contiene 70% de polímero en base seca con una composición de polihidroxibutirato co 4-hidroxibutirato con un 25% de 4-hidroxibutirato en acetato de butilo (Aldrich Chemical Co. Inc., Milwaukee, WI) usando el procedimiento del Ejemplo Ic. La viscosidad de la solución resultante se midió como 365 centiPoise (cP) se midió usando un viscosímetro Brookfield LVF (Brookfield Engineering Laboratories Inc., Stoughton, MA). Para soluciones con viscosidad inferior a 100 cP, fue utilizada una aguja N ° 1, y, para soluciones con viscosidad superior a 100 cP, fue utilizada una aguja No. 2. La solución se diluyó adicionalmente con acetato de butilo adicional hasta 4% y 3% en peso de polímero de la solución total. Las viscosidades resultantes fueron 150 cP y 40 cP, respectivamente.

50 [0107] Parte de la solución de polímero al 5% en acetato de butilo preparado anteriormente se diluyó posteriormente con hexano (Aldrich Chemical Co. Inc., Milwaukee, WI) para preparar soluciones al 4.5%, 4.3%, 4.1% y 3.9% en peso. Las viscosidades de estas soluciones se midieron como se describió anteriormente y se determinaron como 215 cP, 37,5 cP, 5cP cP y 27,5 cP, respectivamente.

55 [0108] Las viscosidades tras la dilución de una solución de polímero al 5% en acetato de butilo con más acetato de butilo (disolvente para PHA) en comparación con la dilución con hexano (precipitante para PHA a temperatura ambiente) se representan en la figura. 3. La dilución con el precipitante tiene un impacto no lineal y deseable en la

reducción de la viscosidad. La viscosidad aumentada observada con la dilución de hexano al 3.9% en peso de polímero en solución coincidió con precipitación del polímero de la solución a ese nivel de adición de hexano.

#### Ejemplo IV

5 [0109] *E. coli* recombinante se usó para producir poli 3-hidroxi-butirato-co-4-hidroxi-butirato (30% de 4-hidroxi-butirato en base molar) en una fermentación de alimentación por lotes, utilizando glucosa como fuente principal de carbono. Al término de la fermentación, las células de *E. coli* se habían expandido en tamaño a más de 2 micras en al menos una dimensión. La biomasa acumuló el 70% de polímero en peso seco. La biomasa se recogió posteriormente mediante centrifugación para obtener un gránulo de biomasa húmeda, sustancialmente libre de impurezas disueltas.

10 [0110] 100 g de gránulos de biomasa húmeda (48% sólidos secos) que contiene 70% de poli 3-hidroxi-butirato co 4-hidroxi-butirato en base seca, se cargó con 500 ml de acetato de etilo y se agitó con un agitador superior a temperatura ambiente durante 1 hora. La composición de polímero fue de 30% de 4-hidroxi-butirato en base molar. El tiempo de mezclado se terminó después de que la viscosidad aumentó en la medida en que más agitación no fue eficaz en mezclar el material. Se recogió un total de 350 ml de la suspensión y se centrifugó a 5000 g durante un total de 20 minutos (centrífuga Sorvall RC 5B plus, Kendro Laboratory Products, Newtown CT). La cantidad teórica de acetato de etilo que sería recuperable de los 350 ml de suspensión era 300 ml de acuerdo con los cálculos de equilibrio de masa.

15 [0111] El contenido de PHA de la fase de PHA fue un 5.3%. 220 mililitros de la fase de PHA se recuperaron por decantación después de la centrifugación, constituyendo un 73% en volumen del total de acetato de etilo recuperable de la suspensión antes de la centrifugación.

#### 20 Ejemplo V

[0112] El ejemplo anterior se repitió, excepto que se utilizó acetato de butilo (Aldrich Chemical Co. Inc., Milwaukee, WI) en lugar de acetato de etilo. El polímero en solución fue de un 4.3%. Apareció una capa emulsionada en la interfase después de la centrifugación. 250 mililitros de la fase de PHA se recuperaron por decantación después de la centrifugación, que constituyen aproximadamente el 83% del total recuperable de acetato de butilo presente en la suspensión antes de la centrifugación.

#### 25 Ejemplo VI

[0113] El ejemplo anterior se repitió, excepto que se utilizó MIBK (Aldrich Chemical Co. Inc., Milwaukee, WI) en lugar de acetato de butilo. El polímero en solución era aproximadamente de 4.2%. 290 mililitros de la fase de PHA se recuperaron por decantación después de la centrifugación, que constituyen aproximadamente el 97% del total recuperable de MIBK presente en la suspensión antes de la centrifugación.

#### 30 Ejemplo VII

35 [0114] 100 g de pasta de biomasa húmeda de *E. coli* con un 28% de sólidos secos que contienen 75% de poli 3-hidroxi-butirato co 4-hidroxi-butirato con 35% de 4-hidroxi-butirato en base de sólidos secos se puso en contacto con 200 g de hexano (Aldrich Chemical Co. Inc., Milwaukee, WI) y se extrajo durante 2 horas con un agitador superior (agitador superior IKA ®-Werke EUROSTAR power control-visc, Ika Work Inc., Wilmington, NC) a temperatura ambiente. El sobrenadante de hexano fue separado por centrifugación a 3500 g durante 20 minutos, y el granulado sólido recuperado después de decantar el sobrenadante de hexano. El granulado se extrajo posteriormente con 425 g de MIBK (Aldrich Chemical Co. Inc., Milwaukee, WI) a temperatura ambiente con agitación superior (agitador superior IKA ®-Werke EUROSTAR power control-visc, Ika Work Inc., Wilmington, NC) durante 3 horas. El sobrenadante (solución del polímero en MIBK) se separó por centrifugación a 3.500 g durante 20 minutos y el polímero precipitó por adición de 355 g de hexano. El polímero precipitado se recuperó por filtración utilizando un embudo forrado con papel filtro ranurado (VWR Scientific Products, West Chester, PA) y se secó durante una noche a 45 °C bajo vacío de 1 mm Hg a vacío en un evaporador rotativo Büchi para dar 13 gramos de polímero seco. El polímero seco se sometió a prensado de película en caliente a 180 °C. Una cantidad conveniente de PHA (normalmente 0.5 gramos) se coloca entre dos láminas de PET separadas por cuñas para formar una película de 100 micras de grosor. El conjunto de película (es decir, dos láminas, cuñas y PHA) se colocó entre los bloques calientes (180 °C) de la prensa (prensa hidráulica Carver modelo # 3912, Carver Inc., Wabash, IN) y se aplicó una carga de 10 toneladas durante 30 segundos. La película se enfrió entonces entre bloques de aluminio y luego se inspeccionó en cuanto a color y claridad. Esto produjo una película sustancialmente transparente sustancialmente sin humos ni olores desagradables a la temperatura de funcionamiento de 180 °C durante el ciclo de prensa.

#### 50 Ejemplo VIII

[0115] El ejemplo anterior se repitió, excepto que se utilizó heptano (Aldrich Chemical Co. Inc., Milwaukee, WI) en lugar de hexano. El procesado produjo una película sustancialmente transparente sustancialmente sin humos ni olores desagradables.

Ejemplo IX

[0116] El ejemplo anterior se repitió, excepto que se utilizó Soltrol ® 100 (una mezcla de isoalcanos C<sub>9</sub>-C<sub>11</sub>, comercialmente disponibles de Chevron Phillips Chemical Company ubicada en Houston, TX) en lugar de hexano. El proceso produjo una película sustancialmente transparente sustancialmente sin humos ni olores desagradables.

Ejemplo X

5 [0117] 100 g de pasta de biomasa húmeda de *E. coli* con 28% de sólidos secos que contienen 75% de poli 3-hidroxi-  
 hidroxibutirato co 4-hidroxi-  
 10 hidroxibutirato con 35% de 4-hidroxi-  
 hidroxibutirato en base de sólidos secos se trató con una cantidad eficaz de NaOH 0,02 N (Aldrich Chemical Co. Inc., Milwaukee, WI) a 65 °C durante 20 minutos y después se enfrió rápidamente a temperatura ambiente durante 5 minutos. La suspensión resultante se neutralizó a pH 7 con ácido fosfórico 85% (Aldrich Chemical Co. Inc., Milwaukee, WI) y después se centrifugó (3.500 g) durante 20 minutos, y se lavó con dos volúmenes de agua DI. Se descartó el sobrenadante y la pasta se extrajo con 425 g de MIBK a temperatura ambiente con agitador superior (agitador superior IKA ®-Werke EUROSTAR power controlvisc, Ika Work Inc., Wilmington, NC) durante tres horas. El sobrenadante (solución de polímero en MIBK) se separó por centrifugación a 3.500 g durante 20 minutos y el polímero precipitó por adición de 355 g de hexano. El polímero precipitado se recuperó por filtración y se secó bajo vacío en un evaporador rotativo Büchi B-171 (65 °C y 1 mm de Hg de vacío durante 8 horas) para dar 12 gramos de polímero seco. El polímero seco se sometió a prensado de película en caliente a 180 °C Esto produjo una película con sólo muy leve decoloración/opacidad.

Ejemplo XI

20 [0118] El ejemplo anterior se repitió, pero sin las etapas de tratamiento con NaOH a 65 °C durante 20 minutos y enfriamiento rápido. El PHA así recuperado produjo una película con fuerte coloración amarilla y opacidad durante el prensado de la película en caliente. También hubo evidencia de degradación térmica durante el ensayo como se evidencia por el humo durante el ciclo de presión de ensayo de película (180 °C y presión de 10 toneladas de 30 segundos de duración). Ejemplo XII

[0119] El siguiente es un ejemplo de un proceso de una sola etapa utilizando un contactor centrífugo en contracorriente.

25 [0120] 11 kg de pasta de biomasa que contiene 26% de sólidos secos de *E. coli* se puso en contacto con 38.6 kg de metil isobutil cetona (4-metil 2-pentanona o MIBK) durante tres horas a 30 °C en un tanque de disolución equipado con un agitador propulsor marino para mantener una mezcla homogénea. La biomasa contenía 71% en peso de poli-3-hidroxi-  
 30 hidroxibutirato co 4-hidroxi-  
 hidroxibutirato (4-hidroxi-  
 hidroxibutirato 22% molar) en base seca. Después de tres horas, la solución sobrenadante de MIBK y PHA obtenida por centrifugación de una muestra del tanque de disolución contenía un 4.1% en peso de PHA representando 91.2% de disolución.

[0121] La mezcla de pasta de células y MIBK se introduce en un extractor Podbielniak A-1 a escala piloto (B & P Process Equipment, Saginaw, MI) como el líquido pesado (HLI) a una velocidad de 635 ml/min. Al mismo tiempo MIBK fresco se introduce como el líquido ligero (LLI) para efectuar el lavado y la extracción a contracorriente de la pasta de células dentro del contactor Podbielniak. El LLI fue introducido a un caudal de 175 ml/min para mantener una relación de alimentación de HLI: LLI de 3.6:1. Un total de 49.6 kg de HLI y 12.8 kg de LLI fueron introducidos durante un período de 90 minutos. Un total de 8.9 kg de pasta celular residual se recogió en la salida de líquido pesado (HLO) y 53.6 kg de solución de PHA en MIBK se recogió en la salida de líquido ligero (LLO) durante el transcurso de un período de 90 minutos. El LLO contenía 3.75% en peso de PHA en solución como se determina por secado de una muestra de este material. Un total de 2.0 kg PHA se recuperó en el LLO comparado con los 2.04 kg de PHA contenidos en la alimentación de pasta celular de HLI (98.4% de recuperación total).

45 [0122] Las medidas de equilibrio de masas indican que más de 98% del total de MIBK contenido en el combinado de HLI y LLI fue recuperado en el PHA clarificado en solución de MIBK (LLO). La centrifugación en laboratorio indicó que se formó una interfaz muy clara después de 1 minuto de centrifugar a 3000 g. La ausencia de cualquier acumulación interfacial también fue confirmada por el LLO que permaneció claro durante la duración de la prueba de 90 minutos.

[0123] La recuperación mejorada de PHA del extractor Podbielniak (98,4%) en comparación con la lograda con una sola etapa de disolución (91.2%) confirma la eficacia del contacto a contracorriente con el disolvente fresco para mejorar la recuperación de PHA. La viscosidad de la pasta de biomasa residual también se reduce drásticamente por contacto a contracorriente como resultado de la eliminación casi completa de PHA.

50 Ejemplo XIII

[0124] El siguiente es un ejemplo de extracción de PHA usando ciclo-hexanona.

55 [0125] 90 g de pasta de biomasa húmeda de *E. coli* con un 28% de sólidos secos que contienen 80% de poli 3-hidroxi-  
 hidroxibutirato co 4-hidroxi-  
 hidroxibutirato con 12% de 4-hidroxi-  
 hidroxibutirato en base de sólidos en seco se añadió a 400 g de ciclo-hexanona (Aldrich Chemical Co., Inc., Milwaukee, WI) a 90 °C. La solución se homogeneizó durante 5 minutos usando un homogeneizador portátil equipado con una combinación de rotor-estator de ranura única a 30.000 rpm (Virtis, Gardiner, NY) y luego se agitó durante 30 minutos utilizando un agitador superior (agitador superior IKA ®-Werke EUROSTAR power control-visc, Ika Work Inc., Wilmington, NC). La temperatura se controló a 90 ± 5 °C durante el paso de contacto con el disolvente. La mezcla pasta de biomasa/ciclo-hexanona se centrifugó a 3000 g

durante 5 minutos para separar el sobrenadante (solución de polímero en ciclo-hexanona) del sedimento de la pasta de biomasa residual por decantación usando una centrífuga Sorvall RC 5B plus (Kendro Laboratory Products, Newtown, CT).

5 [0126] El sobrenadante se volvió a calentar en un vaso de precipitados a  $80 \pm 5$  °C y se añadió lentamente un volumen igual de heptano (mantenido a temperatura ambiente) a la solución durante 5 minutos mientras se mezclaba vigorosamente con un agitador superior (agitador superior IKA ®-Werke EUROSTAR power control-visc, Ika Work Inc., Wilmington, NC) para precipitar el polímero mientras se mantenía la temperatura entre 70 °C y 80 °C. El polímero precipitado se recuperó por filtración utilizando un embudo forrado con papel filtro ranurado (VWR Scientific Products, West Chester, PA) y se secó al aire durante la noche en una campana química para proporcionar 16 g de gránulos de polímero blanco (80% total de recuperación).

10 [0127] Se preparó una película poniendo aproximadamente 0.5 g de polímero entre dos láminas de PET separadas por cuñas para formar una película de 100 micras de grosor. El conjunto de la película (es decir, dos hojas, cuñas y PHA) se colocó entre los bloques calentados (180 °C) de la prensa (prensa hidráulica Carver modelo # 3912, Carver Inc., Wabash, IN) y se aplicó una carga de 10 toneladas durante 30 segundos. La película se enfrió entonces entre bloques de aluminio y luego se inspeccionó en cuanto a color y claridad. Esto produjo una película sustancialmente transparente sin sustancialmente humos ni olores desagradables a la temperatura de funcionamiento de 180 °C durante el ciclo de prensa.

#### Ejemplo XIV

[0128] El siguiente es un ejemplo de extracción de PHBH.

20 [0129] Se preparó pasta celular húmeda de *Ralstonia eutropha* (27% de sólidos de biomasa en peso en agua) que contiene aproximadamente 65% de poli 3-hidroxibutirato co 3-hidroxihexanoato (PHBH) en base de biomasa seca con una composición de hidroxihexanoato 5-7% en base molar (Kichise et al, (1999), Intl. J. Biol. Macromol 25: 69-77) usando una cepa genéticamente modificada de *Ralstonia* preparada como se describe en (Kichise et al, (1999.), Intl. J. Biol. Macromol 25. 69-77) y el proceso de fermentación descrito por Naylor en la patente US N ° 5.871.980  
25 usando fructosa y ácido láurico como fuentes de carbono. Esta biomasa se agregó a una cantidad conveniente de solución de MIBK para un 5% (p/p) de PHBX en el disolvente. La solución se homogeneizó durante 5 minutos usando un homogeneizador portátil equipado con una combinación de rotor-estator de ranura única a 30.000 rpm (Virtis, Gardiner, NY) y luego se agitó durante 30 minutos utilizando un agitador superior (agitador superior IKA ®-Werke EUROSTAR power control-visc, Ika Work Inc., Wilmington, NC). La temperatura se controló a  $80 \pm 5$  °C  
30 durante el paso de contacto con el disolvente. La mezcla resultante biomasa/disolvente se separó por centrifugación utilizando una centrífuga Sorvall RC 5B plus (Kendro Laboratory Products, Newtown, CT). La mezcla pasta de biomasa/ciclo-hexanona se centrifugó a 3000 g durante 5 minutos para separar el sobrenadante (solución de polímero en ciclo-hexanona) del sedimento de la pasta de la biomasa residual.

35 [0130] El sobrenadante se añadió a un vaso de precipitados y se añadió un volumen igual de heptano lentamente a la solución durante 5 minutos mientras se mezclaba vigorosamente con un agitador superior (agitador superior IKA ®-Werke EUROSTAR power control-visc, Ika Work Inc., Wilmington, NC) para precipitar el polímero. Un polvo cristalino blanco de polímero se recuperó después de secado durante la noche en una campana química.

#### Ejemplo XV

[0131] El siguiente es un ejemplo de extracción de PHBX

40 [0132] Pasta celular húmeda de *Pseudomonas sp* genéticamente modificada fue preparada y cultivada en glucosa como se describe en Matsusakai et al., (1999, Biomacromolecules 1: 17-22) conteniendo aproximadamente 50% de poli 3-hidroxibutirato co-3 hidroxioctanoato co 3-hidroxi decanoato co3-co hidroxidodecanoato co-3 hidroxidodecanoato (PHBX) en base de biomasa seca con una composición de 92% de 3-hidroxibutirato, 1% de 3-hidroxioctanoato, 3% de 3 -hidroxidecanoato, 3% de 3-hidroxidodecanoato y 1% de 3-hydroxydodecanoate en base  
45 molar. Esta biomasa se añadió a una cantidad adecuada de solución MIBK para 5% (p/p) de PHBX en el disolvente. La solución se homogeneizó durante 5 minutos usando un homogeneizador portátil equipado con una combinación de rotor-estator de ranura única a 30.000 rpm (Virtis, Gardiner, NY) y luego se agitó durante 30 minutos utilizando un agitador superior (agitador superior IKA ®-Werke EUROSTAR power control-visc, Ika Work Inc., Wilmington, NC). La temperatura se controló a  $80 \pm 5$  °C durante el paso de contacto con el disolvente. La mezcla resultante biomasa/disolvente se separó por centrifugación utilizando una centrífuga Sorvall RC 5B plus (Kendro Laboratory Products, Newtown, CT). La mezcla pasta de biomasa/ciclo-hexanona se centrifugó a 3000 g durante 5 minutos para separar el sobrenadante (solución de polímero en ciclo-hexanona) del sedimento de la pasta de la biomasa residual.

50 [0133] El sobrenadante se añadió a un vaso de precipitados y se añadió un volumen igual de heptano lentamente a la solución durante 5 minutos mientras se mezclaba vigorosamente con un agitador superior (agitador superior IKA ®-Werke EUROSTAR power control-visc, Ika Work Inc., Wilmington, NC) para precipitar el polímero. Un polvo cristalino blanco de polímero se recuperó después de secado durante la noche en una campana química.

[0134] Otras realizaciones están en las reivindicaciones.

## REIVINDICACIONES

1. Un método para separar un polímero de una biomasa que contiene el polímero, comprendiendo el método:
- 5 poner en contacto la biomasa con un sistema disolvente, incluyendo un disolvente para el polímero y un precipitante para el polímero, para proporcionar una biomasa residual y una solución que incluye el polímero, el disolvente para el polímero y el precipitante para el polímero, y
- aplicar una fuerza centrífuga a la solución y la biomasa residual para separar al menos parte de la solución de la biomasa residual;
- donde:
- 10 el polímero es un polihidroxialcanoato ("PHA"); y
- la biomasa comprende una suspensión de la biomasa y agua.
2. El método según la reivindicación 1, en el que el disolvente para el polímero tiene una densidad de menos de unos 0.95 kilogramos por litro.
3. El método según la reivindicación 1, en el que el disolvente para el polímero es no halogenado.
- 15 4. El método según la reivindicación 1, en el que el disolvente para el polímero tiene una solubilidad en agua de menos de aproximadamente uno por ciento.
5. El método según la reivindicación 1, en el que el disolvente para el polímero es no hidrolizable.
6. El método según la reivindicación 1, en el que el disolvente para el polímero tiene un valor logK respecto al agua a 100 °C de al menos 1.5.
7. El método según la reivindicación 1, en el que el disolvente tiene un punto de ebullición superior a 100 °C.
- 20 8. El método según la reivindicación 1, en el que el disolvente para el polímero se selecciona entre el grupo constituido por cetonas, ésteres y alcoholes.
9. El método según la reivindicación 1, en el que el disolvente para el polímero se selecciona entre el grupo constituido por MIBK, acetato de butilo, ciclo-hexanona y combinaciones de los mismos.
- 25 10. El método según la reivindicación 1, en el que el precipitante para el polímero disuelve menos de 0.2% del polímero a temperatura ambiente.
11. El método según la reivindicación 1, en el que el disolvente para el polímero y el precipitante para el polímero tienen una volatilidad relativa de al menos dos en un punto de burbuja equimolar para el disolvente para el polímero y el precipitante para el polímero.
- 30 12. El método según la reivindicación 1, en el que el disolvente para el polímero y el precipitante para el polímero no forman un azeótropo.
13. El método según la reivindicación 1, en el que el precipitante comprende al menos un alcano.
14. El método según la reivindicación 1, en el que la solución comprende como máximo 25% en volumen del precipitante para el polímero.
15. El método según la reivindicación 1, que comprende además retirar al menos algo del polímero de la solución.
- 35 16. El método según la reivindicación 15, que comprende además extraer el polímero retirado para secar y granular el polímero.
17. El método según la reivindicación 15, en el que retirar el polímero de la solución no incluye exponer la solución a agua caliente.
- 40 18. El método según la reivindicación 15, en el que retirar el polímero de la solución incluye añadir un segundo precipitante para el polímero a la solución.
19. El método según la reivindicación 18, en el que los precipitantes primero y segundo para el polímero son el mismo.
20. El método según la reivindicación 15, que comprende además evaporar una porción de la solución antes de retirar al menos algo del polímero de la solución.
- 45 21. El método según la reivindicación 1, que comprende además, después de aplicar la fuerza centrífuga a la solución, añadir un volumen de un precipitante segundo para el polímero para eliminar al menos algo del polímero de la solución, en el que el volumen de precipitante segundo es menor que dos partes en relación con el volumen del sistema disolvente.

22. El método según la reivindicación 1, en el que el precipitante para el polímero se pone en contacto con la biomasa después de que el disolvente para el polímero se pone en contacto con la biomasa.
23. El método según la reivindicación 1 o 22, donde la solución tiene una concentración de polímero de al menos dos por ciento.
- 5 24. El método según la reivindicación 1 o 22, en el que la solución tiene una viscosidad de como máximo 100 m Pa.s (100 centipoise).
25. El método según a reivindicación 22, que comprende además retirar al menos una parte del polímero de la solución, en el que retirar el polímero no incluye exponer la solución a agua caliente.
- 10 26. El método según la reivindicación 22, que comprende además, después de la separación, añadir un volumen de un precipitante segundo para el polímero para retirar al menos algo del polímero de la solución, en el que el volumen del segundo precipitante es inferior a dos partes con relación al volumen del sistema disolvente.
27. El método según la reivindicación 22, que comprende además: retirar al menos una parte del polímero de la solución, y extruir el polímero retirado para secar y granular el polímero.
- 15 28. El método según la reivindicación 22, en el que el sistema disolvente comprende un disolvente para el polímero tal como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 2-9.
29. El método según la reivindicación 22, en el que el sistema disolvente comprende un precipitante para el polímero que disuelve menos de un 0.2% del polímero a temperatura ambiente.
- 20 30. El método según la reivindicación 22, en el que el disolvente para el polímero y el precipitante para el polímero tienen una volatilidad relativa de al menos dos en un punto de burbuja equimolar para el disolvente para el polímero y el precipitante para el polímero.
31. El método según la reivindicación 22, en el que el disolvente para el polímero y el precipitante para el polímero no forman un azeótropo.
32. El método según la reivindicación 22, en el que el precipitante para el polímero comprende un alcano.
- 25 33. El método según la reivindicación 1 o 22, en el que la biomasa que contiene el polímero es de origen microbiano y tiene un contenido de polímero de al menos 50 por ciento en peso, o es de origen vegetal y tiene un contenido de polímero inferior a un 50 por ciento en peso.
34. El método según la reivindicación 1 o 22, en el que la biomasa que contiene el polímero comprende células que contienen el polímero.
- 30 35. El método según la reivindicación 1 o 22, en el que el sistema disolvente se pone en contacto con la biomasa en condiciones de flujo a contracorriente.
36. El método según la reivindicación 35, en el que el método es un método de una etapa.
37. El método según la reivindicación 35, en el que el método es un método de múltiples etapas.
38. El método según la reivindicación 35, en el que las condiciones de contracorriente incluyen una presión manométrica de por lo menos  $4,4811 \times 10^5$  Pa (una presión de al menos 65 psig).
- 35 39. El método según la reivindicación 1, que es un método para la extracción de un polihidroxialcanoato (PHA) de biomasa que tiene células que contienen el PHA, comprendiendo el método:
- (a) proporcionar una suspensión que contiene la biomasa y agua,
- (b) añadir un sistema disolvente a la suspensión para formar una mezcla que contiene la suspensión y el sistema disolvente,
- 40 (c) agitar la mezcla para proporcionar una combinación que incluye dos fases, una fase que está formada de una solución que contiene el PHA y el sistema disolvente con cantidades traza de biomasa, y la segunda fase formada de biomasa residual que tiene células con reducido contenido de polímero, agua y una porción residual del sistema disolvente,
- (d) separar las dos fases utilizando un dispositivo que utiliza la fuerza centrífuga para facilitar la separación;
- 45 (e) añadir un precipitante para el PHA a la fase de PHA para formar una mezcla que contiene el PHA precipitado, el sistema disolvente y el precipitante, y a continuación,
- (f) separar el PHA de esa mezcla,
- en el que el sistema disolvente que se añade a la suspensión incluye uno o más disolventes para el PHA y uno o más precipitantes para el PHA.

40. El método según la reivindicación 39, en el que el disolvente para el PHA tiene una solubilidad en agua de menos de uno por ciento.
41. El método según la reivindicación 39, en el que el sistema disolvente que se añade a la suspensión contiene menos de 25 por ciento en volumen del precipitante.
- 5 42. El método según la reivindicación 39, en el que el sistema disolvente que se añade a la suspensión contiene menos de 20 por ciento en volumen del precipitante.
43. El método según la reivindicación 39, en el que el sistema disolvente que se añade a la suspensión contiene menos de 15 por ciento en volumen del precipitante.
- 10 44. El método según la reivindicación 39, en el que el sistema disolvente que se añade a la suspensión contiene menos de 10 por ciento en volumen del precipitante.
45. El método según la reivindicación 39, en el que el PHA precipitado se separa por filtración o centrifugación de la mezcla que contiene el sistema disolvente y el precipitante.
46. El método según la reivindicación 39 o la reivindicación 45, que comprende además la etapa de lavar el PHA precipitado con disolvente.
- 15 47. El método según la reivindicación 46, en el que el disolvente es una mezcla de un disolvente para el PHA y un precipitante para el PHA.
48. El método de la reivindicación 46 o la reivindicación 47, que comprende además la etapa de secar el PHA precipitado lavado.
- 20 49. El método según la reivindicación 46 o la reivindicación 47, que comprende además la etapa de extruir directamente el polímero precipitado que contiene todavía disolvente.
50. El método según la reivindicación 49, en el que el polímero se extruye en una extrusora devolatilizante.
51. El método según la reivindicación 50, que comprende además la etapa de formar un producto por granulación del polímero extruido.
- 25 52. El método según la reivindicación 39, en el que el precipitante para el PHA se añade a la suspensión antes que el disolvente para el PHA.
53. El método según la reivindicación 52, en el que la cantidad de precipitante añadida es de 0.5 a 2 volúmenes con relación a la suspensión.
- 30 54. El método según la reivindicación 8, en el que el disolvente se selecciona entre el grupo constituido por metil isobutil cetona, acetato de etilo, acetato de propilo, acetato de butilo, acetato de amilo, iso-butilato de butilo, n-butilato de metilo, propionato de butilo, butirato de butilo, valerato de metilo, valerato de etilo, caproato de metilo, butirato de etilo, acetato de etilo, gamma-butirolactona, gamma-valerolactona, 3-metil-2-pentanona, 4-metil-2-pentanona, 3-metil-2-butanona, 2-pentanona, diisobutil cetona, 2-hexanona, 3-pentanona, 2-metil-3-heptanona, 3-heptanona, 2-octanona, 5-metil-3-heptanona, 5-metil-2-hexanona, heptanona, ciclopentanona, ciclo-hexanona, metil-1-butanol, etil-1-butanol, 3-metil-1-butanol, 2-metil-1-pentanol, 2-metil-2-butanol, 3-metil-2-pentanol, metil-2-pentanol, 35 4-metil-2-pentanol, alcohol butílico, alcohol pentílico, alcohol hexílico, alcohol heptílico, ciclohexanol, metil-ciclohexanol y aceite de fusel.
- 40 55. El método según la reivindicación 54, en el que el disolvente para el polímero se selecciona entre el grupo constituido por acetato de butilo, 3-metil-2-pentanona, 3-metil-2-butanona, 2-pentanona, diisobutil cetona, 2-hexanona, 3-pentanona, 2-metil-3-heptanona, 3-heptanona, 2-octanona, 5-metil-3-heptanona, 5-metil-2-hexanona, y heptanona.
56. El método según la reivindicación 55, en el que el disolvente para el polímero se selecciona entre el grupo constituido por 2-pentanona, 2-hexanona, 3-pentanona, 2-metil-3-heptanona, 3-heptanona, 2-octanona, 5-metil-3-heptanona, 5-metil-2-hexanona, y heptanona.
- 45 57. El método según la reivindicación 56, en el que el disolvente para el polímero se selecciona entre el grupo constituido por 2-pentanona, 3-pentanona y 2-hexanona.

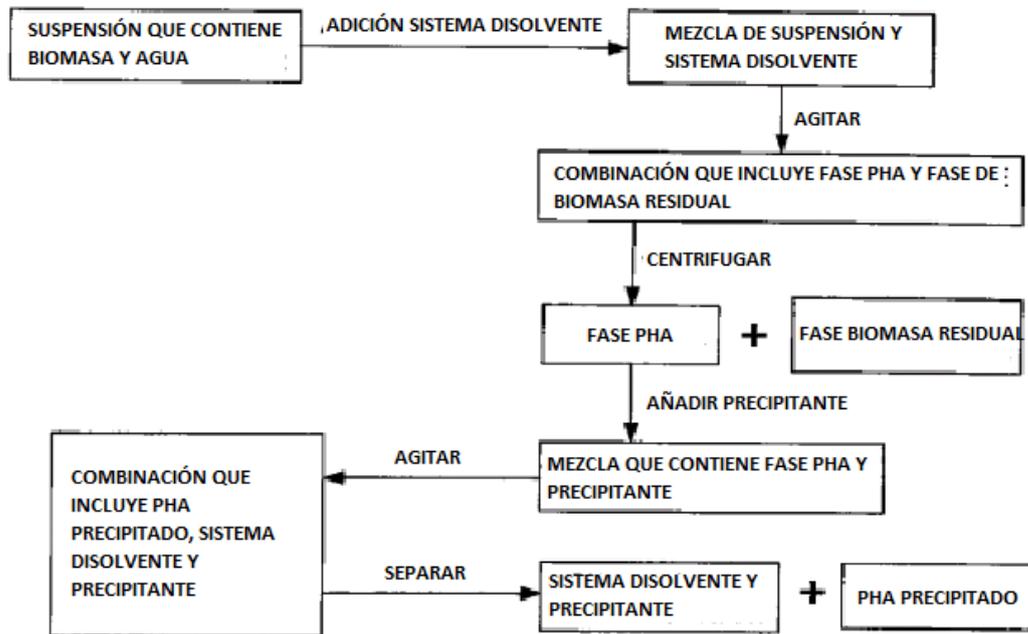


FIG. 1

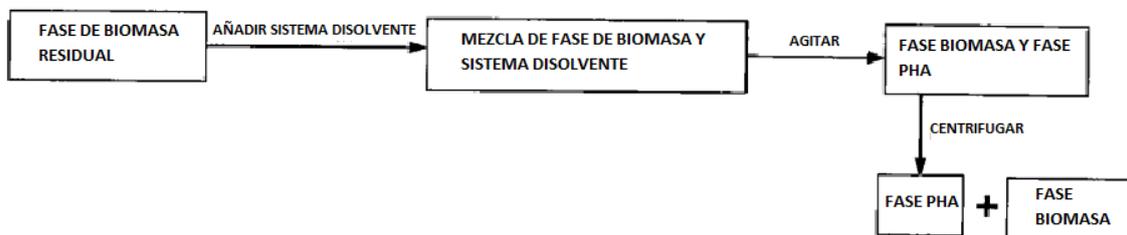


FIG. 2

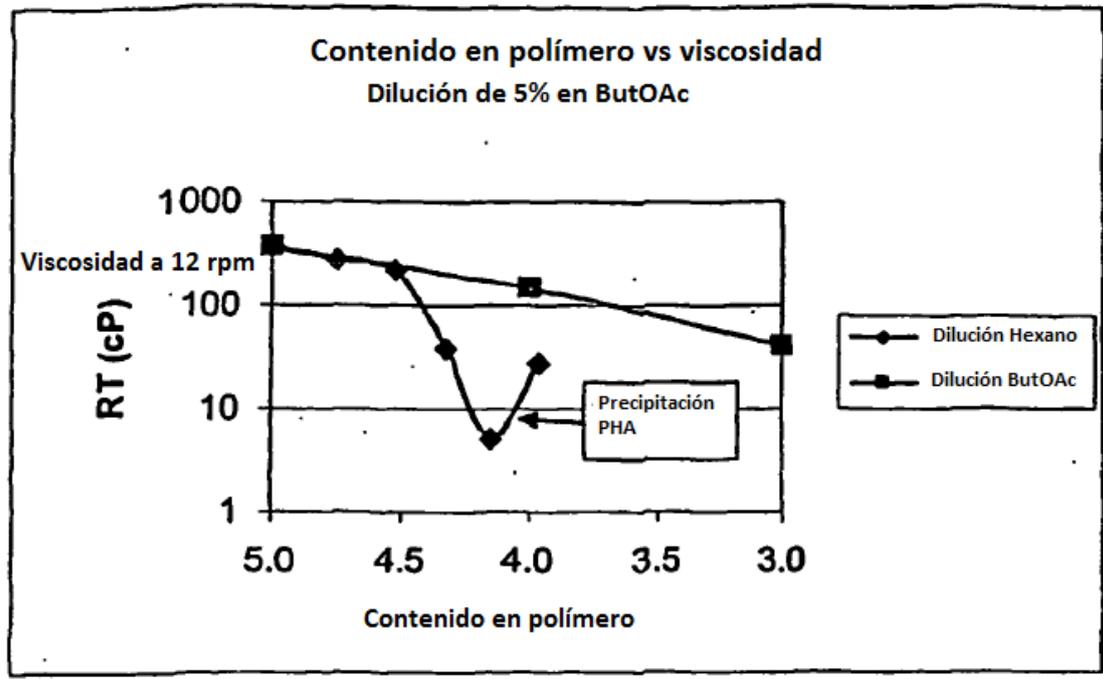


Fig. 3