



**Assinado
Digitalmente**

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

CARTA PATENTE Nº PI 0700421-4

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 0700421-4

(22) Data do Depósito: 16/02/2007

(43) Data da Publicação Nacional: 13/01/2009

(51) Classificação Internacional: C12P 1/04; C12P 7/58; C07C 59/105; C07C 31/18; C12N 1/20; C12R 1/01.

(54) Título: PROCESSO DE PRODUÇÃO DE SORBITOL E ÁCIDOS ORGÂNICOS OU SEUS SAIS

(73) Titular: FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL, Pessoa Jurídica. Endereço: Rua Francisco Getúlio Vargas, 1130, Cidade Universitária, Caxias do Sul, RS, BRASIL(BR), 95070-560, Brasileira

(72) Inventor: MAURICIO MOURA DA SILVEIRA; ELOANE MALVESSI; SABRINA CARRA; FLÁVIA CRISTINA PASQUALI; TOMÁS AUGUSTO POLIDORO.

Prazo de Validade: 20 (vinte) anos contados a partir de 16/02/2007, observadas as condições legais. Patente concedida conforme ADI 5.529/DF, que determina a alteração do prazo de concessão.

Expedida em: 22/08/2023

Assinado digitalmente por:

Alexandre Dantas Rodrigues

Diretor de Patentes, Programas de Computador e Topografias de Circuitos Integrados

Relatório Descritivo de Patente de Invenção

PROCESSO DE PRODUÇÃO DE SORBITOL E ÁCIDOS ORGÂNICOS OU SEUS SAIS

Campo da Invenção

[0001] A presente invenção é relacionada a processos para produção e recuperação de sorbitol e ácidos orgânicos ou seus sais, bem como aos produtos destes processos. Mais especificamente, a presente invenção é relacionada a processos biotecnológicos para produção e recuperação de sorbitol e ácidos orgânicos ou seus sais, utilizando enzimas e/ou células íntegras ou inviabilizadas de bactérias do gênero *Zymomonas*, imobilizadas ou não em suportes físicos, tendo etanol como subproduto, além de compreender a purificação dos componentes por precipitação seletiva. Os ácidos orgânicos ou seus sais obtidos na presente invenção apresentam elevada concentração e pureza isomérica, sendo, portanto, utilizados com vantagens sobre seus congêneres disponíveis.

Antecedentes da Invenção

[0002] O uso de processos biotecnológicos para a produção de uma grande variedade de compostos tem despertado um crescente interesse nas últimas décadas, quando muitos avanços têm sido alcançados nesta área. Tal interesse pode ser justificado pelas condições de operação mais brandas empregadas na biossíntese, que reduzem o consumo de energia e aumentam a segurança do processo, pela alta especificidade das enzimas, que minimiza a formação de subprodutos e pelo menor impacto ambiental.

[0003] A bactéria anaeróbia Gram-negativa *Zymomonas mobilis* produz quantidades equimolares de sorbitol e ácidos orgânicos a partir de frutose e aldoses, em reações catalisadas por glicose-frutose oxidoredutase (GFOR) e glucono- δ -lactonase (GL), enzimas presentes no periplasma celular. Estas enzimas têm a capacidade de oxidar, além da glicose, outras aldoses, levando à

formação dos respectivos ácidos orgânicos. Entre estes, o ácido lactobiônico tem merecido atenção devido às suas importantes aplicações na área médica, como componente da solução U.W. (University of Wisconsin) para a preservação de órgãos para transplante e, mais recentemente, como componente de formulações de cosméticos específicos para o tratamento da pele. Para o seu crescimento, *Zymomonas mobilis* requer, além da glicose como fonte de carbono e indutor de atividade de GFOR, uma série de nutrientes. Como fonte de nitrogênio, normalmente são utilizados sais de amônio, aminoácidos e peptídeos. Do mesmo modo, existem evidências da sua dependência de vitaminas, como biotina e ácido pantotênico, necessidade que pode ser suprida com a adição de extrato de levedura ao meio.

[0004] A bactéria *Zymomonas mobilis* produz vários subprodutos quando crescida em meio de sacarose, entre esses o sorbitol. O sorbitol é produzido pela enzima glicose-frutose oxidoredutase (GFOR), cuja função fisiológica é estabelecer a regulação do equilíbrio osmótico quando a célula é crescida em meio com altas concentrações de açúcares. A enzima produz sorbitol e este é acumulado, como um soluto compatível à alta concentração de açúcar fora da célula. O sorbitol, também denominado açúcar de álcool, ocorre naturalmente nas bagas do fruto da sorveira (*Couma guianensis*), podendo também ser sintetizado a partir da glicose. Ele apresenta a fórmula química $C_6H_{14}O_6$ e possui o nome científico hexan-1,2,3,4,5,6-hexaol. O sorbitol possui grande demanda comercial, com aplicações voltadas principalmente para as indústrias farmacêuticas e de alimentos, sendo empregado principalmente nas indústrias de cosméticos, couros, têxtil, papel, adoçantes e hidratantes. Utilizado como alimento há meio século, o sorbitol entra na composição de produtos farmacêuticos e cosméticos, enquanto na indústria alimentícia é utilizado: como umectante em produtos que necessitam de proteção contra a perda de umidade; na confecção de produtos alimentícios como adoçante. Já na farmacologia, pode ser utilizado: como laxante quando ingerido em doses maiores que 50 a 80 gramas ao dia, como diurético, em soluções irrigantes

para alguns procedimentos médicos e cremes dentais, entre outros.

[0005] Já é conhecido que a bactéria *Zymomonas mobilis*, além de produzir etanol, tem a capacidade de formar sorbitol e ácido glucônico a partir de uma mistura de frutose e glicose como fontes de carbono (Barrow, K.D.; Collins, J.G.; Leigh, D.A.; Rogers, P.L.; Warr, R.G. *Journal of Biological Chemistry*, 259: 5711-5716, 1984 e Viikari, L. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 19: 252-255, 1984). O reconhecimento da bioquímica do processo mostrou que uma única enzima, glicose-frutose oxidoreductase, é responsável pela conversão de glicose e frutose em glucono-lactona e sorbitol, respectivamente. Na sequência, glucono-lactona é convertida em ácido glucônico pela enzima glucono- δ lactonase (Zachariou, M. e Scopes, R.K. *Journal of Bacteriology*, 1677: 863-869, 1986). Já é conhecido, também, que a enzima glicose-frutose oxidoreductase isolada da célula de *Zymomonas mobilis*, na presença de frutose, tem a capacidade de oxidar, além da glicose, sete outras aldoses – lactose, xilose, galactose, arabinose, manose, maltose e celobiose – levando à formação dos respectivos ácidos orgânicos ou seus sais (Satory, M.; Furlinger, M.; Haltrich, D.; Kulbe, K. D.; Pittner, F.; Nidetzky, B. *Biotechnology Letters*, 19: 1205-1208, 1997). Entretanto, ainda persiste a necessidade por processos industriais em larga escala para a produção de tais ácidos orgânicos e/ou seus sais.

[0006] Em condições convencionais de fermentação, *Zymomonas mobilis* fermenta glicose, frutose e sacarose no sentido da formação de etanol. Chun, U.H. e Rogers, P.L. (*Applied Microbiology and Biotechnology*, 29: 19-24, 1988) desenvolveram um processo no qual através da permeabilização da parede celular de culturas previamente desenvolvidas de *Zymomonas mobilis* com tolueno é possível impedir o metabolismo normal da bactéria, já que substâncias essenciais à formação de etanol são excretadas para o meio externo, permitindo o acúmulo de sorbitol e ácido glucônico pela ação sucessiva das enzimas glicose-frutose oxidoreductase e glucono- δ lactonase.

[0007] Rehr, B.; Wilhelm, C. e Sahm, H. (*Applied Microbiology and Biotechnology*, 35: 144-148, 1991) aplicaram o mesmo conceito, mas realizando

a permeabilização com detergentes. O referido processo foi patenteado em 1991 por Rehr, B. e Sahm, H. (US 5,102,795). Um processo semelhante, mas com permeabilização das células por técnica de congelamento, foi patenteada em 1991 por Bringer-Meyer, S. e Sahm, H. (US 5,017,485). Em todos estes casos o processo é realizado em quatro etapas: produção de células de *Zymomonas mobilis* com alta atividade em glicose-frutose-oxidoreductase, concentração destas células, permeabilização e biotransformação de solução de glicose e frutose em sorbitol e ácido glucônico ou gluconato, respectivamente.

[0008] A literatura patentária contempla também ainda outros documentos relacionados a processos de produção e recuperação de sorbitol. Embora nenhum dos documentos encontrados antecipe ou sequer sugira, ainda que indiretamente, o conceito inventivo da presente invenção, são aqui citados alguns documentos como referência.

[0009] O pedido de patente brasileiro PI 9403981-0, de um dos presentes inventores, proporciona um processo com células não permeabilizadas de *Zymomonas mobilis*, previamente obtidas e concentradas, em que o metabolismo normal da bactéria é evitado pelo emprego de altas concentrações iniciais de glicose e frutose no meio de biotransformação destes substratos em ácido glucônico e sorbitol. O referido processo foi posteriormente publicado por Silveira, M.M.; Wisbeck, E.; Lemmel, C.; Erzinger, G.S.; Lopes da Costa, J.P.; Bertasso, M. e Jonas, R. (Journal of Biotechnology, 75: 99-103, 1999).

[0010] O pedido de patente brasileiro PI 8607056-8 trata de um processo de fermentação de estágio único sob condições microaerofílicas (nenhum gás é adicionado ao fermentador e a superfície do meio de fermentação fica exposta à atmosfera) para a produção comercial de etanol com frutose ou sorbitol, a partir de materiais à base de sacarose ou misturas de glicose/frutose, utilizando-se cepas matrizes ou mutantes de *Zymomonas mobilis*.

[0011] A patente norte-americana US 4,755,467 se refere a um método para produção simultânea de sorbitol e gluconato ou gluconolactona a partir de

frutose e glicose. Para esse fim, a glicose e a frutose reagem em presença de um extrato de bactéria, quem contém o complexo enzimático glicose/frutose trans-hidrogenase, previamente isolado em sua forma pura. Essa reação é realizada sob condições nas quais o metabolismo do gluconato é substancialmente prevenido.

[0012] A patente japonesa JP 2109989 é relacionada à produção de ácido glucônico e sorbitol. Bactérias do gênero *Zymomonas* são cultivadas em um meio contendo, como fonte de carbono, sacarose e glicose e, como fonte de nitrogênio, xarope de milho, semente de algodão ou semente de soja. O cultivo é anaeróbio e conduzido de maneira usual. Depois, a mistura é reagida com glicose e frutose em meio aquoso, na presença de corpos celulares, onde a glicose é convertida quantitativamente em ácido glucônico ou seu sal e a frutose em sorbitol, simultaneamente. Esses produtos são então isolados da mistura de acordo com um método convencional.

[0013] A patente européia EP 0212517 é relacionada a um processo no qual misturas aquosas contendo glicose e frutose são fermentadas utilizando-se um mutante estável de *Zymomonas mobilis* que não fermenta a frutose, para resultar em uma mistura de frutose, sorbitol, glicose, etanol, CO₂ e ácido glucônico, mistura da qual o sorbitol pode ser isolado.

[0014] A patente alemã DE-258340, de 20/7/1988, descreve um processo de separação do meio fermentado de células microbianas não pertencentes ao gênero *Zymomonas*, e do gluconato por elas produzido. O processo se inicia pela floculação das células através da adição "gota-a-gota" de metanol 93% ao meio, sob agitação suave, e posterior separação das células. Em seguida, adiciona-se mais metanol 93% "gota-a-gota" até a precipitação de todo o gluconato. O processo é realizado entre 15° e 25° C.

[0015] Entretanto, ainda persiste a necessidade por processos industriais em larga escala para a produção de sorbitol e ácidos orgânicos e/ou seus sais.

[0016] O mecanismo de defesa antioxidante do organismo tem como principal função inibir ou reduzir os danos causados às células pelas espécies

reativas de oxigênio. Existe uma grande variedade de substâncias antioxidantes, as quais podem ser classificadas em extracelulares. O mecanismo de ação dos antioxidantes permite ainda classificá-los como antioxidantes de prevenção, que impedem a formação de radicais livres, varredores, que impedem o ataque de radicais livres às células, e de reparo, que favorecem a remoção de danos da molécula de DNA e a reconstituição das membranas celulares danificadas. Nesses mecanismos, vários micronutrientes desempenham papel importante, entre eles o zinco, que participa da estrutura da enzima superóxido dismutase, além de ser um potente estabilizador das membranas celulares e de proteínas estruturais. Apesar de serem encontrados no próprio corpo humano, em vegetais e em outros alimentos, níveis mais elevados de antioxidantes podem ser obtidos por suplementação oral ou por agentes aplicados topicamente. Para serem considerados biologicamente ativos, os produtos administrados por via oral devem ser absorvidos e causar um aumento nos níveis de antioxidantes na pele. Da mesma forma, os produtos administrados topicamente devem ser absorvidos pela pele e liberados para o tecido alvo na forma ativa. Entretanto, muitos produtos se oxidam e se tornam inativos antes mesmo de alcançarem o alvo. A absorção é um processo muito importante e depende de vários outros fatores, como a forma molecular do composto ativo, suas propriedades físico-químicas, se é solúvel em água ou em lipídeos, seu pH e o veículo que contém o produto.

[0017] Dentre os diversos ácidos orgânicos obtidos pelo processo da invenção, o ácido lactobiônico atua como um poderoso antioxidante e reduz o excesso de ferro na pele, reduzindo o dano potencial da oxidação. Ele é derivado da lactose, um açúcar do leite que ocorre naturalmente, e pode ser classificado como um poli-hidróxi-ácido complexo, com potentes propriedades antioxidantes e umectantes. O ácido lactobiônico atrai fortemente a água e se combina para produzir uma matriz de gel natural. A sua propriedade de formação de filme fornece maciez à pele. Ele é não-irritante, fornecendo

benefícios relacionados ao antienvhecimento e renovação das células da pele. Além disso, o ácido lactobiônico é de grande importância na área médica, já que, devido às suas propriedades quelantes, é utilizado como o componente mais importante na formulação de soluções de conservação de órgãos a serem transplantados, inibindo a formação de radicais livres e mantendo o tecido vivo por até 48 horas.

[0018] Também já é conhecido que o ácido lactobiônico pode ser precipitado de uma solução aquosa com a adição de 1 a 5 partes de etanol a 4°C (Murakami, H.; Seko, A.; Azumi, Ueshima, N.; Yoshizumi, H.; Nakano, H. e Kitahat, S., Journal of Applied Glycoscience, 50: 117-120, 2002). Entretanto, ainda persiste a necessidade por processos industriais em larga escala para a produção de ácido lactobiônico e/ou seus sais.

[0019] Dentre as diversas vantagens técnicas proporcionadas pela presente invenção, destaca-se o fato de proporcionar a produção simultânea e econômica de sorbitol e ácidos orgânicos ou seus sais por um processo utilizando enzimas e/ou células bacterianas do gênero *Zymomonas*, e sua separação e purificação por precipitação seletiva dos referidos ácidos orgânicos com solventes orgânicos comuns como etanol, metanol, ácido acético glacial etc. Além disso, uma outra grande vantagem da presente invenção reside no fato desse processo ser aplicável em escala industrial.

Sumário da Invenção

[0020] É um dos objetos da presente invenção, proporcionar um processo para produção de sorbitol e ácidos orgânicos ou seus sais, utilizando enzimas e/ou células íntegras ou inviabilizadas de bactérias do gênero *Zymomonas* e tendo etanol como subproduto.

[0021] Em um aspecto preferencial, sendo, portanto, outro dos objetos da presente invenção, o processo de produção de sorbitol e ácidos orgânicos ou seus sais da invenção compreende a contactação de enzimas e/ou células do gênero *Zymomonas* com uma solução contendo uma mistura de frutose

com pelo menos uma aldose selecionada do grupo que compreende: lactose, xilose, galactose, maltose, arabinose, manose, celobiose, ou ainda combinações das mesmas, para que as enzimas celulares convertam a frutose em sorbitol e a referida aldose em seu correspondente ácido orgânico ou seu sal.

[0022] Em um outro aspecto preferencial, sendo, portanto, outro dos objetos da presente invenção, o controle do metabolismo normal de produção de etanol de *Zymomonas mobilis* durante o processo de produção é efetuado pelo emprego de um teor inicial de carboidratos entre 550 e 750 gramas por litro e/ou através da permeabilização celular com CTAB.

[0023] Em um outro aspecto, a separação e/ou purificação do sorbitol e dos ácidos orgânicos do meio reacional são realizadas por precipitação com solventes orgânicos como o etanol, uma vez que o sorbitol é solúvel em etanol e os ácidos orgânicos e/ou seus sais são em geral praticamente insolúveis nesse solvente. É, portanto, também um outro objeto da presente invenção proporcionar a purificação de sorbitol e ácidos orgânicos ou seus sais por precipitação seletiva com solventes orgânicos. Em um aspecto preferencial, sendo, portanto, um dos objetos da presente invenção, a precipitação seletiva dos ácidos orgânicos ou seus sais é realizada com etanol, metanol ou ácido acético glacial.

[0024] Em um outro aspecto, sendo, portanto, ainda outro objeto da presente invenção, os processos para produção e recuperação de sorbitol e ácidos orgânicos ou seus sais são aplicáveis em escala industrial.

[0025] Em ainda um outro aspecto, sendo, portanto, ainda outro objeto da presente invenção, os ácidos orgânicos ou seus sais obtidos na presente invenção apresentam elevada concentração e pureza isomérica, sendo, portanto, utilizados vantajosamente em preparações cosmecêuticas e/ou nutracêuticas contendo os mesmos.

[0026] Estes e outros objetos da presente invenção serão melhor compreendidos e valorizados a partir da descrição detalhada da invenção e das reivindicações anexas.

Breve descrição das figuras

[0027] A Figura 1 mostra um esquema ilustrativo dos processos de produção e recuperação de sorbitol e ácidos orgânicos ou seus sais da invenção.

[0028] A Figura 2 mostra um esquema ilustrativo dos processos da invenção em que é mostrado o exemplo preferencial da produção de sorbitol e ácido lactobiônico ou lactobionato, tendo etanol como subproduto.

Descrição Detalhada da Invenção

[0029] Os presentes inventores desenvolveram processos nos quais misturas de frutose e pelo menos mais uma aldose podem ser convertidas em sorbitol e ácidos orgânicos ou seus sais, respectivamente, por enzimas e/ou células íntegras ou inviabilizadas de bactérias do gênero *Zymomonas*, livres ou imobilizadas em suportes sólidos, como alginatos ou outros. O processo da invenção compreende a contactação de enzimas e/ou células do gênero *Zymomonas* com uma solução contendo uma mistura de frutose com pelo menos uma aldose selecionada do grupo que compreende: lactose, xilose, galactose, maltose, arabinose, manose, celobiose, ou ainda combinações das mesmas, para que as enzimas celulares convertam a frutose em sorbitol e a referida aldose em seu correspondente ácido orgânico ou seu sal.

[0030] Dentre as diversas vantagens da presente invenção pode-se citar, exemplificativamente e de acordo com a concretização preferencial em questão:

- a) a produção de sorbitol e ácidos orgânicos – como, por exemplo, os ácidos lactobiônico, xilônico, galactônico e maltobiônico - ou seus sais, por um processo utilizando enzimas e/ou células bacterianas do gênero *Zymomonas* permeabilizadas ou não com solventes orgânicos ou detergentes;
- b) proporcionar um processo utilizando células de *Zymomonas* não

permeabilizadas em que é feito o controle do metabolismo normal de produção de etanol de *Zymomonas mobilis*, durante o processo de produção, pelo emprego de um teor inicial de carboidratos (frutose em combinação com lactose, xilose, galactose ou maltose) entre 550 e 750 gramas por litro;

c) a produção de sorbitol e destes mesmos ácidos orgânicos ou seus sais por um processo utilizando células bacterianas do gênero *Zymomonas* imobilizadas ou não em suportes sólidos como alginatos, k-carragena, poliuretano ou outros, com o fim de reaproveitamento das células;

d) a separação e purificação dos produtos, sorbitol e ácidos orgânicos ou seus sais, realizada por precipitação seletiva dos ácidos ou sais com solventes orgânicos comuns como o etanol, metanol, acetona ou ácido acético glacial;

e) o desenvolvimento de um processo aplicável à escala industrial.

[0031] Conforme será demonstrado em mais detalhes em um dos exemplos preferenciais da presente invenção - o do caso em que a aldose em questão é a lactose e o ácido orgânico obtido é o ácido lactobiônico e seu sal é o lactobionato - separação e purificação do sorbitol e do ácido orgânico ou seu sal do meio reacional são realizadas por precipitação com solventes orgânicos como o etanol. Neste exemplo preferencial, o sorbitol é solúvel em etanol e o ácido lactobiônico e/ou seus sais são praticamente insolúveis nesse solvente.

EXEMPLO 1 – Obtenção de sorbitol e ácido lactobiônico ou lactobionato

[0032] O processo da presente invenção emprega enzimas e/ou células do gênero *Zymomonas*, em especial da espécie *Zymomonas mobilis*. Tais células podem ser cultivadas em um meio aquoso contendo um ou mais carboidratos fermentáveis por esta bactéria, em especial glicose, sais e fontes de vitaminas, como extrato ou autolisado de levedura ou resíduos agroindustriais como farelos de soja ou arroz e milhocina. Concentrações de carboidrato até 250 gramas por litro são adequadas, em especial na faixa de 100

a 200 gramas por litro. A reação ocorre em temperaturas entre 15°C e 37°C e valores de pH entre 4 e 7,5, sendo preferíveis temperaturas entre 30°C e 35°C e valores de pH entre 5,0 e 6,0. Esta etapa do processo pode ser, alternativamente, executada sob vácuo de 250 mm Hg a 400 mm Hg, preferencialmente entre 350 mm Hg e 400 mm Hg. A alimentação da solução de carboidrato(s) pode ser feita em sua totalidade no início do processo ou parceladamente. Esta etapa pode ser realizada em regime descontínuo, e suas variações, semi-contínuo ou contínuo. A suspensão celular obtida, com concentrações entre 1 e 8 gramas por litro, é separada do caldo fermentado por centrifugação, sedimentação natural, precipitação com solventes orgânicos, filtração, filtração tangencial ou qualquer outro método usado para este fim, e ressuspensa em água ou solução tampão a concentrações entre 5 e 60 gramas por litro, preferencialmente entre 20-40 gramas por litro. O mosto ou caldo fermentado contém etanol em concentrações variáveis, dependendo do teor de carboidratos utilizado na etapa inicial. Este subproduto do processo de cultivo pode ser recuperado por destilação ou outro método.

[0033] O processo de produção de sorbitol e ácido lactobiônico ou lactobionato da presente concretização preferencial da invenção pode partir de células de *Zymomonas* já disponíveis, de enzimas purificadas, ou do cultivo descrito no parágrafo anterior. Neste último caso, a suspensão celular obtida pode opcionalmente ser exposta ao contato com solventes orgânicos como tolueno, ou detergentes, como o brometo de cetil-trimetil amônio, com o fim de inviabilizar, por permeabilização da parede celular, o metabolismo celular normal. Em seguida, a suspensão celular obtida, permeabilizada ou não, é colocada em contato com uma solução contendo uma mistura de lactose e frutose, com concentração de cada componente de até 1 mol por litro. Uma concentração de carboidratos de 0,7 mol por litro é preferível. A alimentação desta solução pode ser feita em sua totalidade no início do processo ou parceladamente. Esta etapa pode ser realizada em regime descontínuo, ou em suas variações, semi-contínuo ou contínuo.

[0034] Para a reutilização das células de *Zymomonas mobilis*, é conveniente a imobilização das células bacterianas em alginato, k-carragena, polímeros sintéticos ou outros suportes usados para esse fim. A reação se dá com temperaturas entre 15 e 50°C, em especial na faixa 30 a 39°C, e valores de pH entre 4 e 9, em especial na faixa 6,0 a 6,5. O pH é controlado pela adição de uma base, o que leva à obtenção do lactobionato, produto da neutralização do ácido lactobiônico pela base, que pode ser NaOH, KOH, NH₄OH, Ca(OH)₂ ou outra, em função do produto que se deseja obter.

[0035] Em processos empregando células de *Zymomonas mobilis* não imobilizadas, as células são separadas por centrifugação, filtração, sedimentação e floculação, com ou sem auxílio de adjuvantes, sendo a fase líquida recolhida. Em processos com células imobilizadas, o meio reacional não contém material sólido em suspensão. A fase líquida é concentrada por aquecimento e adiciona-se de 1 a 7 volumes de etanol (90-99% de pureza) sob agitação com temperaturas entre 4°C e 60°C. Desta forma, ocorre a precipitação do ácido lactobiônico ou lactobionato, que pode ser acelerada pela adição de semente de precipitação de, por exemplo, 0,01% da massa inicial de meio biotransformado. O lactobionato precipitado é separado por filtração sob vácuo, sob pressão, centrifugação ou outro processo de separação sólido-líquido, sendo o bolo obtido lavado com etanol (90-99% de pureza). A fase líquida obtida na separação do ácido lactobiônico ou lactobionato, contendo o sorbitol em uma solução etanol/água, é recolhida. O etanol e o excesso de água são evaporados sob vácuo em temperatura de 25°C a 80°C, obtendo-se uma solução aquosa de sorbitol isenta de etanol na concentração desejada.

EXEMPLO 2 – Obtenção de sorbitol e outros ácidos orgânicos ou seus sais

[0036] O processo do exemplo 1 foi também executado na presença de outras aldoses, alternativamente ao uso da lactose, sendo obtidos resultados equivalentes. Mais especificamente, foram também concretizados processos utilizando frutose em mistura com xilose, galactose ou maltose, resultando na

obtenção de sorbitol e ácido xilônico, galactônico ou maltobiônico, ou seus respectivos sais. Os processos do presente exemplo, portanto, compreenderam a contactação de enzimas e/ou células do gênero *Zymomonas* com uma solução contendo uma mistura de frutose com xilose, galactose ou maltose, de forma que as enzimas celulares converteram a frutose em sorbitol e a respectiva outra aldose em seu correspondente ácido orgânico ou seu sal. Os versados na arte imediatamente apreciarão que os processos da presente invenção são também aplicáveis à obtenção de outros ácidos orgânicos ou seus sais, desde que suas respectivas aldoses sejam passíveis de conversão no sistema enzimático GFOR, ou seja, processos que compreendam a contactação de enzimas e/ou células do gênero *Zymomonas* com uma solução contendo uma mistura de frutose com arabinose, manose ou celobiose, de forma que as enzimas celulares convertam a frutose em sorbitol e a respectiva outra aldose em seu correspondente ácido orgânico ou seu sal, neste caso, respectivamente, o ácido arabinônico, manônico ou celobiônico ou seus sais, arabinonato, manonato ou celobionato, respectivamente.

[0037] Os versados na arte valorizarão imediatamente os importantes benefícios decorrentes do uso da presente invenção, como a produção simultânea de sorbitol e ácidos orgânicos ou seus sais por um processo utilizando enzimas e/ou células bacterianas do gênero *Zymomonas* e sua separação e purificação por precipitação seletiva do ácido orgânico ou seu sal com solventes orgânicos comuns como etanol, metanol ou ácido acético glacial. Além disso, os processos da invenção são aplicáveis em escala industrial, sendo que os ácidos orgânicos ou seus sais obtidos apresentam elevada concentração e pureza isomérica, sendo, portanto, utilizados com vantagens sobre seus congêneres disponíveis, em preparações cosmecêuticas e/ou nutracêuticas contendo os mesmos. Variações na forma de concretizar o conceito inventivo aqui exemplificado devem ser compreendidas como dentro do espírito da invenção e das reivindicações anexas.

Reivindicações

1. Processo de produção de sorbitol e ácidos orgânicos ou seus sais **caracterizado por** compreender:

- a reação de catálise promovida por células do gênero *Zymomonas* não permeabilizadas em uma solução contendo uma mistura de frutose com uma aldose selecionada do grupo que consiste de: lactose, xilose, galactose, maltose, arabinose, manose, celobiose, ou combinações das mesmas, em que o teor inicial de carboidratos está entre 550 e 750 gramas por litro;

- a recuperação dos produtos da dita reação de catálise por precipitação com solventes orgânicos;

em que as ditas células estão na forma íntegra.

2. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que as referidas células são células de *Zymomonas mobilis*.

3. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 2, **caracterizado** pelo fato de as células de *Zymomonas* serem imobilizadas em suporte como alginato, k-carragena, polímeros sintéticos, combinações dos mesmos, ou ainda outro suporte usado para esse fim.

4. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, **caracterizado pelo fato de que** a referida aldose é a lactose, o referido ácido orgânico é o ácido lactobiônico e o seu sal é o lactobionato.

5. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, **caracterizado pelo fato de que** a referida reação de catálise promovida por células do gênero *Zymomonas* ser realizada em regime descontínuo, contínuo, semi-contínuo, ou combinações dos mesmos.

6. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, **caracterizado pelo fato de** a reação ser conduzida em temperaturas na faixa de 15°C a 50°C, preferencialmente na faixa de 30°C a 39°C.

7. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 6, **caracterizado pelo fato de** a reação ser conduzida em valores de pH na faixa de 4 a 9, preferencialmente na faixa de 6,0 a 6,5.

8. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, **caracterizado pelo fato de** o pH da reação ser controlado pela adição de uma base do grupo que consiste de NaOH, KOH, $\text{NH}_4(\text{OH})$ e $\text{Ca}(\text{OH})_2$, ou combinações dos mesmos.

9. Processo, de acordo com a reivindicação 3, **caracterizado por** adicionalmente compreender uma etapa de reutilização das células de *Zymomonas* imobilizadas, em alginato, k-carragena, polímeros sintéticos, combinações dos mesmos, ou ainda outro suporte usado para esse fim.

10. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, **caracterizado pelo fato de** adicionalmente compreender uma etapa de precipitação do referido ácido ou sal orgânico.

11. Processo, de acordo com a reivindicação 10, **caracterizado pelo fato de** que a referida etapa de precipitação do ácido ou sal orgânico é conduzida por centrifugação, filtração, sedimentação, floculação com ou sem adição de adjuvantes, ou combinações dos mesmos.

12. Processo, de acordo com a reivindicação 10, **caracterizado pelo fato de** que as referidas células são imobilizadas e a referida precipitação do ácido ou sal orgânico é conduzida pela concentração da fase líquida por aquecimento na faixa de temperatura entre 4°C e 60°C e adição de 1 a 7 volumes de etanol.

13. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 12, **caracterizado pelo fato de** o sal ou ácido orgânico ser separado por um processo de separação sólido/líquido, preferencialmente por filtração sob vácuo, filtração sob pressão ou centrifugação.

14. Processo, de acordo com a reivindicação 13, **caracterizado pelo fato de** o material sólido obtido ser lavado com etanol.

FIGURAS

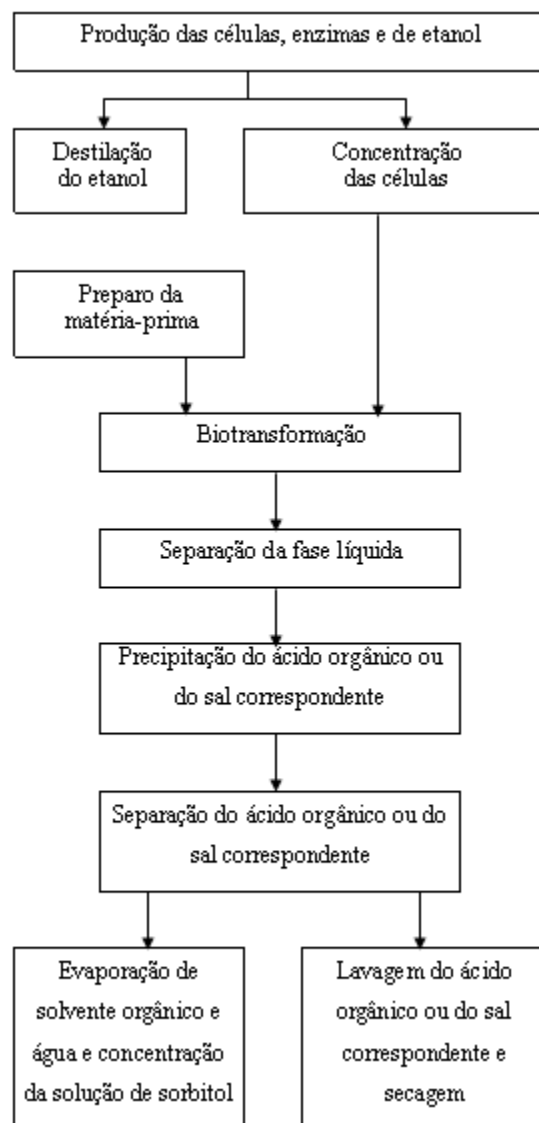


Figura 1

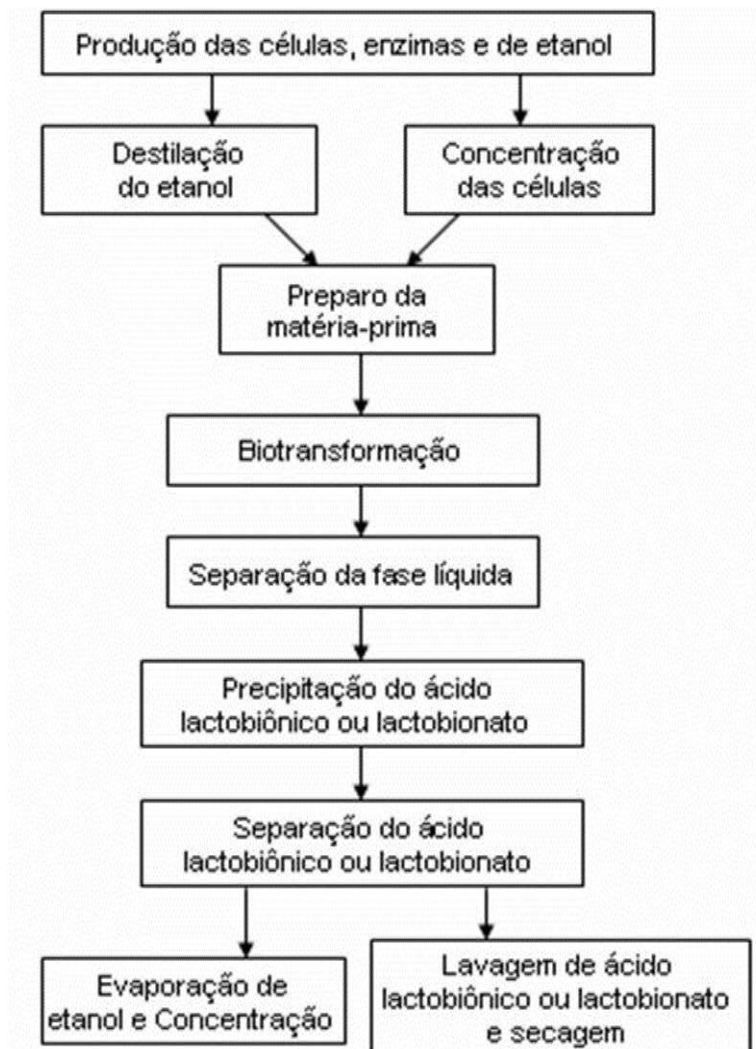


Figura 2