



Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2017 004803 9

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 2

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JULIO DE MESQUITA FILHO

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 48031918000124

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: Rua Quirino de Andrade, 215

Cidade: São Paulo

Estado: SP

CEP: 01049-010

País: Brasil

Telefone: 11 56270217

Fax: 11 56270103

Email: auin@unesp.br

Nome ou Razão Social: INSTITUTO DE PESCA DO ESTADO DE SÃO PAULO

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 46384400003083

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Órgao Público

Endereço: Av Francisco Matarazzo, 455, Água Branca

Cidade: São Paulo

Estado: SP

CEP: 05001-900

País: BRASIL

Telefone: (11) 387 17537

Fax:

Email: cecomip@pesca.sp.gov.br

Dados do Pedido

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54): PROCESSO DE OBTENÇÃO DE HIDROLISADO DE GLICOSE, HIDROLISADO DE GLICOSE E USO DO MESMO

Resumo: A presente invenção refere-se ao processo de obtenção de um hidrolisado rico em glicose a partir do resíduo gerado no processamento de carragena. O processamento de carragena a partir de macroalgas vermelhas (principalmente *K. alvarezii*) leva a formação de um resíduo rico em glucanas. Esse resíduo não é recalcitrante como no caso do bagaço de cana de açúcar, sendo hidrolisado 100% a glicose a partir de celulasas comerciais, sem haver produção de qualquer tipo de inibidor de microrganismos. A glicose na forma de um hidrolisado pode ser útil para produzir diversos bioprodutos.

Figura a publicar: 1

Dados do Procurador

Procurador:

Nome ou Razão Social: Fabíola de Moraes Spiandorello

Numero OAB: 244141SP

Numero API:

CPF/CNPJ: 13521027813

Endereço: Rua Faustina Barbosa Stackfleth, 149, Parque Centenário

Cidade: Jundiaí

Estado: SP

CEP: 13214-773

Telefone: (11) 992340347

Fax:

Email: spianfm@terra.com.br

Dados do Inventor (72)

Inventor 1 de 6

Nome: FERNANDO MASARIN

CPF: 28153027808

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Professor do ensino superior

Endereço: Rod Araraquara Jaú, km 1, Câmpus Ville

Cidade: Araraquara

Estado: SP

CEP: 14800-903

País: BRASIL

Telefone: (11) 339 37901

Fax:

Email: auin@unesp.br

Inventor 2 de 6

Nome: FERNANDO ROBERTO PAZ CEDENO

CPF: 23700282893

Nacionalidade: Equatoriana

Qualificação Física: Engenheiro, arquiteto e afins

Endereço: Rod Araraquara Jaú, km 1, Câmpus Ville

Cidade: Araraquara

Estado: SP

CEP: 14800-903

País: BRASIL

Telefone: (11) 339 37901

Fax:

Email: auin@unesp.br

Inventor 3 de 6

Nome: LEVI EZEQUIEL DE OLIVEIRA

CPF: 30376184850

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Pesquisador

Endereço: Av Francisco Matarazzo, 455, Parque da Água Branca

Cidade: São Paulo

Estado: SP

CEP: 05001-970

País: BRASIL

Telefone: (11) 339 37901

Fax:

Email: auin@unesp.br

Inventor 4 de 6

Nome: VALÉRIA CRESS GELLI

CPF: 52664325000

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Pesquisador

Endereço: Av Francisco Matarazzo, 455, Parque da Água Branca

Cidade: São Paulo

Estado: SP

CEP: 05001-970

País: BRASIL

Telefone: (11) 339 37901

Fax:

Email: auin@unesp.br

Inventor 5 de 6

Nome: EDDYN GABRIEL SOLORZANO CHAVEZ

CPF: 23796676839

Nacionalidade: Equatoriana

Qualificação Física: Engenheiro, arquiteto e afins

Endereço: Rod Araraquara Jaú, km 1, Câmpus Ville

Cidade: Araraquara

Estado: SP

CEP: 14800-903

País: BRASIL

Telefone: (11) 339 37901

Fax:

Email: auin@unesp.br

Inventor 6 de 6

Nome: RUBENS MONTI

CPF: 98207202815

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Professor do ensino superior

Endereço: Rod Araraquara Jaú, km 1, Câmpus Ville

Cidade: Araraquara

Estado: SP

CEP: 14800-903

País: BRASIL

Telefone: (11) 339 37901

Fax:

Email: auin@unesp.br

Documentos anexados

Tipo Anexo	Nome
Comprovante de pagamento de GRU 200	16AUIN047 - Hidrolisado Glicose Carragena - GRU.pdf
Procuração	PROCURACAO UNESP LEOPOLDO-FABIOLA 2017.pdf
Portaria	DOESP_Nomeacao_Valentini_Nobre.pdf
Procuração	16AUIN047 - Hidrolisado Glicose Carragena - Procuracao IPSP.pdf
Portaria	16AUIN047 - Hidrolisado Glicose Carragena - Nomeacao Ayroza.pdf
Relatório Descritivo	16AUIN047 - Hidrolisado Glicose Carragena - Relatorio Descritivo.pdf
Reivindicação	16AUIN047 - Hidrolisado Glicose Carragena - Reivindicacoes.pdf
Desenho	16AUIN047 - Hidrolisado Glicose Carragena - Figuras.pdf
Resumo	16AUIN047 - Hidrolisado Glicose Carragena - Resumo.pdf

Acesso ao Patrimônio Genético

- ☒ Declaração Negativa de Acesso - Declaro que o objeto do presente pedido de patente de invenção não foi obtido em decorrência de acesso à amostra de componente do Patrimônio Genético Brasileiro, o acesso foi realizado antes de 30 de junho de 2000, ou não se aplica.

Declaração de veracidade

- ☒ Declaro, sob as penas da lei, que todas as informações acima prestadas são completas e verdadeiras.

FUNDAÇÃO PARA O DESENVOLVIMENTO DA UNESP Agência: 0239 Conta Corrente: 13-002549-6

DETALHE DO COMPROMISSO			
Convênio:	0033-0239-004900019792	Conta de Débito:	0239-000100027340
Tipo do Documento:		CPF/CNPJ do Fornecedor:	
Nome do Fornecedor:	000009853INPI - INST. NACIONAL		
No. compromisso banco:	1024121000100012	No. compromisso cliente:	970592/DS1 1011
Tipo de Pagamento:	BLQ Outros		
Código de Barras:	00199536371000002216909705925213100000000007000		
Valor Nominal:	70,00		
Desc./Abat.:	0,00	Juros:	0,00
Data de Vencimento:	20/12/2016		
Data de Pagamento:	20/12/2016		
Situação:	Efetivado		
No. Lista de Débito:		No. Protocolo:	PGTFORNE20122016900117257
Autenticação:	11CBC4E1E7A1DD591134B94		

Valor a Pagar: 70,00**Central de Atendimento
Santander Empresarial**4004-2125 (Regiões Metropolitanas)
0800 726 2125 (Demais Localidades)SAC 0800 762 7777
Ouvidoria 0800 726 0322

BANCO DO BRASIL		001-9		RECIBO DO SACADO	
Local de Pagamento					Vencimento
Pagável em qualquer Banco					Contra-apresentação
Cedente					Agência/Código Cedente
INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial					2234-9/333.028-1
Data do Documento	Nº. documento	Espécie doc.	Aceite	Data Proces.	Nosso Número
01/12/2016	1609705925	RC	N	01/12/2016	00.000.2.2.16.0970592.5
Uso Banco	Carteira	Espécie	Quantidade	Valor	(-) Valor Documento
	18/027	R\$			R\$ 70,00
Número: NN Complementar: Peticionamento: Eletrônico					(-) Desconto/Abatimento
Natureza: 10 - Patente de					(-) Outras deduções
Cod Serviço Petição Vinculada RPI Valor					(+) Mora/Multa
200 - Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT - - R\$ 70,00					(+) Outros Acréscimos
OAB: 235031SP Procurador: Leopoldo Campos Zuaneti					(-) Valor Cobrado
Governo Federal - Guia de Recolhimento da União. GRU - Cobrança					R\$ 70,00
Sacado					
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JULIO DE MESQUITA FILHO					
Rua Quirino de Andrade, 215, São Paulo, BR/SP, 01049-010					
Sacador/Avalista					
Corte na linha pontilhada					Autenticação mecânica - Controle Cedente

BANCO DO BRASIL		001-9		00199.53637 10000.022169 09705.925213 1 000000000007000	
Local de Pagamento					Vencimento
Pagável em qualquer Banco					Contra-apresentação
Cedente					Agência/Código Cedente
INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial					2234-9/333.028-1
Data do Documento	Nº. documento	Espécie doc.	Aceite	Data Proces.	Nosso Número
01/12/2016	1609705925	RC	N	01/12/2016	00.000.2.2.16.0970592.5
Uso Banco	Carteira	Espécie	Quantidade	Valor	(-) Valor Documento
	18/027	R\$			R\$ 70,00
Instruções:					(-) Desconto/Abatimento
1. Valores expressos em reais.					(-) Outras deduções
2. Pagamento em cheque, anotar no verso o 'Nosso Número'.					(+) Mora/Multa
3. Pagamento via SIAFI(OB-FATURA): Identificar na 'ob' o 'Nosso Número'.					(+) Outros Acréscimos
4. Vencimento contra apresentação.					(-) Valor Cobrado
OAB: 235031SP Procurador: Leopoldo Campos Zuaneti					R\$ 70,00
Governo Federal - Guia de Recolhimento da União. GRU - Cobrança					
Sacado					
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JULIO DE MESQUITA FILHO					
Rua Quirino de Andrade, 215, São Paulo, BR/SP, 01049-010					
Sacador/Avalista					Autenticação mecânica - Ficha de Compensação
Corte na linha pontilhada					

- GRU ÚNICA: a GRU apresentada ao INPI, como comprovante da retribuição, deve ser única. Não utilize cópias desta GRU para outro pagamento. - PAGAMENTO: o pagamento da GRU deve ser providenciado no PRAZO ADMINISTRATIVO, regulamentado em lei ou Ato Normativo próprio.

PROCURAÇÃO

Por este instrumento, a **UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JULIO DE MESQUITA FILHO"**, autarquia estadual de regime especial, criada pela Lei nº 952 de 30/01/1976, com sede na Rua Quirino de Andrade, nº 215, Centro, CEP 01049-010, São Paulo/SP, inscrita no CNPJ do MF sob o nº 48.031.918/0001-24, doravante designada simplesmente **UNESP**, neste ato representada por seu Magnífico Reitor, de acordo com o Art. 34 de seu Estatuto, Prof. Dr. **SANDRO ROBERTO VALENTINI**, brasileiro, solteiro, professor universitário, portador do RG nº 10.289.419-X SSP/SP, inscrito no CPF/MF sob o nº 083.891.058-02, ou quem legalmente o substitua, nomeia e constitui seus procuradores, **1) LEOPOLDO CAMPOS ZUANETI**, brasileiro, advogado, devidamente inscrito na Ordem dos Advogados do Brasil Seção de São Paulo sob o número 235.031; e **2) FABIÓLA DE MORAES SPIANDORELLO**, brasileira, advogada, devidamente inscrita na Ordem dos Advogados do Brasil Seção de São Paulo, Subseção de Jundiaí sob o número 244.141, ambos lotados junto à Agência UNESP de Inovação, outorgando-lhes poderes para representá-la perante o Instituto Nacional da Propriedade Industrial – INPI, para o fim de requerer e processar direitos de propriedade intelectual, tais como patentes de invenção, de modelos de utilidade, desenhos industriais, registros de marcas de produto, de serviço, coletivas ou de certificação, de indicações geográficas, cultivares, direitos de autor, de programas de computador e mantê-los em vigor com amplos e ilimitados poderes para assinar petições, autorizações para cópia, termos de cessão de direitos, acordos de gestão e compartilhamento de propriedade intelectual, documentos diversos relacionados ao processo administrativo de proteção de direitos de propriedade industrial, incluindo, mas não se limitando, aos documentos já utilizados pelo INPI, bem como àqueles que vierem a ser adotados e utilizados para instrução processual de patentes, modelos de utilidades, marcas, desenhos industriais e programas de computador, pagar taxas, retribuições, impostos, fazer prova de uso das invenções patenteadas ou das marcas registradas, efetuar pagamentos e receber restituições, dando as respectivas quitações, apresentar oposições, recursos, réplicas, desistir, renunciar, anotar, averbar contratos de licença e transferências de tecnologia, elaborar notificações extrajudiciais, requerer prorrogação dos prazos de proteção, fazer declarações, opor, protestar, impugnar, recorrer, pedir reconsideração, manifestar-se sobre oposições e recursos, obter vista de processos, cumprir exigências, apresentar defesas escritas ou orais, desistir, replicar, transigir, receber, juntar e retirar documentos, requerer caducidade e contestar pedido de caducidade, requerer e contestar nulidade administrativa e licença compulsória, preencher qualquer tipo de formalidade, requerer anotação e averbação de cessão, alterações de nome e de sede, proceder à publicação de editais de chamamento para instruir, elaborar, firmar e acompanhar contratos de transferência de tecnologia e/ou licenciamento com exclusividade ou não, e praticar para o fim mencionado todos os atos necessários perante as autoridades administrativas competentes no Brasil em benefício da Outorgante.

Este instrumento é válido até 31 de janeiro de 2018.

São Paulo, 24 de janeiro de 2017.

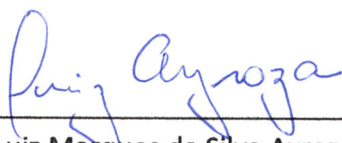


SANDRO ROBERTO VALENTINI,
REITOR

PROCURAÇÃO

Por este instrumento particular de Procuração e na melhor forma de direito, o INSTITUTO DE PESCA DO ESTADO DE SÃO PAULO, órgão da AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS – APTA, da SECRETARIA DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO DO ESTADO DE SÃO PAULO, com sede na Avenida Francisco Matarazzo, 455, Água Branca, São Paulo (SP), CEP 05001-900, inscrito no CNPJ sob nº 46.384.400/0030-83, neste ato representado por seu Diretor Técnico de Departamento, Dr. Luiz Marques da Silva Ayroza, portador da Cédula de Identidade R.G. nº 10.226.632-5 e inscrito no C.P.F. sob nº 040.369.238-54, ou quem legalmente o substitua, nomeia e constitui como sua bastante procuradora a **UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO” – UNESP**, autarquia estadual de regime especial, criada pela Lei nº 952 de 30.01.1976, com sede na Rua Quirino de Andrade, nº 215, Centro, São Paulo (SP), CEP 01.049-010, inscrita no CNPJ sob nº 48.031.918/0001-24, neste ato representada nos termos de seu Estatuto por seu Magnífico Reitor, **Prof. Dr. Sandro Roberto Valentini**, ou quem legalmente o substitua, outorgando-lhe poderes para, por meio de seus representantes legais ou a quem estes substabelecerem, representá-la perante o Instituto Nacional da Propriedade Industrial – INPI, para o fim de requerer e processar direitos de propriedade intelectual, tais como patentes de invenção, de modelos de utilidade, desenhos industriais, registros de marcas de produto, de serviço; coletivas ou de certificação, de indicações geográficas, direitos do autor, de software e mantê-los em vigor com amplos e ilimitados poderes para assinar petições e documentos, pagar taxas, fazer prova de uso das invenções patenteadas ou das marcas registradas, apresentar oposições, recursos, réplicas, desistir, renunciar, anotar, dar quitação, averbar contratos de licença e transferências de tecnologia, elaborar notificações extrajudiciais, proceder à publicação de extratos da oferta tecnológica, instruir, elaborar, firmar e acompanhar contratos de transferência de tecnologia e/ou de licenciamento com exclusividade ou não, e praticar para os fins mencionados todos os atos necessários perante as autoridades administrativas competentes no Brasil, em benefício da Outorgante, especialmente para o depósito e manutenção do pedido de patente intitulado **“PROCESSO DE OBTENÇÃO DE HIDROLISADO DE GLICOSE, HIDROLISADO DE GLICOSE E USO DO MESMO”**.

São Paulo, 30 de Janeiro de 2017.



Dr. Luiz Marques da Silva Ayroza
Diretor Técnico de Departamento

AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS – APTA

INSTITUTO DE PESCA

PUBLICAÇÃO DO DIÁRIO OFICIAL

27 /

10 /

2015

SEÇÃO

II

PÁGINA

51

Agricultura e Abastecimento

GABINETE DO SECRETÁRIO

Resoluções de 26-10-2015

Cessando, os efeitos das Resoluções adiante mencionadas, que designaram os servidores abaixo identificados, para exercerem as funções a seguir indicadas, em unidades da Apta, retribuídas mediante gratificação pro-labore, ficando, em consequência, cessada a gratificação de representação inerente a função:

Res. SAA de 23, pub. a 24-1-02, Edison Kubo, RG 5.415.306-2, Pesquisador Científico IV, Ref. PqC-4, efetivo - Diretor Técnico de Departamento, do IP;

Res. SAA de 27, pub. a 28-5-10, Luiz Marques da Silva Ayrosa, RG 10.266.632-5, Pesquisador Científico VI, Ref. PqC-6, efetiva - Diretor Técnico de Serviço, do NPD, do PRDTA do Médio Paranapanema, do DDD.

Designando, tendo em vista a Deliberação Normativa CPRTI 2/96 e nos termos do art. 12, da LC 125/75, com redação dada pelo art. 4º, da LC 727-93, Luiz Marques da Silva Ayrosa, RG 10.266.632-5, Pesquisador Científico VI, Ref. PqC-6, efetivo, para exercer a função de Diretor Técnico de Departamento, do IP, da APTA, prevista no art. 109, inc. II, alínea f, do Dec. 46.488/02, mediante gratificação pro labore de 19% sobre o valor da Ref. PqC-6.

Portaria do Chefe de Gabinete de 26-10-2015

Arbitrando, nos termos do art. 135, inc. III, da Lei 10.261/68, tendo em vista o disposto no art. 7º, Anexo XIII, do Dec. 53.966-09, a título de representação, a Luiz Marques da Silva Ayrosa, RG 10.266.632-5, pelo exercício da função de Diretor Técnico de Departamento, do IP, da Apta, gratificação de 6,45, calculado sobre o valor da UBV, instituída pelo art. 33, da LC 1.080/08.

Luiz Ayrosa

**PROCESSO DE OBTENÇÃO DE HIDROLISADO DE GLICOSE, HIDROLISADO
DE GLICOSE E USO DO MESMO**

CAMPO DA INVENÇÃO

[001] A presente invenção se insere no campo da Engenharia, Química e Farmácia, mais especificamente na área de bioprocessos, uma vez que se refere ao processo de obtenção de hidrolisado de glicose a partir de resíduo oriundo do processamento de carragena de *Kappaphycus alvarezii*, bem como o referido hidrolisado e o uso do mesmo na produção de bioprodutos de interesse comercial, como por exemplo, biocombustíveis e biofármacos.

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

[002] Os biocombustíveis representam um tema de grande repercussão internacional devido à dependência dos derivados do petróleo para a produção de energia e sua consequência nas mudanças climáticas do planeta. Nesse cenário, o Brasil tem uma excelente oportunidade para atuar em novas matrizes energéticas associadas à produção de combustíveis e produtos químicos através de fontes renováveis. Atualmente, grandes quantidades de etanol são produzidas a partir da sacarose de cana de açúcar. O uso de materiais lignocelulósicos para a produção de biocombustíveis e produtos químicos têm muitas vantagens em termos de disponibilidade de recursos, considerando a grande quantidade de materiais lignocelulósicos produzidos por atividades florestais e de agricultura. Entretanto, os materiais lignocelulósicos são muito recalcitrantes frente à hidrólise enzimática de polissacarídeos, sendo necessário, primeiro, um pré-tratamento químico do material e posteriormente a hidrólise enzimática para conversões

acima de 30%. Outra fonte renovável que poder ser utilizada para a produção de biocombustíveis são as algas, que também podem ser cultivadas em grandes quantidades no Brasil. As algas são plantas terrestres e aquáticas e muitas espécies contêm altos teores de carboidratos e baixo conteúdo de lignina e no futuro próximo essa fonte se tornará essencial para o uso em processos biotecnológicos. Além disso, algumas espécies de algas também contêm lipídeos que podem ser pré-extraídos e utilizados para a produção de biodiesel.

[003] Devido ao baixo conteúdo de lignina em algas, os polissacarídeos são mais acessíveis a tratamentos químicos e enzimáticos, o que torna as algas menos recalcitrantes do que as plantas terrestres. As algas também produzem mais oxigênio do que utilizam na respiração, ao contrário das plantas terrestres. Desta forma, as algas têm um ganho ambiental que pode ser convertido em um ganho econômico com a comercialização de créditos de carbono. Além disso, em média, as algas têm uma produtividade de $22 \text{ kg.m}^{-2}/\text{ano}$ (dados em base seca) superiores às plantas terrestres que tem uma produtividade média de $0,5\text{-}4,4 \text{ kg.m}^{-2}/\text{ano}$ (dados em base seca).

[004] Nesse contexto, a presente invenção propôs avaliar a composição química e sacarificação enzimática da cepa marrom "*in natura*" e de frações oriundas do processamento de *K. alvarezii* para obtenção de carragena semi-refinada.

ESTADO DA TÉCNICA

[005] O documento KR20130113729 descreve um método de produção de hidrolisado através da utilização de carvão,

além de possuir como produto final um cosmético. O documento JPH01117758 descreve uma pasta utilizada em alimentos com a utilização de processamento de álcool e hidrolisado de batata. O documento JPH1132689 apresenta um alimento em formato de semente capaz de transmitir a sensação de frescor ao alimento a qual está associado, o qual é produzido utilizando-se carragena. O documento JPS6328380 apresenta um alimento produzido pela união de outros alimentos através de uma mistura aquosa, pelo uso de poliálcoois, álcoois de açúcar, dissacarídeos, monossacarídeos, hidrolisado de batata e polissacarídeo a partir de carragena. O documento GB119030 visa à produção de álcool a partir de biomassa de algas.

[006] A presente invenção prevê o uso do resíduo obtido após o processamento da carragena da macroalga "*in natura*" (não tratada) para obtenção de glicose por via enzimática. Por não utilizarem carragena de *Kappaphycus alvarezii* como matéria-prima para a produção de hidrolisado, as tecnologias descritas no estado da técnica tratam-se de tecnologias diversas e que não prejudicam os requisitos de novidade e atividade inventiva da presente invenção.

Objetivos e vantagens da invenção

[007] A presente invenção tem por objetivo o desenvolvimento de um processo de aproveitamento residual do processamento de carragenas para a produção de hidrolisado rico em glicose, evitando, assim, o acúmulo do resíduo na fábrica.

[008] O hidrolisado produzido pode ser utilizado em bioprocessos para a produção de biocombustíveis (etanol,

butanol, hidrogênio, entre outros), biofármacos, enzimas, antibióticos e alimentos (utilização do xarope de glicose na produção de alimentos). Desta forma, além de não gerar um resíduo na fábrica, a empresa poderá ter um aumento na sua eficiência de produção de outros produtos de interesse comercial.

BREVE DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO

[009] A presente invenção refere-se ao processo de obtenção de um hidrolisado rico em glicose a partir do resíduo gerado no processamento de carragena.

[010] O processamento de carragena a partir de macroalgas vermelhas (principalmente *K. alvarezii*) leva à formação de um resíduo rico em glucanas. Esse resíduo não é recalcitrante como no caso do bagaço de cana de açúcar, sendo hidrolisado 100% a glicose a partir de celulasas comerciais, sem haver produção de qualquer tipo de inibidor de microrganismos.

[011] A glicose, na forma de hidrolisado, pode ser útil para produzir diversos bioprodutos.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[012] A Figura 1 mostra o fluxograma das etapas do processo da invenção.

[013] A Figura 2 mostra o cromatograma de íons totais (TIC) no modo positivo (até 20 minutos) e no modo negativo (após 20 minutos) da solução contendo os seguintes padrões autênticos: A (celobiose), B (glicose), C (xilose), D (galactose), E (arabinose e ramnose), F (manose) e G (ácido galacturônico).

[014] A Figura 3 mostra os cromatogramas de íon extraído (XIC) para cada um dos compostos em estudo no

HPLC-MS, em que celobiose, glicose, xilose, ramnose, galactose, arabinose e manose são ionizadas no modo positivo e o ácido galacturônico é ionizado no modo negativo.

[015] A Figura 4 mostra o cromatograma de íons totais (TIC) no modo positivo (até 20 minutos) e no modo negativo (após 20 minutos) do filtrado do hidrolisado ácido de *K. alvarezii* (cepa marrom).

[016] A Figura 5 mostra os cromatogramas de íon extraído (XIC) para o filtrado após hidrólise ácida da amostra de *K. alvarezii* (cepa marrom), em que glicose, xilose, ramnose, galactose e manose são ionizadas no modo positivo e o ácido galacturônico é ionizado no modo negativo.

[017] A Figura 6 mostra frações da biomassa de *K. alvarezii* (cepa marrom), em que (A) é biomassa "in natura", (B) é biomassa tratada com KOH, (C) é biomassa "in natura" e (D) é biomassa tratada com KOH, ambas previamente moídas (C e D).

[018] A Figura 7 mostra frações da biomassa de *K. alvarezii* (cepa marrom), em que (A) é carragena semi-refinada e (B) é "resíduo", ambos previamente moídos.

[019] A Figura 8 mostra as atividades enzimáticas de Cellic Cetc II em função do inverso do número de diluições dos extratos enzimáticos, em que (A) é a atividade das celulasas totais; (C) é a atividade das β -glicosidases; (E) é a atividade das endoglucanases e (G) é a atividade das exoglucanases.

[020] A Figura 9 mostra a concentração de glicose (g/L) versus tempo de hidrólise enzimática do "resíduo"

(círculo), material tratado com KOH (losango), material "in natura" (quadrado) e substratos com enzima desnaturada (triângulo).

[021] A Figura 10 mostra a conversão de glucana em glicose (%) versus tempo de hidrólise enzimática do "resíduo" (círculo), material tratado com KOH (losango), material "in natura" (quadrado) e substratos com enzima desnaturada (triângulo).

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

[022] A presente invenção descreve o processo de obtenção de hidrolisado de glicose, conforme Figura 1, compreendendo as etapas de:

- a) Extração de carragena e obtenção do resíduo gerado no processamento;
- b) Hidrólise enzimática do resíduo.

Etapas A - Extração de carragena e obtenção do resíduo gerado no processamento

[023] A biomassa de *K. alvarezii* (cepa marrom) "in natura" foi colocada em um recipiente contendo solução de KOH 6% (proporção de 10g de biomassa para 120 ml de KOH 6% massa em base seca). O recipiente foi fechado e mantido a temperatura ambiente (23 a 28 °C) por um intervalo de tempo de 8 a 24 h.

[024] Após esse período, a solução alcalina foi removida (por meio de uma peneira com malha de 1 mm, decantação ou centrifugação) e os fragmentos da macroalga, ainda embebidos na solução alcalina, foram fechados e expostos à luz ou ao sol por um intervalo de tempo de 4 a 24 h para o branqueamento.

[025] A biomassa, após o branqueamento, foi lavada com

água destilada para neutralização do álcali e posteriormente seca em estufa com circulação de ar a uma temperatura que varia de 30 a 40 °C.

[026] Essa biomassa foi denominada de alga tratada em solução alcalina a frio (ATF). O ATF previamente moído em moinho de facas (0,84 mm) ou em um processador / triturador foi embebido em água destilada e a suspensão obtida foi tratada em banho termostático ou tanque com agitação de 80 a 120 rpm a uma temperatura que varia de 65 a 80 °C por um intervalo de tempo que varia de 2 a 4 h e posteriormente filtrada em um sistema a vácuo, tangencial ou com membranas. O filtrado já gelificado foi coletado e pré-seco por transferência de calor ou seco em estufa com circulação de ar a uma temperatura que varia de 30 a 40 °C até a obtenção de massa constante. Essa biomassa foi denominada de carragena semi-refinada.

[027] O resíduo retido no filtro foi coletado e pré-seco por transferência de calor ou seco em estufa com circulação de ar a uma temperatura que varia de 30 a 40 °C até a obtenção de massa constante. A carragena e o resíduo foram pesados.

Etapas B - Hidrólise enzimática das amostras

[028] As amostras foram hidrolisadas com celulasas comerciais. A hidrólise enzimática foi realizada com 5 a 10 FPU celulasas/g de substrato (dados em base seca).

[029] As reações foram realizadas a 2-10% de consistência em 20-50 mM de solução tampão acetato de sódio pH = 4,8. Os experimentos foram realizados sob agitação de 80-120 rpm a 45 °C por 8-72 h.

[030] Durante o processo de sacarificação enzimática,

as reações foram monitoradas em intervalos de 4, 8, 24, 48, e 72 h. Após a centrifugação, o sobrenadante foi analisado por um sistema de cromatografia líquida (HPLC-MS) para a determinação de carboidratos monoméricos.

[031] A presente invenção também se refere ao hidrolisado de glicose obtido a partir do processo descrito e uso do mesmo na produção de bioprodutos.

Composição química das amostras

[032] Todas as frações geradas foram caracterizadas quimicamente quanto ao teor de cinzas, teor de metais, teor de lipídeos, teor de grupos sulfato, teor de proteínas, determinação de aromáticos insolúveis e determinação de carboidratos.

Determinação de atividades enzimáticas de extratos comerciais

[033] As seguintes determinações foram realizadas: β -glicosidases, endoglucanases, exoglucanases ou celobiohidrolases, celulasas totais e galactanases totais.

Exemplo de concretização da invenção

[034] Os exemplos aqui mostrados têm o intuito somente de exemplificar uma das inúmeras maneiras de se realizar a invenção, contudo, sem limitar o escopo da mesma.

[035] A tabela 1 apresenta a composição química de *K. alvarezii* (cepa marrom), além de uma carragena comercial (Sigma).

[036] Os teores de carboidratos totais, cinzas, grupo sulfato, proteínas, aromáticos insolúveis, ácido galacturônico, hidroximetilfurfural, lipídeos e a soma dos componentes na cepa marrom de *K. alvarezii* foram de 53.4%, 14.6%, 9.6%, 3.8%, 2.4%, 0.9%, 1.6%, 0.5% e 89.7%,

respectivamente (Tabela 1).

Tabela 1 - Composição química dos componentes da biomassa da cepa marrom de K. Alvarezii. Teores apresentados em gramas/100 gramas de biomassa (dados em base seca)

Testes	Cepa Marrom
Carboidratos totais (%)	53.4 ± 1.2
Cinzas (%)	14.6 ± 0.1
Grupos sulfato (%)	9.6 ± 0.2
Proteínas (%)	3.8 ± 0.5
Aromáticos insolúveis (%)	2.4 ± 0.1
AG (%)	0.9 ± 0.1
HMF (%)	4.5 ± 0.3
Lipídeos (%)	0.5 ± 0.1
Soma (%)	89.7

AG = ácido galacturônico e HMF = hidroximetilfurfural.

[037] Para identificar e quantificar os açúcares monoméricos presentes nos hidrolisados ácidos da cepa em estudo e da carragena comercial, foi necessária a otimização de um método analítico.

[038] Para tal, foi escolhido o método de cromatografia em fase líquida para avaliar as amostras em estudo. O equipamento escolhido foi um cromatógrafo em fase líquida acoplado a um espectrômetro de massas (HPLC-MS). Inicialmente os padrões individuais foram injetados diretamente no espectrômetro de massas para otimizar os parâmetros de ionização.

[039] A Figura 2 mostra um cromatograma obtido com uma solução contendo todos os padrões analíticos misturados. O cromatograma indica que houve separação de todos os padrões com exceção da ramnose, que eluiu em sobreposição com a

arabinose.

[040] Entretanto, através dos cromatogramas de íon extraído (XIC) (Figura 3), foi possível diferenciar a arabinose da ramnose devido a diferença em suas massas molares (150 g.mol^{-1} e 164 g.mol^{-1} , respectivamente). Os açúcares foram otimizados no modo de ionização positivo enquanto o ácido galacturônico foi otimizado no modo de operação negativo.

[041] A Figura 4 mostra um cromatograma típico obtido a partir do hidrolisado ácido da biomassa de *K. alvarezii* (cepa marrom). Podemos observar a presença de glicose, galactose, manose e do ácido galacturônico, porém a xilose e a ramnose também puderam ser identificadas através dos cromatogramas de íon extraído (XIC) da amostra analisada, enquanto a arabinose não foi detectada (Figura 5). O ácido galacturônico mostrou um efeito de deslocamento de tempo de retenção devido a presença da matriz da amostra (30,8 minutos para 21,3 minutos, Figuras 2 e 4, respectivamente), porém também pode ser identificado através dos cromatogramas de íon extraído (XIC) da amostra analisada (Figura 5).

[042] Com o método otimizado, os carboidratos totais apresentados na Tabela 1 foram analisados em cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) para quantificar os teores de açúcares monoméricos. Os teores de galactose, glicose, manose e xilose na cepa marrom foram de 36.7%, 14.1%, 1.8%, 0.7% e 0.1%, respectivamente (Tabela 2). Foram encontrados apenas traços de ramnose na cepa marrom (0.1%).

Tabela 2 - Teores de açúcares monoméricos referentes aos carboidratos totais da biomassa da cepa marrom de *K.*

alvarezii. Teores apresentados em gramas/100 gramas de biomassa (dados em base seca).

Amostras	Cepa Marrom
Galactose (%)	36,7 ± 0,8
Glicose (%)	14,1 ± 0,5
Manose (%)	1,8 ± 0,1
Xilose (%)	0,7 ± 0,1
Ramnose (%)	0,1 ± 0,01

[043] As amostras em estudo apresentaram um alto teor de cinzas (Tabela 1). Devido a essa constatação, foi avaliada a presença de metais nessas amostras. A cepa marrom mostrou, principalmente, a presença de potássio, cálcio e sódio em sua biomassa. Entretanto, também foram detectadas a presença de manganês, ferro e silício, porém os teores encontrados para esses metais foram inferiores a 0,2 mg/g (miligramas de metais/grama de biomassa, dados em base seca).

[044] A Tabela 3 apresenta a composição química dos principais metais de *K. alvarezii* "in natura" (cepa marrom). Os teores de potássio, sódio e cálcio na cepa marrom foram de 30,5 mg/g, 5,1 mg/g e 2,7 mg/g, respectivamente.

Tabela 3 - Composição química dos principais metais encontrados na biomassa da cepa marrom de *K. alvarezii*. Teores apresentados em miligramas de metais/grama de biomassa (dados em base seca).

Amostras	Cepa Marrom
Potássio (mg/g)	30,5 ± 0,1
Sódio (mg/g)	5,1 ± 0,1
Cálcio (mg/g)	2,7 ± 0,1

[045] A carragena semi-refinada é utilizada em vários setores da cadeia industrial (principalmente nos ramos alimentício, cosmético e farmacêutico) e no seu processamento industrial gera-se um resíduo, cujo foco desta invenção é transformá-lo em bioprodutos e/ou biocombustíveis de interesse comercial.

[046] Inicialmente, para processar a biomassa de *K. alvarezii*, foi necessária a lavagem do material com água fria para retirar o excesso de material inorgânico adsorvido em sua estrutura. Após a lavagem, o material foi seco em estufa a 40 °C com circulação de ar (Figura 6A-C). O material seco foi submetido a um pré-tratamento alcalino a frio por 24 horas, lavado com água deionizada até sua neutralização e seco em estufa a 40 °C com circulação de ar (Figura 6B-D). A biomassa tratada com KOH seca em estufa foi moída e então submetida ao processo de extração com água a quente, o que gerou duas frações (carragena semi-refinada, Figura 7A e o "resíduo", Figura 7B).

[047] O rendimento do pré-tratamento com KOH sob a biomassa "in natura" de *K. alvarezii* foi de 89.3 % (dados em base seca) (Tabela 4). A extração com água a quente sob a biomassa tratada com KOH gerou mais duas frações: o "resíduo" (fração insolúvel) o qual o rendimento foi de 23% (dados em base seca) e a carragena semi-refinada (fração líquida) o qual o rendimento foi de 63.5% (dados em base seca) (Tabela 4).

Tabela 4 - Rendimento da biomassa da cepa marrom de *K. alvarezii* após o tratamento com KOH e obtenção do "resíduo" e carragena semi-refinada. Teores apresentados em gramas/100 gramas de material original e tratado com KOH

(dados em base seca).

Componentes da biomassa (g/100g de material original)	
Amostras	Rendimento (%)
Não tratada	100
Tratada com KOH	89,3 ± 0,9
Componentes da biomassa (g/100g de material tratado com KOH)	
Amostras	Rendimento (%)
Tratada com KOH	100
Resíduo	23,0 ± 0,5
Carragena semi-refinada	63,5 ± 0,9

[048] A Tabela 5 apresenta a composição química das frações de *K. alvarezii* (cepa marrom) após o tratamento com KOH. A Tabela 5 mostra a composição química do material bruto após o tratamento com KOH e a composição química em relação ao material de partida após aplicar um balanço de massa (utilizando o rendimento do tratamento com KOH). Para a elaboração da Tabela 5 foram escolhidos os principais componentes encontrados na biomassa em estudo, como se segue: galactana, glucana, cinzas, proteínas, aromáticos insolúveis e grupos sulfato. Os teores brutos de galactana, cinzas, proteínas, aromáticos e grupos sulfato na fração tratada com KOH foram: 32,4%, 13,5%, 16,7%, 0,5%, 2,2% e 10,4%, respectivamente.

[049] O balanço de massa é necessário para compararmos o material tratado com KOH diretamente com o material "in natura" (original). Os teores de galactana, proteínas e aromáticos insolúveis foram reduzidos na biomassa tratada com KOH quando comparado com a biomassa "in natura" (12,4%, 88,1% e 16,7%, respectivamente). Entretanto os teores de glucana e grupos sulfato não foram reduzidos na biomassa

"in natura" após o tratamento com KOH (Tabela 5). O teor de cinzas foi maior na amostra tratada quando comparado com a amostra "in natura". Isso ocorreu devido à contaminação do material por KOH, pois as lavagens após o tratamento não foram suficientes para dissolver todo o potássio que adsorveu no material. Com exceção do teor de proteínas, as reduções nos componentes foram pequenas, pois o rendimento do processo de tratamento com KOH foi de 89,3%, sendo solubilizados pequenas frações dos componentes citados.

Tabela 5 - Rendimento e composição química dos componentes da biomassa da cepa marrom "in natura" de *K. alvarezii* após o tratamento com KOH. Teores apresentados em gramas/100 gramas de material bruto e original (dados em base seca).

Componentes da biomassa (g/100 g de material bruto)		
Amostras	Não tratada	Tratada com KOH
Rendimento (g/100 g de material) (%)	100	89,3 ± 0,9
Galactana (%)	33,0 ± 0,4	32,4 ± 0,8
Glucana (%)	12,7 ± 0,5	13,5 ± 0,6
Cinzas (%)	14,6 ± 0,1	21,7 ± 0,1
Proteínas (%)	3,8 ± 0,5	0,5 ± 0,1
Aromáticos insolúveis (%)	2,4 ± 0,1	2,2 ± 0,2
Grupos sulfato (%)	9,6 ± 0,2	10,4 ± 0,3
Componentes da biomassa (g/100 g de material original)		
Amostras	Não tratada	Tratada com KOH
Rendimento (g/100 g de	100	89,3 ± 0,9

material) (%)		
Galactana (%)	33,0 ± 0,4	28,9 ± 0,8
Glucana (%)	12,7 ± 0,5	12,0 ± 0,6
Cinzas (%)	16,5 ± 0,1	19,4 ± 0,2
Proteínas (%)	3,8 ± 0,5	0,45 ± 0,1
Aromáticos insolúveis (%)	2,4 ± 0,1	2,0 ± 0,1
Grupos sulfato (%)	9,6 ± 0,2	9,3 ± 0,2

[050] A Tabela 6 apresenta a composição química das frações de *K. alvarezii* (cepa marrom) previamente tratadas com KOH após a extração de carragena. A Tabela 6 mostra a composição química do material bruto após a extração de carragena e sua composição química após aplicar um balanço de massa (utilizando os rendimentos da extração de carragena e obtenção do "resíduo"). Para a elaboração da Tabela 6 foram escolhidos os principais componentes encontrados na biomassa em estudo, como se segue: galactana, glucana, cinzas, proteínas, aromáticos insolúveis e grupos sulfato. Os teores brutos de galactana, glucana, cinzas, proteínas, aromáticos insolúveis e grupos sulfato na fração do "resíduo" foram: 7.2%, 54.6%, 14.9%, 0.5%, 3.9% e 7.0%, respectivamente. Nota-se um enriquecimento de glucana e uma redução de galactana na presente fração. Os teores brutos de galactana, cinzas, proteínas, aromáticos insolúveis e grupos sulfato na fração da carragena semi-refinada foram: 42,6%, 24,2%, 0,3%, 1,1% e 11,0%, respectivamente. A glucana não foi detectada na fração de carragena semi-refinada. A porcentagem dos componentes apresentados para a fração de carragena semi-refinada foram similares aos componentes encontrados na

carragena comercial apresentados na Tabela 6.

[051] O balanço de massa é necessário para compararmos a carragena semi-refinada e o “resíduo” diretamente com o material tratado com KOH (material de partida). Os teores de galactana, cinzas, proteínas, aromáticos insolúveis e grupos sulfato foram reduzidos no “resíduo” quando comparado com a biomassa tratada com KOH (94,7%, 84,3%, 80%, 59% e 81,7%, respectivamente). Entretanto a glucana não foi reduzida na biomassa tratada com KOH após a extração de carragena semi-refinada e obtenção do “resíduo”. Os teores de galactana, cinzas, proteínas, aromáticos e grupos sulfato foram reduzidos na carragena semi-refinada quando comparado com a biomassa tratada com KOH (16,7%, 29%, 60%, 68,2% e 19,2%, respectivamente).

Tabela 6 - Rendimento e composição química dos componentes da biomassa da cepa marrom de *K. Alvarezii* previamente tratada com KOH após a extração com água. Teores apresentados em gramas/100 gramas de material bruto e tratado com KOH (dados em base seca).

Componentes da biomassa (g/100 g de material bruto)				
Amostras	Tratada com KOH	Resíduo	Carragena semi-refinada	Carragena comercial
Rendimento (g/100g) (%)	100	23,0 ± 0.5	63,5 ± 0.6	-
Galactana (%)	32,4 ± 0,8	7,2 ± 0.3	42,6 ± 0.9	32,5 ± 0,8
Glucana (%)	13,5 ± 0,6	54,6 ± 0.4	nd	0,4 ± 0,1
Cinzas (%)	21,7 ± 0,1	14,9 ± 0.1	24,2 ± 0.1	34,8 ± 0,1
Proteínas (%)	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0.1	0,3 ± 0.1	0,5 ± 0,2

Aromáticos insolúveis (%)	2,2 ± 0,2	3,9 ± 0,1	1,1 ± 0,1	0,7 ± 0,1
Grupos sulfato (%)	10,4 ± 0,3	8,4 ± 0,1	13,3 ± 0,2	12,8 ± 0,1
Componentes da biomassa (g/100 g de material original)				
Amostras	Tratada com KOH	Resíduo	Carragena refinada	-
Rendimento (g/100g) (%)	100	23,0 ± 0,5	63,5 ± 0,9	-
Galactana (%)	32,4 ± 0,8	1,7 ± 0,3	27,0 ± 0,9	-
Glucana (%)	13,5 ± 0,6	12,6 ± 0,4	Nd	-
Cinzas (%)	21,7 ± 0,1	3,4 ± 0,1	15,4 ± 0,1	-
Proteínas (%)	0,5 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,1	-
Aromáticos insolúveis (%)	2,2 ± 0,2	0,9 ± 0,1	0,7 ± 0,1	-
Grupos sulfato (%)	10,4 ± 0,3	1,9 ± 0,1	8,4 ± 0,2	-

nd = não detectado

[052] A Tabela 7 apresenta a composição química dos principais metais encontrados nas frações de *K. alvarezii* (cepa marrom) após o tratamento com KOH. A Tabela 7 mostra a composição química dos metais do material bruto após o tratamento com KOH e a composição química em relação ao material de partida após aplicar um balanço de massa (utilizando o rendimento do tratamento com KOH). Para a elaboração da Tabela 7 foram escolhidos os principais metais encontrados na biomassa em estudo, como se segue: potássio, sódio e cálcio. Os teores brutos de potássio,

sódio e cálcio na fração tratada com KOH foram: 42.7 mg/g, 3.1 mg/g e 1.5 mg/g, respectivamente.

[053] O balanço de massa é necessário para compararmos o material tratado com KOH diretamente com o material "in natura" (original). O teor de sódio foi reduzido em 74.5% no material tratado com KOH quando comparado ao material "in natura". Entretanto, os teores de potássio e cálcio não foram reduzidos (solubilizados) na biomassa tratada com KOH quando comparado com a biomassa "in natura" (Tabela 7).

Tabela 7 - Rendimento e composição química dos metais da biomassa da cepa marrom de *K. Alvarezii* previamente tratada com KOH. Teores apresentados em miligramas/grama de material bruto e tratado com KOH (dados em base seca).

Componentes da biomassa (g/100 g de material bruto)		
Amostras	Não tratada	Tratada com KOH
Rendimento (g/100 g de material) (%)	100	89,3 ± 0,9
Potássio (mg/g)	30,5 ± 0,01	42,7 ± 0,01
Cálcio (mg/g)	2,7 ± 0,01	3,4 ± 0,01
Sódio (mg/g)	5,1 ± 0,01	1,5 ± 0,08
Componentes da biomassa (g/100 g de material original)		
Amostras	Não tratada	Tratada com KOH
Rendimento (g/100 g de material) (%)	100	89,3 ± 0,9
Potássio (mg/g)	30,5 ± 0,01	38,1 ± 0,01
Cálcio (mg/g)	2,7 ± 0,01	3,0 ± 0,01
Sódio (mg/g)	5,1 ± 0,01	1,3 ± 0,08

[054] A Tabela 8 apresenta a composição química dos

metais das frações de *K. alvarezii* (cepa marrom) previamente tratada com KOH após a extração de carragena. A Tabela 8 mostra a composição química dos metais do material bruto após a extração de carragena e sua composição química após aplicar um balanço de massa (utilizando os rendimentos da extração de carragena e obtenção do "resíduo"). Para a elaboração da Tabela 8 foram escolhidos os principais metais encontrados na biomassa em estudo, como se segue: potássio, cálcio e sódio. Os teores brutos de potássio, cálcio e sódio na fração do "resíduo" foram: 27,8 mg/g, 3,1 mg/g e 1,2 mg/g, respectivamente. Os teores brutos de potássio, cálcio e sódio na fração da carragena semi-refinada foram: 40,3 mg/g, 3,0 mg/g e 1,7 mg/g, respectivamente. Os teores dos metais apresentados para a fração de carragena semi-refinada bruta foram inferiores aos teores encontrados na carragena comercial (Tabela 8).

[055] O balanço de massa é necessário para compararmos a carragena semi-refinada e o "resíduo" diretamente com o material tratado com KOH (material de partida). Os teores de potássio, cálcio e sódio foram reduzidos no "resíduo" quando comparado com a biomassa tratada com KOH (88%, 73,5% e 66,7%, respectivamente). Os teores de potássio, cálcio e sódio também foram reduzidos na carragena semi-refinada quando comparado com a biomassa tratada com KOH (92%, 50% e 46,7%, respectivamente).

Tabela 8 - Rendimento e composição química dos metais da biomassa da cepa marrom de *K. Alvarezii* previamente tratada com KOH após a extração com água. Teores apresentados em miligramas/grama de material bruto e tratado com KOH (dados em base seca).

Componentes da biomassa (g/100 g de material bruto)				
Amostras	Tratada com KOH	Resíduo	Carragena semi-refinada	Carragena comercial
Rendimento (g/100g) (%)	100	23,0 ± 0,5	63,5 ± 0,9	-
Potássio (mg/g)	42,7 ± 0,01	22,3 ± 0,07	53,5 ± 0,01	72,8 ± 0,3
Cálcio (mg/g)	3,4 ± 0,01	3,8 ± 0,06	2,7 ± 0,01	25,8 ± 0,2
Sódio (mg/g)	1,5 ± 0,08	2,3 ± 0,04	1,2 ± 0,01	8,6 ± 0,1
Componentes da biomassa (g/100 g de material original)				
Amostras	Tratada com KOH	Resíduo	Carragena semi-refinada	-
Rendimento (g/100 g) (%)	100	23,0 ± 0,5	63,5 ± 0,9	-
Potássio (mg/g)	42,7 ± 0,01	5,1 ± 0,07	34,0 ± 0,01	-
Cálcio (mg/g)	3,4 ± 0,01	0,9 ± 0,06	1,7 ± 0,01	-
Sódio (mg/g)	1,5 ± 0,08	0,5 ± 0,04	0,8 ± 0,01	-

Caracterização de extratos enzimáticos comerciais

[056] O extrato enzimático Cellic Cetec II da Novozymes foi caracterizado frente aos teores de proteínas totais, atividades de celulases (celulases totais, endoglucanases, exoglucanases e β -glicosidases) e atividades de galactanases totais. A Figura 8 apresenta as curvas de liberação de produto em função do inverso do número de diluições realizadas no extrato enzimático estudado.

Através dessas curvas foi possível calcular a atividade de celulases totais e definir as diluições para realizar as atividades de endoglucanases, exoglucanases e β -glicosidases para o extrato em estudo.

[057] A Tabela 9 apresenta os teores de proteínas totais e atividades específicas de celulases. A atividade de celulases totais, endoglucanases, exoglucanases e β -glicosidases do extrato enzimático Cellic Cetec II foi de 1,3 FPU/mg, 27,8 UI/mg, 1,1 UI/mg e 26,3 UI/mg, respectivamente. Também foram dosadas as atividades de galactanases totais no extrato em estudo. O extrato enzimático Cellic Cetec II mostrou uma atividade específica de galactanases totais de 0,01 UI/mg.

Tabela 9 - Teores de proteínas totais e atividades enzimática específica de celulases. Proteínas expressadas em miligramas de proteínas/mililitro de extrato e atividade expressada em FPU/miligramas de proteína ou UI/miligramas de proteína.

Preparações enzimáticas	Cellic Cetec II da Novozymes
Proteínas totais (mg/ml)	68,4 $\pm$ 0,5
Celulases totais (FPU/mg)	1,3 $\pm$ 0,1
Endoglucanases (UI/mg)	27,8 $\pm$ 1,2
Exoglucanases (UI/mg)	1,1 $\pm$ 0,2
β -glicosidases (UI/mg)	26,3 $\pm$ 0,5

Hidrólise enzimática das frações obtidas após a obtenção de carragena semi-refinada

[058] Foram realizadas as hidrólises enzimáticas com o extrato enzimático Cellic Cetec II com as seguintes frações da cepa marrom de *K. alvarezii*: material "in natura", material tratado com KOH e o "resíduo".

[059] As Figuras 9 e 10 apresentam a hidrólise enzimática dos substratos citados acima. A concentração de glicose liberada após 72 horas de hidrólise do "resíduo" foi de aproximadamente 16 g/L enquanto os materiais "in natura" e tratado com KOH mostraram uma concentração de glicose de aproximadamente 3 g/L. A média da concentração de glicose após 72 horas de hidrólise dos três substratos com o extrato enzimático desnaturado foi de aproximadamente 0,05 g/L (Figura 9).

[060] A conversão de glucana após 72 horas de hidrólise nas frações "in natura", no material tratado com KOH e no "resíduo" foram de aproximadamente 100% (Figura 10). Entretanto, após 8 horas de hidrólise a conversão das frações "in natura", do material tratado com KOH e do "resíduo" foram de aproximadamente 57,0%, 85,0% e 71,0%, respectivamente. Esses dados indicam que a hidrólise ocorreu de forma mais eficiente (maior velocidade) no material tratado com KOH e no "resíduo" quando comparado com o material "in natura". Apesar de a hidrólise alcançar uma conversão de 100% após 72 horas em ambas as frações em estudo, podemos observar que a concentração de glicose foi 5 vezes maior no "resíduo" quando comparado as frações "in natura" e do material tratado com KOH (Figura 9). Esse efeito é explicado pela composição química das frações hidrolisadas. O material "in natura" e o tratado com KOH apresentaram um teor de glucana de aproximadamente 12% (g/100 g de material bruto, dados em base seca) enquanto o "resíduo" apresentou um teor de glucana de aproximadamente 54% (g/100 g de material bruto, dados em base seca) (Tabelas 5 e 6), ou seja, aproximadamente 5 vezes maior o

"resíduo" em comparação ao material "in natura" e o tratado com KOH.

Conclusão

[061] A composição da biomassa da cepa marrom de *K. alvarezii* mostrou como principal componente da biomassa os carboidratos galactana e glucana. Outros componentes importantes na biomassa foram os teores de cinzas e grupos sulfato.

[062] O processo de extração de carragena semi-refinada foi eficaz gerando um "resíduo" rico em glucana e com aparência clara, indicando que não foi oxidado. O extrato enzimático Cellic Cetec II da Novozymes mostrou alta atividade específica de β -glicosidases, além de endoglucanases e exoglucanases. A hidrólise enzimática das frações ("in natura", tratada com KOH e do "resíduo") após a extração de carragena semi-refinada com Cellic Cetec II foi eficaz atingindo uma conversão de 100% em ambas as frações.

[063] O "resíduo" hidrolisado mostrou-se rico em glicose podendo ser utilizado para produção de biocombustíveis, biofármacos, enzimas, antibióticos e outros bioprodutos a partir de bioprocessos. O hidrolisado obtido tem a vantagem de estar livre de compostos inibidores de microrganismos (como por exemplo: hidroximetilfurfural e derivados de lignina) tornando os processos fermentativos tanto quanto eficientes aos realizados por exemplo, no processo de produção de etanol a partir de caldo de cana de açúcar e melaço. Além disso, o hidrolisado rico em glicose pode também ser utilizado com xarope de glicose em indústrias alimentícias, pois o

processo de obtenção de glicose é livre de formação de compostos que promovem sabores desagradáveis.

REIVINDICAÇÕES

1. Processo de obtenção de hidrolisado de glicose **caracterizado** por compreender as etapas de:

a) Extração de carragena e obtenção do resíduo gerado no processamento;

b) Hidrólise enzimática do resíduo.

2. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de, na etapa "a", a biomassa da cepa marrom "in natura" ser colocada em um recipiente contendo solução de KOH 6%, em uma proporção de 10 g de biomassa para 120 ml de KOH 6% massa em base seca, mantido fechado e à temperatura ambiente de 23 a 28 °C por um intervalo de tempo de 8 a 24 h.

3. Processo, de acordo com a reivindicação 1 ou 2, **caracterizado** pelo fato de a solução alcalina ser removida e os fragmentos da macroalga serem fechados e expostos à luz ou ao sol por um intervalo de tempo de 4 a 24 h para o branqueamento.

4. Processo, de acordo com a reivindicação 1, 2 ou 3, **caracterizado** pelo fato de a biomassa, após o branqueamento, ser lavada com água destilada e seca a uma temperatura que varia de 30 a 40 °C.

5. Processo, de acordo com a reivindicação 1, 2, 3 ou 4, **caracterizado** pelo fato de a biomassa obtida ser moída e embebida em água destilada e a suspensão obtida ser tratada em banho termostático ou tanque com agitação de 80 a 120 rpm a uma temperatura que varia de 65 a 80 °C por um intervalo de tempo que varia de 2 a 4 h.

6. Processo, de acordo com a reivindicação 1, 2, 3, 4 ou 5, **caracterizado** pelo fato de a suspensão de biomassa

ser filtrada e o filtrado gelificado ser coletado e seco a uma temperatura que varia de 30 a 40 °C.

7. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de, na etapa "b", os resíduos serem hidrolisados com celulasas comerciais, mais especificamente, 5 a 10 FPU de celulasas por g de substrato em base seca, em condições ótimas para a atividade da enzima, em que o pH é de 4,8, sob agitação de 80 a 120 rpm, e uma temperatura de 45 °C e um tempo que varia de 8 a 72 h.

8. Hidrolisado de glicose **caracterizado** pelo fato de ser obtido de acordo com o processo conforme definido nas reivindicações 1 a 7 e por apresentar teores de glucana, galactanas, cinzas, grupo sulfato, proteínas e aromáticos insolúveis, de 54,6%, 7,2%, 14,9%, 8,4%, 0,5% e 3,9%, respectivamente.

9. Uso do hidrolisado de glicose, conforme definido na reivindicação 8, **caracterizado** por ser em biocombustíveis, biofármacos, enzimas e antibióticos.

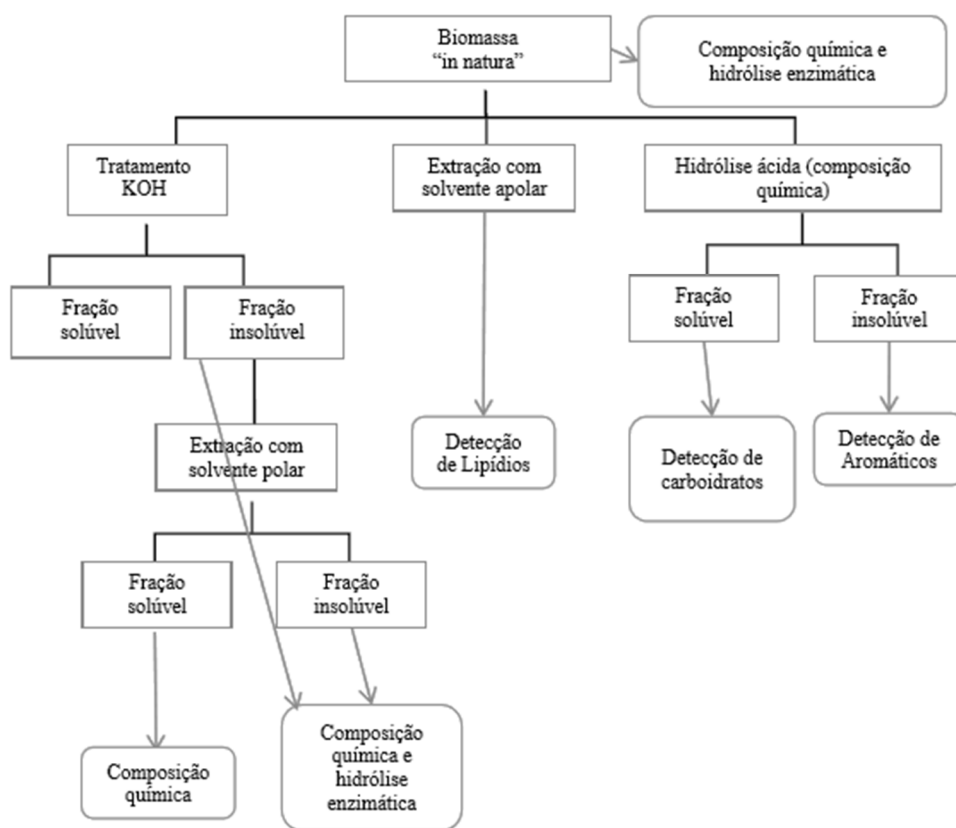


Figura 1

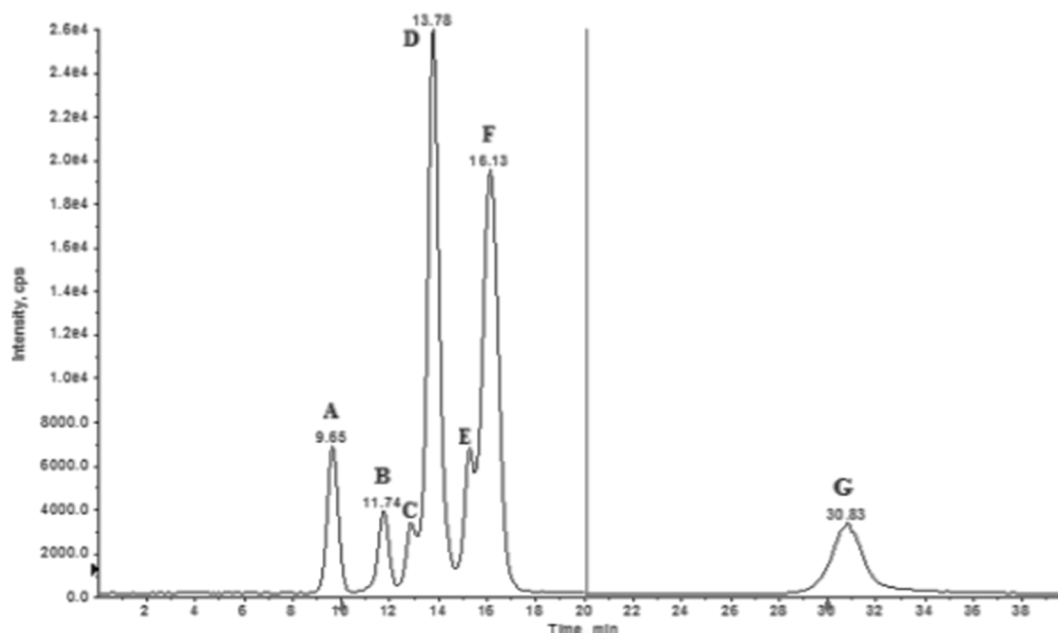


Figura 2

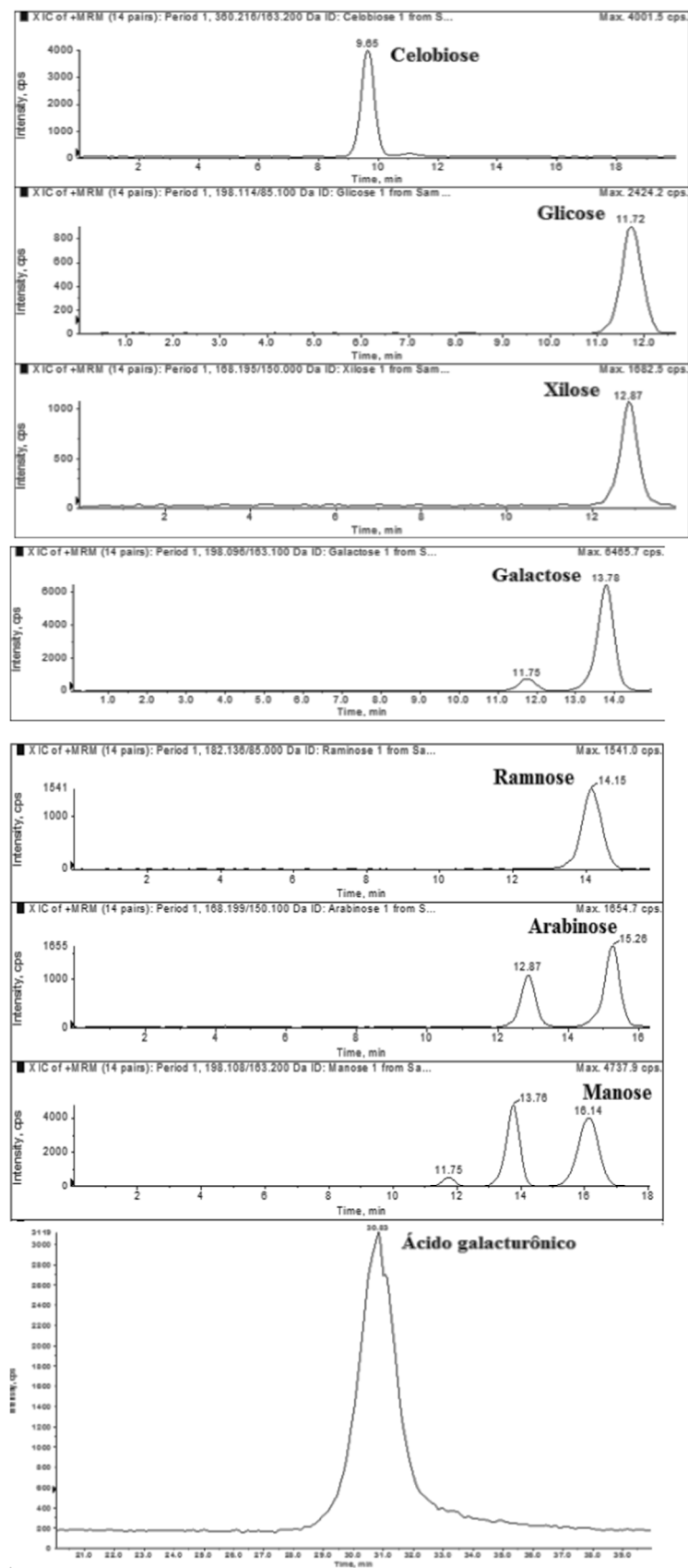


Figura 3

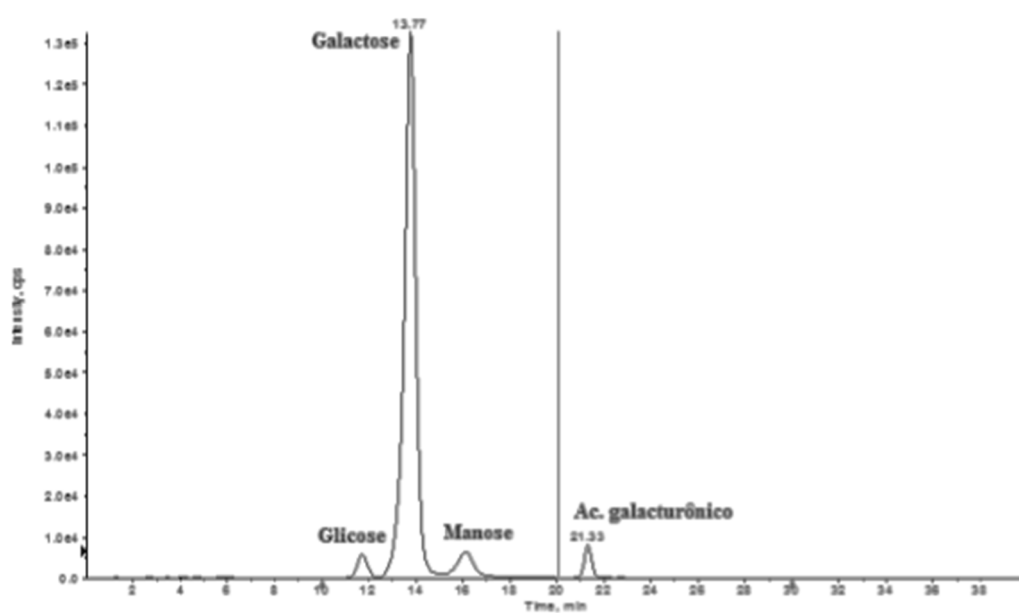


Figura 4

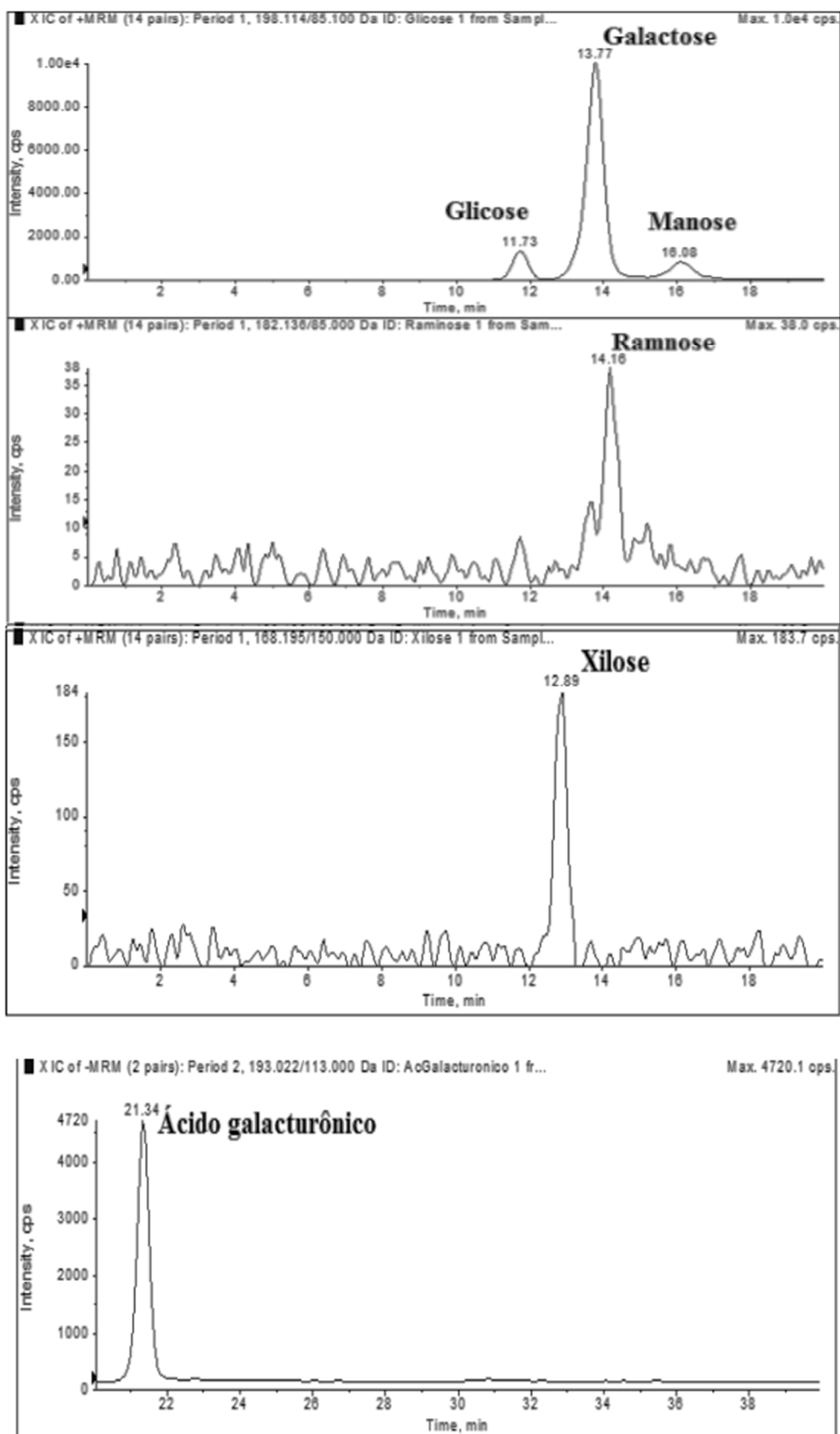


Figura 5

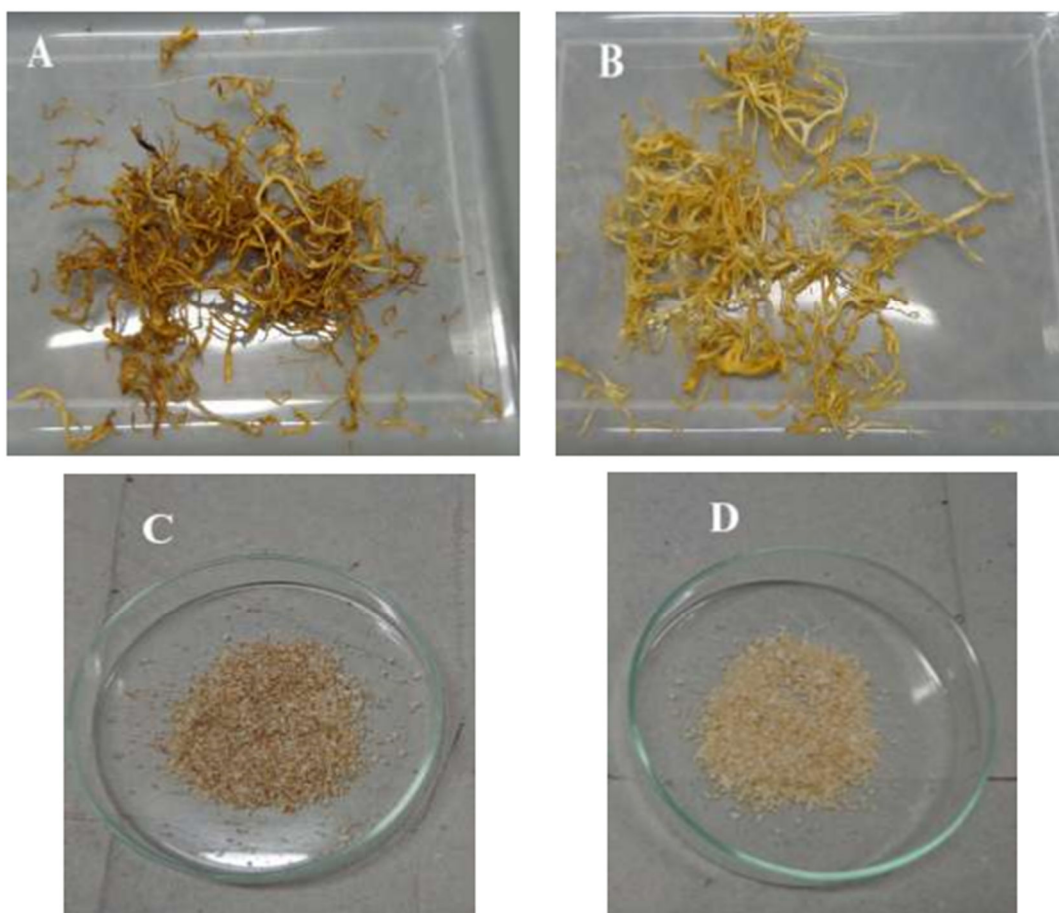


Figura 6

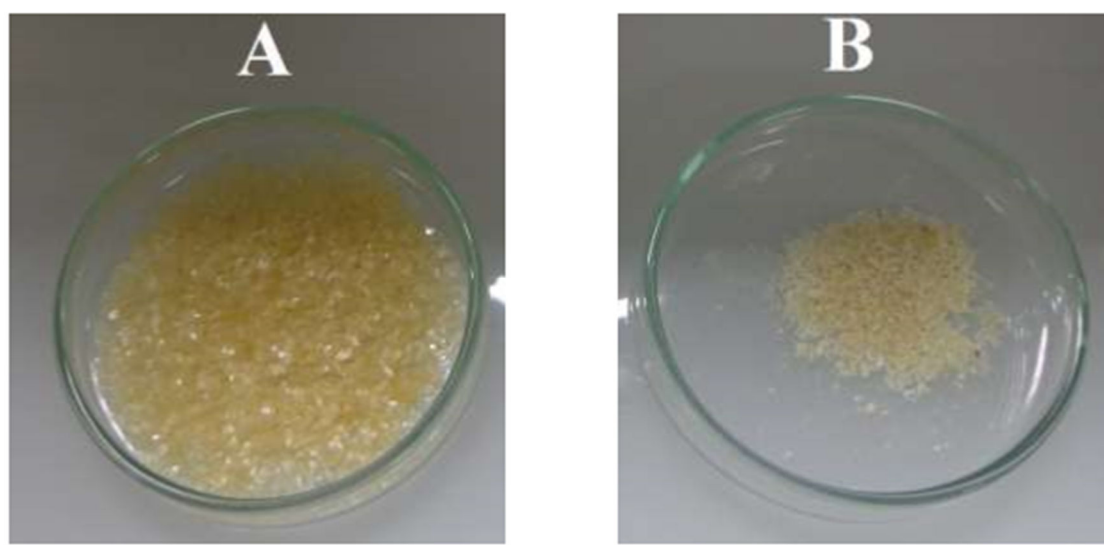


Figura 7

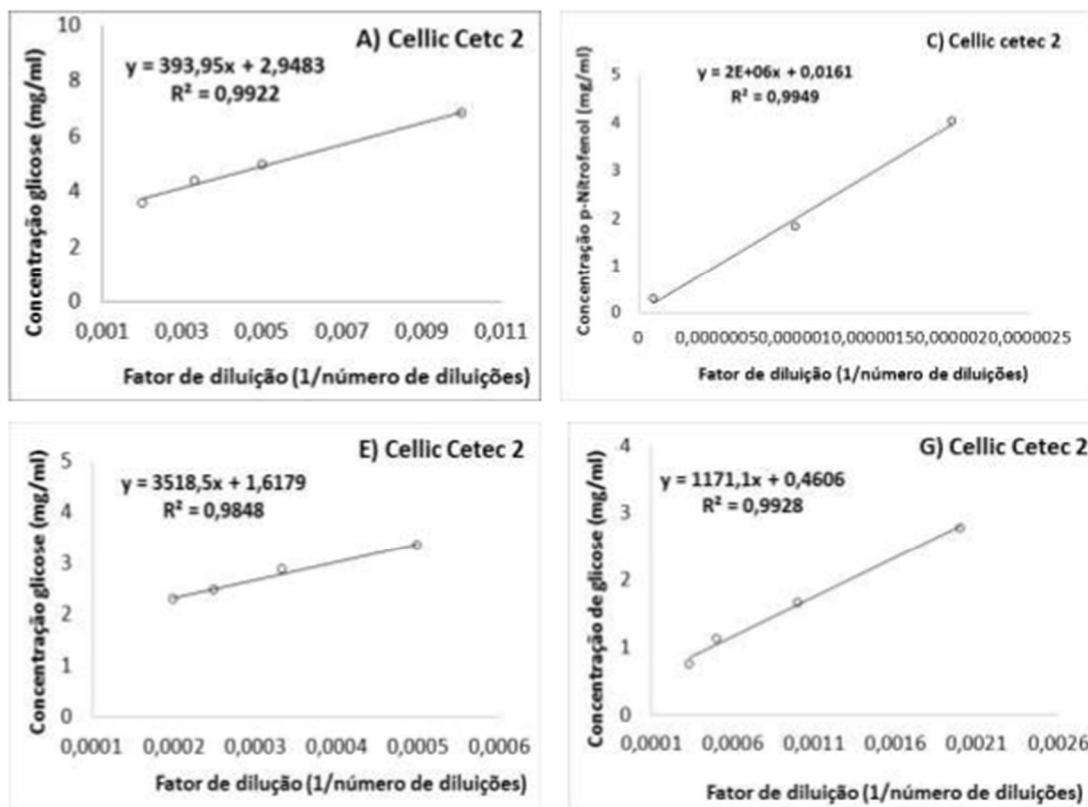


Figura 8

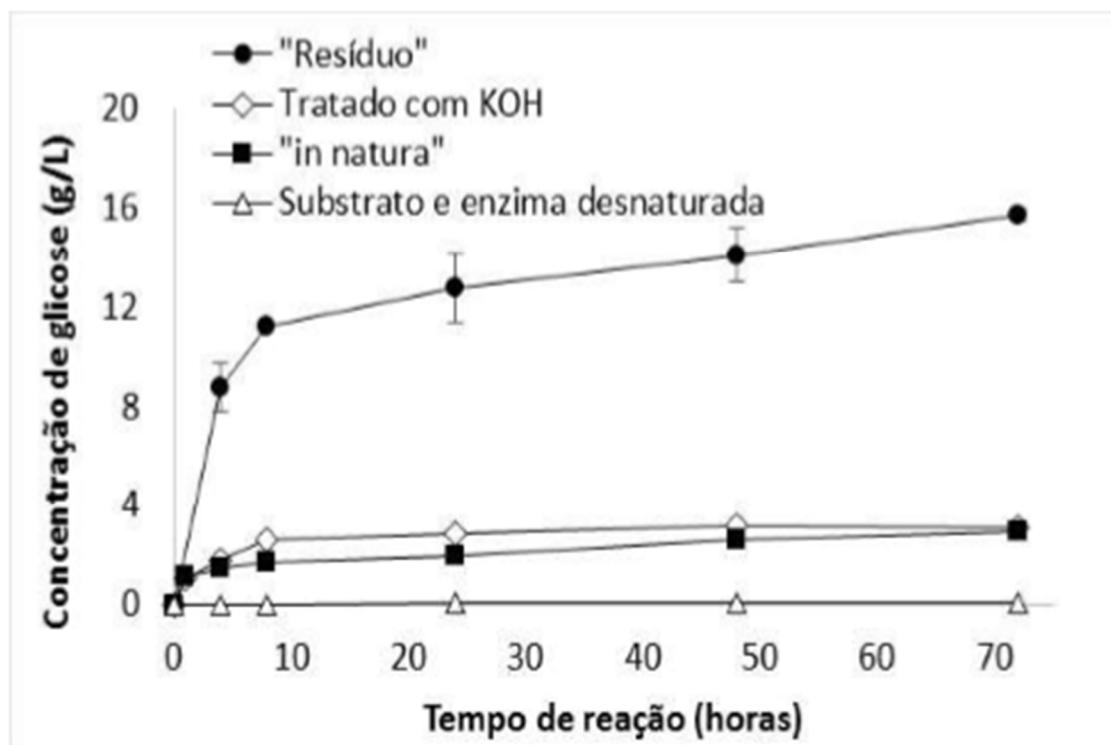


Figura 9

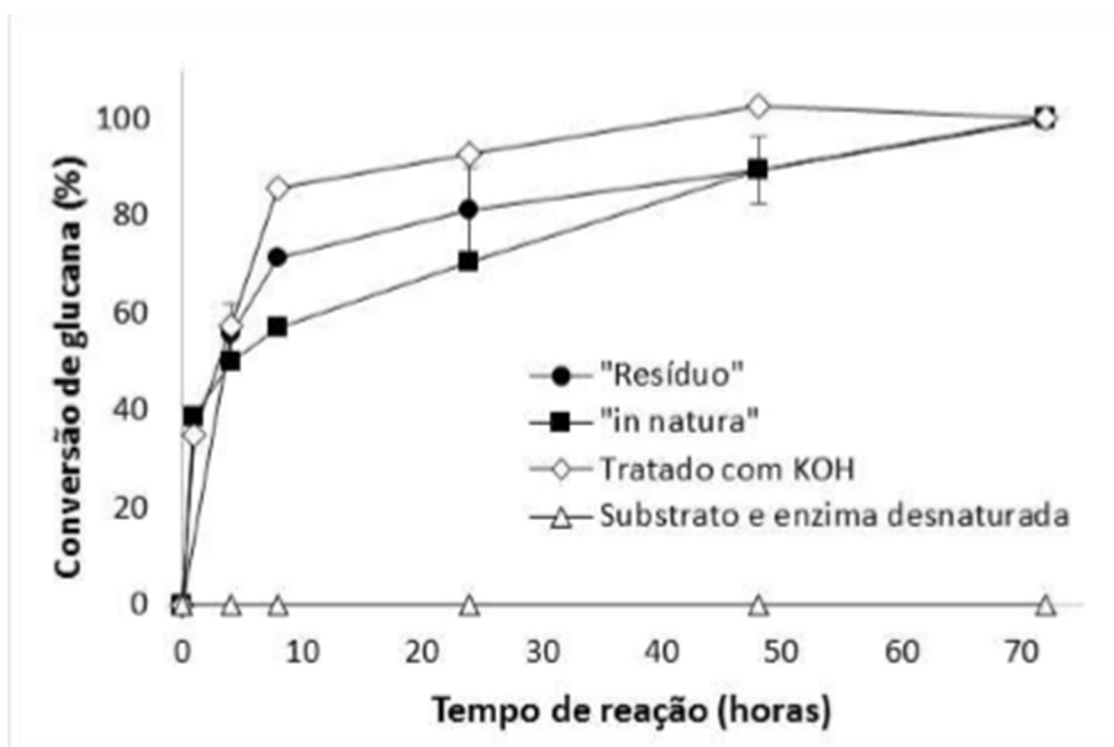


Figura 10

RESUMO**PROCESSO DE OBTENÇÃO DE HIDROLISADO DE GLICOSE, HIDROLISADO
DE GLICOSE E USO DO MESMO**

A presente invenção refere-se ao processo de obtenção de um hidrolisado rico em glicose a partir do resíduo gerado no processamento de carragena. O processamento de carragena a partir de macroalgas vermelhas (principalmente *K. alvarezii*) leva a formação de um resíduo rico em glucanas. Esse resíduo não é recalcitrante como no caso do bagaço de cana de açúcar, sendo hidrolisado 100% a glicose a partir de celulasas comerciais, sem haver produção de qualquer tipo de inibidor de microrganismos. A glicose na forma de um hidrolisado pode ser útil para produzir diversos bioprodutos.