



(19)

REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
Ministério da Indústria e do Comércio
Instituto Nacional da Propriedade Industrial



(19) PEDIDO DE PRIVILÉGIO	A	(11) (21) Número: PI 8604172
(30) Prioridade unionista:		(22) Data do depósito: 01.09.86
(43) Data da publicação do pedido: (RPI) 03.05.88 (RPI 915) (45) Data da Publicação das reivindicações	(51) Int. Cl. ⁴ C 12 P 7/64 (54) Título: Processo microbiológico para obtenção de óleos e gorduras a partir de materiais açucarados	
(71) Depositante: Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - UNESP. (BR/SP) (72) Inventor(es): Dejanira de Franceschi de Angelis, Elza Maria Thomazini, Neuza Maria Miranda Savoy, Aparecido Osdimir Bertolin e Maria Antonia Pedrini Colabone Celligoi. (74) Procurador: Dejanira de Franceschi de Angelis - Rua 8,945-Centro-Rio Claro-SP	(80) Pedido Depositado via PCY - Referências. (85) Data do início da fase nacional: (86) Pedido internacional (87) Publicação Internacional: (81) Países designados: (82) Países eleitos: Comunicado pela RFI n.º de	
(23) Complementação da Garantia da Prioridade Data:	(62) Desdobramento (origem) No Data:	
(57) Resumo:		

Relatório Descritivo da Patente de Invenção: "PROCESSO MICROBIOLÓGICO PARA OBTENÇÃO DE ÓLEOS E GORDURAS, A PARTIR DE MATERIAIS AÇUCARADOS".

A presente invenção refere-se a um processo para cultivar leveduras não produtoras de etanol, em condições de aerobiose, para obtenção de óleos e gorduras a partir de materiais açucarados.

A exploração de microrganismos para produção de importantes produtos comerciais não é recente e o uso de leveduras, principalmente para produção de bebidas alcoólicas e para levedar o pão, data de épocas bíblicas.

As leveduras bem como os fungos filamentosos são capazes de produzir grandes quantidades de lipídios. O primeiro projeto de produção de gordura data de 1914/1918, quando a Alemanha as produziu em larga escala visando suprir o país com fonte de energia e alimento, empregando o fungo Endomycesvernalis (HESSE, 1949). Este projeto foi abandonado após a guerra, em virtude de seu alto custo e o trabalho de se obter tal material.

Entretanto, o mesmo projeto voltou a ser acionado durante a segunda guerra, só que utilizando Torula e Fusarium como produtores de gordura. Após a guerra, o projeto deixou de funcionar por ser considerado também antieconômico (WOODBINE, 1959).

Contudo o aumento da população bem como da industrialização, a diminuição das fontes de energia fósseis, suprimento de alimentos e vias de erradicar a poluição ambiental são problemas que preocupam os dirigentes de várias nações.

2004172

A tecnologia microbiana desenvolveu, após a segunda guerra, muitas técnicas de cultivo e industrialização dos microrganismos e destas, destacam-se a produção de antibióticos, proteína (Single-Cell-Protein), 5 ácido cítrico, ácido glutâmico, ácido acético, etanol, etc.

Todas essas novas técnicas, combinadas com a escassez e elevação do preço do petróleo e dos seus derivados, aumentam a possibilidade de obter óleo e 10 gorduras de fontes microbianas, em escalas comercialmente viáveis (RATLEDGE, 1982) Progress in Industrial Microbiology 16: 119 - 206.

A possibilidade para uso de lipídios microbianos pelo Brasil é promissora, bem como a industrialização da biomassa, para aliviar a carga de produtos 15 importados (GOLDEMBERG, 1978). Science (New York) 200: 158 - 164.

O maior interesse nos lipídios microbianos é obter triglicerídios, ácidos graxos derivados 20 dos acilgliceróis e esteróis.

Os lipídios têm sido empregados para fins tecnológicos de sabões, xampus, graxas lubrificantes, óleos, derivados químicos, farmacêuticos, etc. Por outro lado, os lipídios podem ser usados para fins alimentares quando purificados dos fosfolipídios e esteróis. 25 No caso de alimentos, necessita-se uma triagem toxicológica (RATLEDGE, 1978) Economic Microbiology. Primary Products of Metabolism 2: 263 - 302. Ac. Press. Segundo o autor, os problemas toxicológicos não são superiores aos 30 existentes nos óleos extraídos das plantas.

O conteúdo de lipídios e composição de ácidos graxos de muitos microrganismos tem sido investigado por muitos pesquisadores. Revisões sobre o assunto têm sido cuidadosamente efetuadas por RATLEDGE (1978), 35 WOODBINE (1959), WEETE (1980), RATLEDGE (1982) in ROSSIN MONTEIRO (1984) Thesis, University St Andrews. Engl.

HILLEN et al. (Biotechnol. and Bioengin. 23: 193 - 205, 1982) estudaram Botryococcus braunii e estabeleceram que, após o seu craqueamento, é possível sua utilização como derivado do petróleo e combustível de avião.

5 As leveduras têm despertado interesse para produção de lipídios devido sua habilidade de consumir carboidratos, rápido crescimento bem como capacidade de acumular 30 a 70% de lipídios.

10 As leveduras mostram-se mais interessantes que os fungos devido seu crescimento unicelular, deixando de apresentar certos inconvenientes como entupimento de turbinas e seu óleo contém alta concentração de ácidos graxos poliinsaturados.

15 Os lipídios extraídos da matéria oleagínosa, são normalmente complexas misturas que podem ser separadas em lipídios neutros e lipídios polares. Comumente, os lipídios neutros são triglicerídios, esteróis e ésteres de esteróis. Predominam entre os lipídios polares, os fosfolipídios e os glicolipídios e a proporção
20 existente em cada fração polar e neutra depende dos organismos e das condições de cultivo.

Os ácidos graxos são produzidos por todos os organismos vivos e, potencialmente, representam a mais abundante classe de lipídios da natureza. Os ácidos
25 graxos livres são escassos e na natureza, eles se apresentam normalmente, esterificados constituindo os tri, di e monoglicerídios, fosfolipídios e esteróis neutros.

Vários métodos podem ser usados para separar os lipídios das proteínas e outros componentes de
30 materiais biológicos. Para a extração dos lipídios de tecidos animais e vegetais, os processos requerem menos modificações. Entretanto, para extração dos materiais microbiológicos pode ser necessária mais alguma modificação para decidir qual o solvente e as condições, se áci-
35 da ou básica, além de algum aquecimento para dissolver melhor os lipídios das leveduras.

PEDERSEN (1961), Acta Chimica Scandinavica 15: 651 - 662, elaborou pesquisa empregando levedura cultivada em meio sintético e avaliou a extração dos lipídios na massa fresca e nas células secas, tratando as 5 células com ácido clorídrico 1,2N, durante 15 minutos. Outros autores empregaram modificações na extração, variando a concentração do ácido e o tempo de extração. (DEINEMA E LANDHEER (1956) (0,5% HCl, por 3 horas), STARKEY (1946) (2% HCl, por 4 horas)).

10 Entretanto, os processos utilizados por estes autores têm o inconveniente de apresentarem um alto custo processual, devido ao fato de empregarem meio de cultivo sintético. Além disso, quando é utilizado este tipo de material, é necessário acrescentar-se vitami-
15 nas e outros produtos químicos, na forma de compostos orgânicos ou sais inorgânicos a fim de propiciar um meio ideal para a cultura, o que dificulta a viabilidade econômica desses processos.

Várias outras tentativas foram feitas, objetivando melhorar a eficiência dos cultivos, dentre as 20 quais podemos citar: intensificação da aeração, cultivo em dois estágios, cultivos em cultura contínua, seleção genética. Porém, na prática, leveduras com possibilidades de crescerem em mostos econômicos e equipamentos simples, em tempos compatíveis com a economia, ainda não foram obtidas em esquemas de engenharia genética.

Para minimizar os inconvenientes acima descritos, foi desenvolvido um processo microbiológico para obtenção de óleos e gorduras, objeto da presente 30 invenção, que consiste basicamente em cultivar leveduras específicas, em condições de aerobiose, com posterior extração por solvente.

As leveduras empregadas foram classificadas em oleaginosas, cujos teores totais em lipídios 35 ficam em torno de 15% do seu peso seco. Dados da literatura com freqüência reportam valores superiores a 50%,

quando as células são cultivadas em condições ideais para acumularem as gorduras em seus citosóis.

No presente processo é importante que as células se multipliquem, porém, que a partir de certo momento seu metabolismo seja apenas o de assimilar os açúcaros e transformá-los em óleos, cuidando-se para que as lipases não os destruam.

De acordo com a presente invenção, a utilização de leveduras não fermentativas, compostas de espécies já consideradas oleaginosas ou outras que poderão ser obtidas por meio de melhoramento genético e a forma de cultivo, em condições de aerobiose para se obter a biomassa traduzem-se, em termos práticos, na conversão do açúcar em biomassa oleaginosa. Este processo, mostra-se mais econômico que a exploração do metabolismo fermentativo. Pela equação da fermentação etanólica 180gr de açúcar produzem 92gr de etanol e 88gr de CO₂ e pela equação do metabolismo oxidativo as perdas são mínimas, quando o cultivo processa-se em condições otimizadas.

Dentre as leveduras que podem ser empregadas no presente processo, pela facilidade de crescimento em meios pouco onerosos e às vezes residuais ou hidrolisados de materiais estruturais ou de reserva, destacam-se:

- Rhodotorula nas seguintes espécies: Rh. mucilaginosa, Rh. glutinis, Rh. aurantica, Rh. rubra, R. flava, R. minuta e R. saniei.

- Candida nas seguintes espécies: C. utilis, C. robusta, C. guilliermondii, C. lipolytica, C. albicans, C. japonica, C. javanica, C. parapsilosis, C. pseudotropicalis, C. rugosa, C. vartiovaarai, C. tropicalis.

- Hansenula nas seguintes espécies: H. anomala, H. californica, H. capsulata, H. silvícola.

- Lipomyces nas seguintes espécies: L. lipofer, L. kononenkoae, L. starkey, L. tetrasporus.

2004172

- Saccharomyces nas seguintes espécies: S. cerevisiae, S. carlsbergensis, S. bayanus, S. bailii, S. chevalieri, S. drosophilarum, S. diastaticus, S. oleaginous, S. uvarum, S. vini, S. rouxii, S. sake.

5 - Schizosacharomyces nas seguintes espécies: Sch. liquefaciens, Sch. pombe, Sch. versatilis.

- Torula nas seguintes espécies: T. utilis, T. glutinis, T. miniata, T. lactosa, T. rubra e T. kefir.

10 - Pichia nas seguintes espécies: P. membranaefaciens, P. saiti, P. saccharophila, P. stiptis, P. terricola.

A matéria-prima, compreendida por melão, mostos açucarados, hidrolisados de cereais, tubérculos e raízes ou de madeira, é diluída com água, a temperatura ambiente, até atingir um Brix entre 5° a 25°, preferencialmente de 12° a 15°, sendo a concentração ideal ajustada de acordo com a natureza da matéria-prima e das espécies microbianas a serem empregadas.

20 Quando necessário, acrescenta-se à matéria-prima, micronutrientes que podem ser orgânicos ou inorgânicos, dependendo da levedura a ser utilizada. Após diluição da matéria-prima a solução é pasteurizada para eliminar possíveis contaminantes.

25 A solução é adicionada uma cultura de leveduras em quantidades que variam de 10 a 50% do volume da solução. Para início dos cultivos o pH deve ser ajustado ao redor de 4, permanecendo em uma faixa compatível com cada espécie aplicada, geralmente até 5,5 e a uma temperatura que varia entre 20 a 38°C.

35 Ao término da reserva glicosídica da matéria-prima e aguardada a maturação celular, cujo controle é feito através do consumo de Açúcares Redutores Totais - ART e leva de 8 a 20 horas para se completar, a cultura é centrifugada, floculada ou decantada.

A centrifugação da solução é realiza-

da em torno de 3000 a 5000 r.p.m., por cerca de cinco minutos e a floculação, quando empregada, é feita através de agentes floculantes tais como polímeros orgânicos ou sais inorgânicos, em especial, a alumina, durante 10 a 60 5 minutos.

Após a etapa de centrifugação ou floculação, a biomassa em forma de pasta é submetida a extração com um solvente adequado, podendo-se proceder a uma pré-hidrólise ácida ou alcalina, para facilitar a penetração do solvente. Para hidrólise ácida adiciona-se à 10 biomassa, ácido sulfúrico ou ácido clorídrico até que a mesma atinja a um pH entre 2 a 2,5 e para hidrólise alcalina, adiciona-se hidróxido de sódio ou de potássio até atingir um pH entre 8 a 10.

15 A extração é realizada a uma temperatura entre 20 a 80°C podendo ser superior dependendo do solvente empregado. A proporção de solvente para biomassa é de 5 a 10: 1. Os solventes empregados para extração de óleo são:

20 frações do petróleo (gasolina, éter de petróleo, pentanas, metil-pentanas, hexano, heptano, ciclohexano); alcanos (n-propano, n-butano, n-pentano, isopentano, n-hexano, isohexano, n-heptano, cicloparafinas, ciclopentano, ciclohexano); hidrocarbonetos aromáticos (benzeno, tolueno e mistura de xilenos); hidrocarbonetos halogenados (diclorometano, cloreto de etila, clorofórmio, tetracloreto de carbono, 1-2 dicloroetano; 1-2 dicloroetileno; 1-1-1 25 tricloroetano, 1-2-2 tricloroetileno; 1,1,2,2, tetracloroetileno; 1,2-dicloropropano, brometo de n-butil); álcoois (metanol, etanol, n-propanol, isopropanol, n-butanol, isobutanol, álcool alquílico, álcool furfurílico); aldeídos (furfural); cetonas (acetona, metil-etil-cetona); ésteres (metil-acetato; etil-acetato); éteres (éter etílico, éter isopropílico, dioxana, éter monometílico de 30 etileno glicol, éter monoetílico de etileno glicol); amí- nas (etanolamina, butilamina, trietilamina, piridina);

3804172

outros solventes (dissulfeto de carbono); misturas de sol-
ventes (Hexano: ácido acético (96:4); hexano:metanol(45:
25); hexano-etanol (79:21); hexano:isopropanol (77:23);
hexano:álcool alquílico (95:5); hidrocarboneto aromáti-
5 co:etanol (90:10); etanol:água (96:4); isopropanol:água
(87,7:12,3); metanol: tricloroetileno (75:25); etanol:tri
cloroetileno (75:25); acetona:água (90:10); acetona:hexa
no:água (54:44:2)).

Dentre os solventes acima descritos
10 são usados, preferencialmente, metanol, hexano, clorofór
mio, tricloroetileno, aminas e as misturas de solventes.

Ao final da extração a massa protéica
está completamente separada do óleo e, o solvente nele
contido é evaporado a uma temperatura compatível com seu
15 ponto de ebulição podendo ocorrer em condições de pres
são reduzida.

O processo apresenta um rendimento de
30 a 60% e o óleo, por ele obtido, pode ser aplicado co
mo combustível ou na química fina para: extração dos tri
20 glicerídios, aplicáveis em alguns segmentos da metalur
gia, farmácia e química fina. Em alimentos os triglicerí
des poderão ser aplicados mediante a extração de fosfoli
pídios e de esteróis. Os fosfolipídios e os esteróis tem
grande aplicabilidade em medicamentos. A massa protéica,
25 obtida como sub-produto, pode ser empregada como ração a
nimal, para extração de vitaminas e para obtenção de hi
drolisados de leveduras para enriquecimento alimentar.

A presente invenção aplica-se a pro
cessos descontínuos, semi-contínuos ou contínuos com re
30 cuperação de células por centrifugação e/ou floculação.

Para melhor entendimento da presente
invenção, foram realizados experimentos em laboratório,
cujos resultados encontram-se na Tabela 1.

3804172

5 Tabela 1 - Produção de biomassa oleaginosa e protéica de 10 mutantes bioquímicos e da levedura Rhodotorula mucilaginosa, obtidos após cultivo em meio de melaço 10% ART enriquecido, durante 20 horas, 280 r.p.m., temperatura $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

	Mutantes bioquímicos	Biomassa g/l	Conteúdo lipídico %	Teor protéico %
10	1	9,04	16,48	43,60
	6	9,14	33,77	42,00
	9	8,14	21,70	40,53
15	10	7,79	16,48	42,87
	11	7,33	23,03	44,76
	A	8,85	17,09	41,43
	D	9,38	26,25	45,37
20	H	6,47	26,31	45,18
	I	8,35	26,07	44,56
	K	8,16	26,07	48,12
25	*	7,76	17,37	47,68

* Rh. mucilaginosa

30 As análises dos ácidos graxos saturados e insaturados contidos na fração lipídica encontram-se nas Tabelas 2 e 3.

2804172

5 Tabela 2 - Conteúdo lipídico dosado pelo método de FRINGS & DUNN (1970) e dos ácidos graxos saturados analisados através de cromatografia de gás da Rhodotorula mucilaginosa e de dez mutantes bioquímicos, quando cultivados em melaço 10% de ART enriquecido.

10	Mutantes bioquímicos	Conteúdo lipídico (%)	ácidos graxos saturados:			
			C14	C16	C18	C22
15	1	16,48	tr	13,8	7,9	-
	6	32,93	0,4	15,1	5,4	tr
	9	21,70	0,5	17,3	10,1	0,8
	10	16,48	tr	11,1	5,9	tr
20	11	23,03	0,4	14,7	5,6	0,4
	A	17,09	0,2	10,7	4,3	0,4
	D	26,25	0,3	12,3	3,7	0,2
	H	26,31	tr	13,8	4,5	-
25	i	26,07	0,3	13,3	4,2	0,3
	K	26,07	-	10,5	5,2	-
	*	17,09	0,3	11,6	7,5	0,6

30 * Rh. mucilaginosa

3804172

5 Tabela 3 - Conteúdo lipídico dosado pelo método de FRINGS & DUNN (1970) e dos ácidos graxos insaturados analisados através de cromatografia de gás da Rhodotorula mucilaginosa e de dez mutantes bioquímicos, quando cultivados em melaço 10% de ART enriquecido.

10	Mutantes bioquímicos	Conteúdo lipídico (%)	ácidos graxos insaturados:			
			C16:1	C18:1	C18:2	C18:3
15	1	16,48	-	73,7	3,7	0,9
	6	32,93	0,4	70,3	7,1	1,3
	9	21,70	0,2	63,0	4,1	0,8
	10	16,48	-	74,7	5,4	1,1
20	11	23,03	0,4	70,8	5,3	0,9
	A	17,09	0,5	75,4	5,2	1,2
	D	26,25	0,2	73,1	7,8	1,0
	H	26,31	1,0	72,6	6,6	1,1
25	i	26,07	0,4	71,6	7,6	1,0
	K	26,07	-	79,8	3,5	1,0
	*	17,09	0,3	72,8	5,4	0,8

30 * Rh. mucilaginosa

O uso de microrganismos para produção de produtos de interesse comercial tem as seguintes vantagens:

35 - rápido crescimento, pois as populações de leveduras do-
bram seu número em um tempo relativamente curto, ou se

3804172

- ja, entre 1 e 3 horas;
- necessita de uma área relativamente pequena para execu_
 - ção do processo;
 - utiliza matéria-prima facilmente à disposição;
 - 5 - melhor controle das condições de cultivo (independe de
 - intempéries climáticas) o que não ocorre com as outras
 - culturas (soja, milho, algodão, etc...).

O processo, ora descrito, além das van
tagens acima, é viável economicamente e seu produto fi-
10 nal é de grande aplicabilidade industrial, principalmen-
te, como combustível e na química fina.

REIVINDICAÇÕES

- 1 - PROCESSO MICROBIOLÓGICO PARA OBTENÇÃO DE ÓLEOS E GORDURAS, A PARTIR DE MATERIAIS AÇUCARADOS, caracterizado por consistir das seguintes etapas:
- 5 a) diluição da matéria-prima com água, a temperatura ambiente, até atingir um Brix entre 5° a 25°, quando estiver concentrada;
- b) pasteurização da solução para eliminar possíveis contaminantes;
- 10 c) adição à solução de uma cultura de leveduras de Rhodotorula, Candida, Hansenula, Lipomyces, Saccharomyces, Schizosacharomyces, Torula ou Pichia em quantidade que variam de 10 a 50% do volume da solução, a um pH entre 4 a 5,5 e a uma temperatura entre 20 a 38°C;
- 15 d) maturação durante 8 a 20 horas, controlada através do consumo de Açúcares Redutores Totais;
- e) centrifugação, floculação ou decantação da solução;
- f) extração da biomassa com solvente
- 20 a uma temperatura entre 20 a 80°C, numa proporção de solvente para biomassa de 5 a 10:1;
- g) evaporação do solvente a uma temperatura compatível com seu ponto de ebulição, em condições de pressão reduzida.
- 25 2 - PROCESSO MICROBIOLÓGICO PARA OBTENÇÃO DE ÓLEOS E GORDURAS, A PARTIR DE MATERIAIS AÇUCARADOS, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato da matéria-prima ser compreendida por melão, mostos açucarados, hidrolisados de tubérculos, raízes e cereais
- 30 ou de madeira.

3 - PROCESSO MICROBIOLÓGICO PARA OBTENÇÃO DE ÓLEOS E GORDURAS, A PARTIR DE MATERIAIS AÇUCARADOS, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por se fazer a diluição até a um Brix entre 12° a 15° preferencialmente.

4 - PROCESSO MICROBIOLÓGICO PARA OBTENÇÃO DE ÓLEOS E GORDURAS, A PARTIR DE MATERIAIS AÇUCARADOS, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por se adicionar à solução, micronutrientes orgânicos ou inorgânicos.

5 - PROCESSO MICROBIOLÓGICO PARA OBTENÇÃO DE ÓLEOS E GORDURAS, A PARTIR DE MATERIAIS AÇUCARADOS, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por ser a levedura Rhodotorula nas espécies Rh. mucilaginosa, Rh. glutinis, Rh. aurantica, Rh. rubra, R. flava, R. minuta e R. saniei.

6 - PROCESSO MICROBIOLÓGICO PARA OBTENÇÃO DE ÓLEOS E GORDURAS, A PARTIR DE MATERIAIS AÇUCARADOS, de acordo com a reivindicação 1 ou 5, caracterizado por ser a levedura, preferencialmente, Rhodotorula mucilaginosa.

7 - PROCESSO MICROBIOLÓGICO PARA OBTENÇÃO DE ÓLEOS E GORDURAS, A PARTIR DE MATERIAIS AÇUCARADOS, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por ser a levedura Candida nas espécies C. utilis, C. tropicalis, C. robusta, C. guilliermondii, C. lipolytica, C. albicans, C. japonica, C. javanica, C. parapsilosis, C. pseudotropicalis, C. rugosa, C. vartiovaarae.

8 - PROCESSO MICROBIOLÓGICO PARA OBTENÇÃO DE ÓLEOS E GORDURAS, A PARTIR DE MATERIAIS AÇUCARADOS, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por ser a levedura Hansenula nas espécies H. anomala, H. californica, H. capsulata, H. silvicola.

9 - PROCESSO MICROBIOLÓGICO PARA OBTENÇÃO DE ÓLEOS E GORDURAS, A PARTIR DE MATERIAIS AÇUCARADOS,

2004172

RADOS, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por ser a levedura Lipomyces nas espécies L. lipofer, L. kononenkoae, L. starkey, L. tetrasporus.

10 - PROCESSO MICROBIOLÓGICO PARA OBTENÇÃO DE ÓLEOS E GORDURAS, A PARTIR DE MATERIAIS AÇUCARADOS, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por ser a levedura Saccharomyces nas espécies S. cerevisiae, S. carlsbergensis, S. bayanus, S. bailii, S. chevalieri, S. drosophilarum, S. diastaticus, S. oleaginous, S. uvarum, S. vini, S. rouxii, S. sake.

11 - PROCESSO MICROBIOLÓGICO PARA OBTENÇÃO DE ÓLEOS E GORDURAS, A PARTIR DE MATERIAIS AÇUCARADOS, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por ser a levedura Schizosacharomyces nas espécies Sch. liuefaciens, Sch. pombe, Sch. versatilis.

12 - PROCESSO MICROBIOLÓGICO PARA OBTENÇÃO DE ÓLEOS E GORDURAS, A PARTIR DE MATERIAIS AÇUCARADOS, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por ser a levedura Torula nas espécies T. utilis, T. glutinis, T. miniata, T. lactosa, T. rubra e T. kefir.

13 - PROCESSO MICROBIOLÓGICO PARA OBTENÇÃO DE ÓLEOS E GORDURAS, A PARTIR DE MATERIAIS AÇUCARADOS, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por ser a levedura Pichia nas espécies P. membranaefaciens, P. saiti, P. saccharophila, P. stiptis, P. terricola.

14 - PROCESSO MICROBIOLÓGICO PARA OBTENÇÃO DE ÓLEOS E GORDURAS, A PARTIR DE MATERIAIS AÇUCARADOS, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por ser a centrifugação realizada em torno de 3000 a 5000rpm, por cerca de cinco minutos.

15 - PROCESSO MICROBIOLÓGICO PARA OBTENÇÃO DE ÓLEOS E GORDURAS, A PARTIR DE MATERIAIS AÇUCARADOS, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por ser a floculação realizada através de agentes floculantes, como polímeros orgânicos ou sais inorgânicos, em especial, a alumina, durante 10 a 60 minutos.

16 - PROCESSO MICROBIOLÓGICO PARA OBTENÇÃO DE ÓLEOS E GORDURAS, A PARTIR DE MATERIAIS AÇUCARADOS, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por ser o solvente empregado um composto de frações de petróleo, alcanos, hidrocarbonetos aromáticos, hidrocarbonetos halogenados, alcóois, aldeídos, cetonas, ésteres, éteres, aminas, outros solventes ou mistura de solventes.

17 - PROCESSO MICROBIOLÓGICO PARA OBTENÇÃO DE ÓLEOS E GORDURAS, A PARTIR DE MATERIAIS AÇUCARADOS, de acordo com a reivindicação 1 ou 14, caracterizado por ser o solvente, preferencialmente, metanol, hexano, clorofórmio, aminas ou misturas de solventes.

18 - PROCESSO MICROBIOLÓGICO PARA OBTENÇÃO DE ÓLEOS E GORDURAS, A PARTIR DE MATERIAIS AÇUCARADOS, de acordo com a reivindicação 16, caracterizado por se fazer uma pré-hidrólise ácida ou alcalina para facilitar a penetração do solvente durante a extração.

19 - PROCESSO MICROBIOLÓGICO PARA OBTENÇÃO DE ÓLEOS E GORDURAS, A PARTIR DE MATERIAIS AÇUCARADOS, de acordo com a reivindicação 18, caracterizado por se adicionar à biomassa na pré-hidrólise, ácido sulfúrico ou ácido clorídico até que a mesma atinja a um pH entre 2 a 2,5.

20 - PROCESSO MICROBIOLÓGICO PARA OBTENÇÃO DE ÓLEOS E GORDURAS, A PARTIR DE MATERIAIS AÇUCARADOS, de acordo com a reivindicação 18, caracterizado por se adicionar à biomassa na pré-hidrólise, hidróxido de sódio ou potássio até que a mesma atinja a um pH entre 8 a 10.

RESUMO

Patente de Invenção: "PROCESSO MICROBIOLÓGICO PARA OBTENÇÃO DE ÓLEOS E GORDURAS, A PARTIR DE MATERIAIS AÇUCARADOS".

5 A presente invenção refere-se a um processo para cultivo de levedura não produtora de etanol, em materiais açucarados, em condições de aerobiose.

O processo consiste das seguintes etapas:

10 a) diluição da matéria-prima com água, a temperatura ambiente, até atingir um Brix entre 5° a 25°;

b) pasteurização da solução para eliminar possíveis contaminantes;

15 c) adição à solução de uma cultura de leveduras de Rhodotorula, Candida, Hansenula, Lipomyces, Saccharomyces, Schizosacharomyces, Torula ou Pichia em quantidades que variam de 10 a 50% do volume da solução, a um pH entre 4 a 5,5 e a uma temperatura entre 20 a 38°C;

20 d) maturação durante 8 a 20 horas, controlada através do consumo de Açúcares Redutores Totais;

e) centrifugação, floculação e decantação da solução;

f) extração da biomassa com solvente a uma temperatura entre 20 a 80°C, numa proporção de solvente para biomassa de 5 a 10:1;

g) evaporação do solvente a uma temperatura compatível com seu ponto de ebulição, em condições de pressão reduzida.