PI04063473
PI04063473

Assinado Digitalmente

REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
MINISTÉRIO DO DESENVOLVIMENTO, INDÚSTRIA E COMÉRCIO EXTERIOR
INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

CARTA PATENTE Nº PI 0406347-3

O INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL concede a presente PATENTE DE INVENÇÃO, que outorga ao seu titular a propriedade da invenção caracterizada neste título, em todo o território nacional, garantindo os direitos dela decorrentes, previstos na legislação em vigor.

(21) Número do Depósito: PI 0406347-3

(22) Data do Depósito: 24/11/2004

(43) Data da Publicação do Pedido: 04/07/2006

(51) Classificação Internacional: C12P 5/02; C10L 7/04

(54) Título: PROCESSO PARA A PRODUÇÃO DE BIOMASSA MICROBIANA A PARTIR DE DERIVADOS DA CANA DE AÇUCAR

(73) Titular: UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ, CGC/CPF: 75095679000149. Endereço: Rua XV de Novembro, 1299, Centro, Curitiba, Paraná, Brasil (BR/PR), CEP: 80020-310.; OURO FINO PARTICIPAÇÕES E EMPREENDIMENTOS S.A, Brasileira, CGC/CPF: 07065512000185. Endereço: Avenida Independência, 3320 - Sala 24, Alto da Boa Vista, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil (BR/SP), CEP: 14025-230. Cidadania: Brasileira.

(72) Inventor: CARLOS RICARDO SOCCOL

Prazo de Validade: 10 (dez) anos contados a partir de 16/12/2014, observadas as condições legais.

Expedida em: 16 de Dezembro de 2014.

Assinado digitalmente por:

Júlio César Castelo Branco Reis Moreira
Diretor de Patentes

"PROCESSO PARA A PRODUÇÃO DE BIOMASSA MICROBIANA A PARTIR DE DERIVADOS DA CANA DE AÇÚCAR"

Campo da Invenção

A presente invenção trata de um processo para a produção de biomassa microbiana rica em lipídios, destinadas a aplicações diversas, tais como matéria prima para a produção de biodiesel, para uso direto como combustível em motores do tipo diesel ou na geração simples de energia e vapor.

O processo segundo a presente invenção é realizado em cultura microbiana submersa e utiliza como matéria prima derivados da cana-de-açúcar, tais como caldo, melaço, açúcar refinado, açúcar mascavo e açúcar invertido, isoladamente ou suas misturas em quaisquer proporções.

Histórico da invenção

Os óleos e gorduras, empregados quase universalmente como formas de armazenamento de energia nos organismos vivos, sob o ponto de vista químico, são compostos altamente reduzidos e derivados dos ácidos graxos. Os ácidos graxos são derivados dos hidrocarbonetos e seu estado de oxidação é mínimo, isto é, são tão altamente reduzidos como os hidrocarbonetos do petróleo e outros combustíveis fósseis. Já foi descrito na literatura que um grande número de microrganismos apresentam a capacidade de acumular grandes concentrações de lipídios, chamados "BioOil", em suas células. A quantidade de lipídios acumulado, bem como sua composição química diferem de acordo com o gênero e espécie do microrganismo, condições de cultivo, fonte de carbono e a composição dos meios empregados. As leveduras podem ser citadas como um dos grupos de microorganismos mais interessantes, por sua capacidade de acumular grandes quantidades de lipídios ao nível intracelular, bem como pelas suas taxas de crescimento relativamente altas e sua semelhança de composição de triglicerídeos com aquela dos óleos vegetais.

Como exemplo de alguns grupos de microrganismos que possuem essa capacidade de acumular lipídios a nível intracelular podem ser citadas as leveduras *Candida guilhermondi, Candida tropicalis, Candida SP., Candida curvata, Criptococcus terricolus, Candida oleophila, Hansenula*

Saturnus, Hansenulla ciferri, Lipomyces starkei, Rhodutorala gracilis, Aspergillus fischeri, Candida lipolítica, Aspergillus furmigatus, Aspergillus nidulans, Apergillus ochraceus, Aspergillus terreus, Aspergillus ustus, Cladosporium fulvum, Cladosporium herbarum, Mucor miehei, Penicillium gladioloil, Penicillium javanicum, Penicillium lilacinum, Penicillium spinulosum, Penicillium ultimim, Criptococcus albidus, Lypomices starkeyi, Rhodotorula glutinis, Thichosporon pullulans, Mortierrella hygrophila, M. zychae, M. elengata, M. parvispora, M.schumuckeri, M. alpina, Lypomyces lipofeer, Lipomyces tetrasporus, Rhodosporidium toruloides, Williopsis satumus, Candida diddensiae, Yarrowia lipolítica, Trichosporon cutaneum.

Em alguns casos, esses microorganismos podem acumular até 60% de seu peso seco em lipídios, sendo que os principais triglicerídeos formados são de cadeias contendo entre 16 e 18 átomos de carbono.

Reporta-se que durante a Segunda Guerra Mundial, com a escassez de lipídios de origem vegetal, o cultivo de leveduras possibilitou a fabricação de óleos e seus derivados, como margarinas e outros produtos. Na indústria cosmética atual, ácidos graxos de alto valor comercial são usados como emulsificantes e estabilizantes. Esses lipídios podem igualmente ser sintetizados por via microbiana.

A produção de lipídios por via microbiana poderá surgir como uma alternativa viável na concorrência da produção de óleos e gorduras de origem vegetal e/ou animal. Os microorganismos, como seres vivos mais simples que plantas e animais , poderão ser utilizados de maneira econômica em pequena ou mesmo larga escala na produção de biodiesel, na geração de combustível energético ou na produção de outros produtos.

O petróleo e seus derivados vêm se tornando cada vez mais escasso no planeta e as estimativas indicam reservas mundiais para apenas os próximos vinte anos, alertando os governos de todos os países desenvolvidos e em desenvolvimento a procurar incentivar pesquisas com fontes alternativas de energia.

O óleo de origem microbiana é uma alternativa interessante aos combustíveis atuais, sendo menos poluente e de fonte renovável, uma vez que pode ser produzido a partir de matérias primas agrícolas, notadamente os derivados de cana de açúcar, tal como preconizado pela presente invenção.

Portanto, é o objetivo principal da presente invenção prover um processo de produção de lipídios microbianos para substituição dos óleos vegetais utilizados na fabricação de biodiesel e óleo combustível, assim como na geração de energia e vapor.

Descrição Detalhada do Processo

O processo segundo a presente invenção consiste na utilização dos derivados da cana-de-açúcar, tais como caldo, melaço, açúcar mascavo, açúcar refinado, açúcar invertido ou suas misturas em quaisquer proporções, em cultura submersa, agitada e aerada de microorganismos capazes de acumular lipídios a nível intracelular durante a fase de crescimento e pós-crescimento.

Dentre os vários microorganismos que podem ser utilizados no processo segundo a presente invenção, destacam-se *Candida guilhermondi, Candida tropicalis, Candida SP., Candida curvata, Criptococcus terricolus, , Candida lipolítica, Hansenula Saturnus, Hansenulla ciferri, Lipomyces starkei, Rhodutorala gracilis, Aspergillus fischeri, Aspergillus furmigatus, Aspergillus nidulans, Apergillus ochraceus, Aspergillus terreus, Aspergillus ustus, Cladosporium fulvum, Cladosporium herbarum, Mucor miehei, Penicillium gladiololi, Penicillium javanicum, Penicillium lilacinum, Penicillium spinulosum, Penicillium ultimim, Criptococcus albidus, Lypomices starkeyi, Rhodotorula glutinis, Thichosporon pullulans, Mortierrella hygrophila, M. zychae, M. elengata, M. parvispora, M.schumuckeri, M. alpina, Lypomyces lipofeer, Lipomyces tetrasporus, Rhodosporidium toruloides, Williopsis satumus, Candida diddensiae, Yarrowia lipolítica, Trichosporon cutaneum.* Ditos microorganismos podem ser utilizados em culturas simples ou co-culturas, podendo ou não serem modificados geneticamente.

Segundo o processo da presente invenção, os microorganismos são cultivados em biorreatores com volume variável, podendo chegar a casa de milhões de litros, operando em batelada, batelada alimentada ou sistema continuo. Esses biorreatores são alimentados com um meio de cultivo a base de derivados de cana de açúcar, tais como caldo diluído ou não, melaço de cana de açúcar diluído, açúcar mascavo e/ou refinado diluído, ou com misturas dessas matérias primas em diferentes proporções. Esses meios de cultivo serão suplementados ou não com uma fonte mineral ou orgânica de nitrogênio,

tal como amônia, uréia, sulfato de amônio, peptona, extrato de levedura, levedura seca ou prensada, farelo de soja, extrato de carne, hidrolisados protéicos, além de KH_2PO_4, K_2SO_4, $MgSO_4$, $ZnSO_4$, $CuSO_4$, $FeSO_4$ e outros minerais.

O meio de cultivo a base dos derivados de cana de açúcar poderão ser ou não pasteurizados e/ou esterilizados pelo uso do calor como forma de eliminar a carga microbiana natural presente, porém indesejável nas matérias primas. Caso se adote a prática da pasteurização e/ou esterilização a temperatura poderá variar de 62 e 142°C, e um tempo de exposição térmica na temperatura escolhida variando de alguns segundos ou algumas horas, em função da técnica utilizada.

O meio de cultivo poderá ainda ser tratado com antibióticos e antifúngicos para redução da carga microbiana indesejável presente no substrato. No caso do uso de antibióticos, o mesmo deverá ser de amplo espectro, ou seja, possuir ação contra bactérias Gram (+) ou Gram (-). Após a pasteurização e/ou esterilização, o meio a base dos derivados da cana de açúcar serão resfriados a temperaturas que poderão variar entre 15 e 50°C.

Esse meio de cultivo, destinado a produção de biomassa microbiana e produção de lipídios, é então inoculado com um caldo de mesma composição ao descrito anteriormente, contendo uma concentração de células viando de 10^3 e 10^{12} UFC/cm^3, sendo o volume de inóculo variável entre 1 a 99% do volume de trabalho do biorreator.

O meio de cultura no interior do biorreator terá uma temperatura controlada entre 15 e 50°C através de camisas ou serpentinas na qual será bombeado água fria ou vapor. O pH no interior dos biorreator deve ser mantido variando de 2,5-8,5 em função da célula microbiana empregada e ajustado pelo bombeamento de uma solução ácida ou alcalina concentrada. O meio de cultivo no interior do biorreator é preferencialmente agitado por meio de um sistema de pás a uma velocidade que poderá variar de 5 a 500 rpm. Também, o meio de cultivo no interior do biorreator é preferencialmente aereado por injeção de ar filtrado diretamente no meio, em volumes que poderá variar de 0,1 a 5 Va/Vm/min (volume de ar por volume de meio por minuto). O tempo de cultura no interior do biorreator é função do gênero e espécie do microorganismo empregado, porém deve variar de 3-72 horas.

Após a formação de biomassa e conseqüente acúmulo de lipídios, separa-se os microorganismos do caldo de cultura por decantação, sedimentação, centrifugação, por filtração utilizando filtro rotatório a vácuo, filtro prensa, ultrafiltração ou outro equipamento que permita uma tal separação.

Após, a biomassa separada poderá passar por um processo de rompimento celular para facilitar a extração dos lipídios, o que pode ser realizado através do uso de métodos mecânicos ou não mecânicos. Os métodos mecânicos consistem o uso da pressão, trituração ou ultra-som. Os métodos não mecânicos se baseiam fundamentalmente no efeito da lise celular que pode ser realizada através do uso de enzimas, como a lisozima ou outras, ou através de métodos químicos pelo uso de detergentes e de métodos físicos através do choque osmótico ou congelamento. O uso direto de solventes orgânicos poderá fornecer bons resultados. Após o rompimento celular serão utilizados solventes orgânicos, tais como metanol, éter etílico, hexano, benzeno ou clorofórmio, entre outros, para recuperação dos lipídios acumulados no interior das células.

O processo segundo a presente invenção é, portanto, uma importante alternativa para a produção de biodiesel em substituição aos tradicionais processos que empregam extração de óleo de vegetais, tais como soja e mamona.

Reivindicações

1. PROCESSO PARA A PRODUÇÃO DE BIOMASSA MICROBIANA A PARTIR DE DERIVADOS DA CANA DE AÇÚCAR, caracterizado por compreender as etapas de:

(a) preparar um meio de cultivo baseado em derivados de cana de açúcar;

(b) inocular o referido meio de cultivo em um biorreator com um caldo de mesma composição, com concentração de células de microorganismos variando de 10^3 e 10^{12} UFC/cm^3;

(c) manter a temperatura entre 15 e 50°C;

(d) manter o pH na faixa de 2,5-8,5; e

(e) prover um tempo de cultura de 3 a 72 horas.

2. PROCESSO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo microorganismo ser um ou mais selecionado do grupo compreendendo *Candida guilhermondi, Candida tropicalis, Candida SP., Candida curvata, Criptococcus terricolus, , Candida lipolítica, Hansenula Saturnus, Hansenulla ciferri, Lipomyces starkei, Rhodutorala gracilis, Aspergillus fischeri, Aspergillus furmigatus, Aspergillus nidulans, Apergillus ochraceus, Aspergillus terreus, Aspergillus ustus, Cladosporium fulvum, Cladosporium herbarum, Mucor miehei, Penicillium gladiololi, Penicillium javanicum, Penicillium lilacinum, Penicillium spinulosum, Penicillium ultimim, Criptococcus albidus, Lypomices starkeyi, Rhodotorula glutinis, Thichosporon pullulans, Mortierrella hygrophila, M. zychae, M. elengata, M. parvispora, M.schumuckeri, M. alpina, Lypomyces lipofeer, Lipomyces tetrasporus, Rhodosporidium toruloides, Williopsis satumus, Candida diddensiae, Yarrowia lipolítica, Trichosporon cutaneum*, utilizados em culturas simples ou co-culturas e sendo ou não geneticamente modificados.

3. PROCESSO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o derivado de cana-de-açúcar é caldo, melaço, açúcar refinado, açúcar mascavo e açúcar invertido, isoladamente ou em suas misturas em quaisquer proporções.

4. PROCESSO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que é realizado em cultura submersa, agitada e aerada.

5. PROCESSO, de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelo fato do meio de cultura ser agitado por meio de um sistema de pás a uma velocidade que poderá variar de 5 a 500 rpm.

6. PROCESSO, de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelo fato do meio de cultura ser areado por injeção de ar filtrado diretamente no meio, em volumes que varia de 0,1 a 5 Va/Vm/min.

7. PROCESSO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato do meio de cultivo ser suplementado com uma fonte mineral ou orgânica de nitrogênio.

8. PROCESSO, de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pelo fato de a fonte mineral ou orgânica de nitrogênio ser amônia, uréia, sulfato de amônio, peptona, extrato de levedura, levedura seca ou prensada, farelo de soja, extrato de carne, hidrolisados protéicos, além de KH_2PO_4, K_2SO_4, $MgSO_4$, $ZnSO_4$, $CuSO_4$, $FeSO_4$.

9. PROCESSO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato do meio de cultivo ser pasteurizados e/ou esterilizados pelo uso do calor, em temperatura variando de 62 e 142°C, sendo após resfriado para uma faixa de temperatura entre 15-50°C.

10. PROCESSO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato do meio de cultivo ser tratado com antibióticos.

11. PROCESSO, de acordo com uma ou mais das reivindicações anteriores, caracterizado pelo fato da biomassa rica em lipídios passar por etapas de separação dos microorganismos, rompimento celular e recuperação por solvente dos lipídios dela extraídos.

Resumo

"PROCESSO PARA A PRODUÇÃO DE BIOMASSA MICROBIANA A PARTIR DE DERIVADOS DA CANA DE AÇÚCAR"

A presente invenção trata de um processo para a produção de biomassa microbiana rica em lipídios, destinadas a aplicações diversas, tais como matéria prima para a produção de biodiesel, para uso direto como combustível em motores do tipo diesel ou na geração simples de energia e vapor. O processo é realizado em cultura microbiana submersa de microorganismos, utilizando como matéria prima derivados da cana-de-açúcar, tais como caldo, melaço, açúcar refinado, açúcar mascavo e açúcar invertido, isoladamente ou suas misturas em quaisquer proporções.