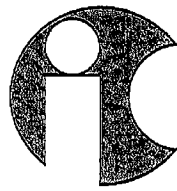


No. 14-136120-00000-0000

Fecha: 2014-06-24 16:40:08 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 2 PATENTES Eve: 1 REGDEPOSITO
Act. 411 PRESENTACION Folios: 43



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL

División de Nuevas Creaciones

**SOLICITUD
PATENTE DE INVENCION**

21. EXPEDIENTE No. _____

54. TÍTULO DE POLIHIDROXIALCANOATOS A PARTIR

DE JUGO Y MELADURA CLARIFICADOS DE CAÑA DE AZUCAR.

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL _____

71. SOLICITANTE INGENIO PROVIDENCIA S.A.

DOMICILIO VALLE DEL CAUCA, COLOMBIA

LUZ CLEMENCIA DE PAEZ

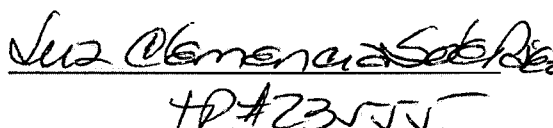
74. APODERADO C.C 35.456.344 de Usaquén

22. BOGOTÁ, D.C., _____

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	 No. 14-136120- -00000-0000 Fecha: 2014-06-24 16:40:08 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR Tra. 2 PATENTES Eve: 1 REGDEPOSITO Act. 411 PRESENTACION Folios: 43	Resumen de radicación
---	---	-----------------------

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES
SOLICITUD DE PATENTE - NACIONAL

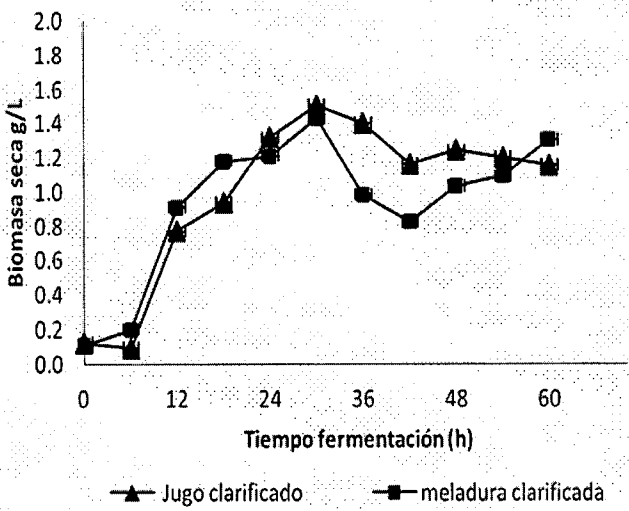
1	TIPO DE SOLICITUD	☒ Patente de invención		☐ Patente de Modelo de Utilidad	
2	TÍTULO DE LA INVENCIÓN			3	CIP Clasificación Internacional de Patentes
PRODUCCIÓN DE POLIHIDROXIALCANOATOS A PARTIR DE JUGO Y MELADURA CLARIFICADOS DE CAÑA DE AZUCAR.				C08K 005/000	
4	SOLICITANTE (S) ☐ Esta persona también es inventor. Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria				
APELLIDOS O RAZÓN SOCIAL		NOMBRE		IDENTIFICACIÓN	
INGENIO PROVIDENCIA S.A.					
5	DATOS DEL SOLICITANTE				
DIRECCIÓN		Carrera 9 # 28-103 Calí, Valle del Cauca, Colombia		No. TELÉFONO 3 47 36 11	
CIUDAD		Calí		CORREO ELECTRÓNICO clientes@cavelier.com	
DEPARTAMENTO/ESTADO		Valle del Cauca		NACIONALIDAD O LUGAR DE CONSTITUCIÓN Colombia	
PAÍS DE RESIDENCIA		Colombia			
6	INVENTOR (ES) Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria				
APELLIDOS		NOMBRES		NACIONALIDAD	
PARRADO SABOYA		Darly Silvana		colombiana	
DIRECCIÓN DE CORREO ELECTRÓNICO:					
7	DATOS INVENTOR (ES) Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria				
PAÍS RESIDENCIA		DEPARTAMENTO/ESTADO		CIUDAD	
Colombia		Valle del Cauca		Palmira	
				Calle 60 # 27ª – 18 torre 3 apto 304, Palmira, Valle del Cauca, Colombia	
OTRO(S) SOLICITANTE(S) Y/O (OTRO(S)) INVENTOR(ES)					
☐ Los demás solicitantes y/o (demás) inventores se indican en una hoja de información complementaria.					
8	☐ REPRESENTANTE LEGAL ☐ APODERADO				
APELLIDOS		NOMBRES		IDENTIFICACIÓN	
De Páez		Luz Clemencia		C.C. 35.456.34 T.P. 23.555	
DIRECCIÓN		Carrera 4ª No. 72-35		No. TELÉFONO 3 47 36 11	
CIUDAD		BOGOTA		CORREO ELECTRÓNICO cavelier@cavelier.com	
PAÍS		COLOMBIA		No. RADICACIÓN O PROTOCOLO DE PODER GENERAL	
9	DECLARACIONES DE PRIORIDAD ☐ SI ☐ NO				
(33) PAÍS DE ORIGEN		CÓDIGO PAÍS		(31) NÚMERO	
				(32) FECHA (AAAA/MM/DD)	

10	DECLARACIÓN SOBRE USO DE RECURSOS GENÉTICOS O BIOLÓGICOS			
<i>Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de recursos genéticos o biológicos de los que cualquiera de los países miembros de la Comunidad Andina es país de origen.</i>				
☐ SI ☐ NO				
Nota: En caso afirmativo deberá anexar copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, o certificado o número de registro, expedido por la Autoridad competente.				
11	DECLARACIÓN SOBRE USO DE CONOCIMIENTOS TRADICIONALES			
<i>Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de conocimientos tradicionales de comunidades indígenas, afroamericanas o locales de países miembros de la Comunidad Andina.</i>				
☐ SI ☐ NO				
Nota: En caso afirmativo deberá anexar la licencia o autorización de uso de conocimiento tradicional, o certificado o número de registro.				
12	REDUCCIÓN DE TASAS			
<i>Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de patente.</i>				
☐ SI ☐ NO				
Nota: En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos, y por lo tanto, aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento.				
Micro, pequeñas y medianas empresas ☐				
Universidades públicas o privadas ☐				
Entidades sin ánimo de lucro ☐				
Debe aportar los documentos que se indican en el numeral 17 de anexos				
13	AUTORIZACIÓN DE NOTIFICACIÓN EN LÍNEA ☐ SI ☐ NO			
Manifiesto que he leído y entendido perfectamente los términos y condiciones de uso de medios electrónicos para las notificaciones en línea a través de Internet de los actos administrativos proferidos por la Superintendencia de Industria y Comercio que deben ser notificados personalmente y, en consecuencia, autorizo el servicio de notificación a través de internet.				
14	PARA PUBLICAR A PARTIR DE LA FECHA DE PRESENTACIÓN O DE LA PRIORIDAD INVOCADA:		15	COMPROBANTE DE PAGO O PAGO ELECTRÓNICO
Si es Patente de Invención ☐ 6 meses ☐ 12 meses ☒ 18 meses ☐ Otro Cual:		Si es Patente de Modelo de Utilidad ☐ 6 meses ☐ 12 meses ☐ Otro Cual:	No. 14-0064188 Fecha: 2014/06/17	
16	FIRMA DEL SOLICITANTE, DEL APODERADO O DEL REPRESENTANTE LEGAL			
Junto a cada firma, indicar el nombre del firmante y su calidad (si tal calidad no es obvia al leer el petitorio)				
Nombre del Firmante LUZ CLEMENCIA DE PAEZ		Firma 		
C.C 35.456.344 de Usaquén		Tarjeta Profesional 23.555		

17	ANEXOS			
Documentación Técnica		Documentación Jurídica		
1.	☒ Descripción	N° de folios: 27	11.	☒ Poder de INGENIO PROVIDENCIA S.A.
2.	☒ Reivindicaciones	N° Reivindicaciones: 4	12.	☒ Documento que legalmente pruebe la cesión del inventor al solicitante o a su causante.
3.	☒ Dibujos y/o figuras	N° folios: 3	13.	☐ Copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, o certificado o número de registro, si fuera el caso.
4.	☒ Resumen.		14.	☐ Copia de la licencia o autorización de conocimientos tradicionales, o certificado o número de registro, si fuera el caso.
5.	☐ Documento de Prioridad.		15.	Reducción de tasas
6.	☐ Traducción del documento de prioridad.			Micro, pequeñas o medianas empresas
7.	☐ Certificado de depósito de material biológico si fuera el caso.			☐ Copia simple de la declaración de renta del año inmediatamente anterior, o en su defecto prueba documental idónea.
8.	☐ Listado de secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos en forma digital si fuera el caso.			☐ Documento de constancia de cumplimiento con lo establecido en la ley 905 de 2004.
9.	☒ Arte final 12 x 12.			Universidades públicas o privadas
10.	☐ Anexo formato digital.			☐ Copia acto de reconocimiento institucional emitido por el Ministerio de Educación
				Entidades sin ánimo de lucro
				☐ Copia de registro vigente en Cámara de comercio.
				☐ Hoja de información complementaria.
				☐ Otros, especificar
			16.	☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
			17.	☐ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad.
			18.	☐ Comprobante de pago de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación.
			19.	☐ Comprobante de pago por reivindicación adicional a 10.

FIGURA CARACTERISTICA

Figura 1.



PRODUCCIÓN DE POLIHIDROXIALCANOATOS A PARTIR DE JUGO Y MELADURA
CLARIFICADOS DE CAÑA DE AZÚCAR.

1. CAMPO DE LA INVENCION.

La presente invención se refiere a un proceso de producción de poliésteres biodegradables empleando microorganismos. En particular, la invención se encuentra relacionada con un proceso para obtener polihidroxiclcanoatos de tipo poli(3-hidroxibutirato) a partir de *Alcaligenes Latus*, empleando como fuente de carbono jugo y meladura clarificados de caña de azúcar. Los polihidroxiclcanoatos obtenidos a partir del proceso aquí descrito pueden ser usados como sustitutos de los poliésteres sintéticos en diferentes sectores, incluyendo los sectores alimentario, farmacéutico, médico, agrícola y otros.

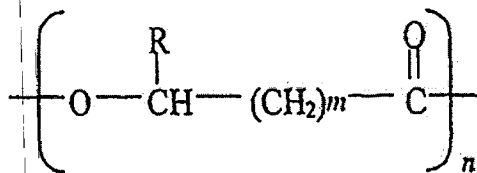
2. ANTECEDENTES DE LA INVENCION.

Los plásticos son materiales elaborados con resinas (polímeros) sintéticas y se producen generalmente a partir de recursos no renovables como el gas natural y el petróleo. Sin embargo, la degradación de los plásticos sintéticos es muy lenta y puede tardar 500 años. Una de las estrategias que se ha utilizado para la disposición de los plásticos derivados del petróleo es la incineración, pero la quema de plásticos es altamente contaminante generando efectos negativos tales como el incremento del CO₂ en la atmósfera, la liberación de compuestos químicos peligrosos como las dioxinas, el cloruro y el cianuro de hidrógeno. Otras estrategias son el reciclaje, la fotodegradación o el re-uso.

En el estado de la técnica se conocen plásticos amigables con el medio ambiente tales como los plásticos bacterianos (bioplásticos), entre los cuales están los PHAs (Polihidroxiclcanoatos). Estos polímeros son una alternativa para sustituir los plásticos sintéticos derivados del petróleo porque son biodegradables y se producen a partir de recursos renovables. Sin embargo, la mayor desventaja para la comercialización de los PHAs es su elevado costo de producción, debido especialmente a los altos precios de las materias primas como, por ejemplo, las

fuentes de carbono o energía para el crecimiento de los microorganismos, que los hacen poco competitivos comparados con los plásticos petroquímicos (Chen, 2009)¹.

Los PHAs son poliésteres biocompatibles (es decir, que no causan efectos tóxicos), naturales, renovables, biodegradables (Verlinden, et al., 2011)², los cuales son producidos por bacterias Gram positivas y Gram negativas, tales como *E. Coli*, *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus megaterium*, *Alcaligenes latus*, entre otras. Bajo condiciones de estrés microbiano los PHAs se acumulan intracelularmente en la forma de gránulos de reserva (Solaiman, et al., 2006)³. Al comparar las bacterias capaces de reservar PHAs con las que no producen PHAs, se ha demostrado que las bacterias que contienen reserva de PHA son capaces de sobrevivir y soportar más tiempo las condiciones adversas del medio, antes de iniciar su proceso de lisis celular (Chee, et al., 2010)⁴. Los PHAs son polímeros de ácidos hidroxialcanoicos (Figura 1), que algunas bacterias, arqueas y microalgas acumulan intracelularmente como material de reserva, para usarlo posteriormente como fuente de carbono y energía (Khanna and Srivastava, 2005).



Ácido hidroxialcanóico, monómero constitutivo de los PHAs

Los PHAs se dividen en tres grandes clases, de acuerdo al tamaño de monómeros así (Madison and Huisman, 1999)⁵:

¹Chen, James C. *Manual Del azúcar de Caña*, Noriega Editores, 1991.

² Verlinden, R. A., D. J. Hill, M. A. Kenward, C. D. Williams, Z. Piotrowska-Seget, and I. K. Radecka. 'Production of Polyhydroxyalkanoates from Waste Frying Oil by *Cupriavidus Necator*', *AMB Express* Vol. 1, No. 1, 11, 2011.

³Solaiman, D., R. Asbhy, T. Foglia, and W. Marmer. 'Conversion of Agricultural Feedstock and Coproducts into Polyhydroxyalkanoates', *Applied Microbiology & Biotechnology* Vol. 7, No. 6, 783-789, 2006.

⁴Chee, J., S. Yoga, N. Lau, S. Ling, M. Raeid, M. Abed, and K. Sudesh. 'Bacterially Produced Polyhydroxyalkanoate (Pha): Converting Renewable Resource into Bioplastics', *Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Biotechnology*, 1395-1404, 2010.

⁵Madison, L. L., and G. W. Huisman. 'Metabolic Engineering of Poly(3-Hydroxyalkanoates): From Dna to Plastic', *Microbiol Mol Biol Rev* Vol. 63, No. 1, 21-53, 1999.

1. Los PHAs de cadena corta que contienen hasta cinco átomos de carbono en su cadena principal, por sus siglas en ingles se denominan PHA_{SCL} (Hidroxyacids of Schort-Chain-Length);
2. Los PHAs de cadena media que contienen de 6-14 átomos de carbono en su cadena principal, por sus siglas en ingles se les conoce como PHA_{MCL} (Hidroxyacids of Medium-Chain-Length);
3. Los PHAs de cadena larga, con más de 14 átomos de carbono en su cadena principal, por sus siglas en ingles se les conoce como PHA_{LCL} (hidroxyacids of Long-Chain-Length).

Estas diferencias se deben principalmente a la especificidad por el sustrato de la enzima PHA sintasa, la cual puede aceptar 3HAs de un cierto rango de longitud de carbono (Anderson and Dawes, 1990)⁶. La PHA sintasa de *Alcaligenes eutrophus* puede polimerizar 3HAs de 3 a 5 átomos de carbono (Sharma, 2012)⁷.

El poli- β -hidroxibutirato (PHB) es uno de los PHAs más abundantes, y el más estudiado (Berlanga, et al., 2006)⁸, (Çetin, et al., 2006)⁹. Es un poliéster de almacenaje que se produce como cuerpo de inclusión insoluble en el citoplasma. Las propiedades físicas y químicas del PHB son similares a las del polipropileno, sin embargo, otros PHAs pueden tener subunidades de β -hidroxiácidos de cadena larga, ordenado de C₅ a C₁₀. La adición de un porcentaje pequeño de subunidades laterales de cadena larga dentro del PHB causa un incremento en la flexibilidad de estos copolímeros y en consecuencia, dicho polímero puede sustituir la mayoría de los termoplásticos (Page, et al., 1992)¹⁰.

⁶ Anderson, A.J., and E.A. Dawes. 'Occurrence, Metabolism, Metabolic Role, and industrial Uses of Bacterial Polyhydroxyalkanoates.', *Microbiol Rev* Vol. 54, No. 4, 450-472, 1990.

⁷ Wang, B., R. R. Sharma-Shivappa, J. W. Olson, and S. A. Khan. 'Upstream Process Optimization of Polyhydroxybutyrate (Phb) by *Alcaligenes Latus* Using Two-Stage Batch and Fed-Batch Fermentation Strategies', *Bioprocess Biosyst Eng* Vol. 35, No. 9, 1591-602, 2012

⁸ Berlanga, M., M. Montero, J. Hernández, and R. Guerrero. 'Rapid Spectrofluorometric Screening of Poly-Hydroxyalkanoate Producing Bacteria from Microbial Mats', *International Microbiology* Vol. 9, 95-102, 2006.

⁹ Çetin, D., U. Gündüz, I. Eroglu, M. Yücel, and L. Türker. 'Poly-B-Hydroxybutyrate Accumulation and Releasing by Hydrogen Producing Bacteria, *Rhodobacter Sphaeroides* O.U.001. A Transmission Electron Microscopic Study', *African Journal Biotechnology* Vol. 5, No. 22, 2006

¹⁰ Page, W.J., J. Mañchak, and R. Brent. 'Formation of Poly(B-Hydroxybutyrate-Co Hydroxyvalerate) by *Azotobacter Vinelandii* Uwd.', *Applied Microbiology Biotechnology* Vol. 48, 88-93, 1992.

Los gránulos de PHA son producidos intracelularmente por más de 300 bacterias diferentes incluyendo *Eubacterias* y *Archeas*, sin embargo solamente unas pocas bacterias han sido empleadas para la biosíntesis de PHAs. Estas incluyen *Alcaligenes latus*, *Bacillus megaterium*, *Cupriavidus necator* y *Pseudomonas eleovorans*, *Azotobacter vinelandii*, *E. coli* recombinante (Chee, et al., 2010) y *Cupriavidus necator* antes denominado *Ralstonia eutropha*. En particular, *Ralstonia eutropha* junto con *Alcaligenes latus* producen un PHA de cadena corta como el P(3HBco3HV) (Brigham, et al., 2011)¹¹, *Pseudomonas putida* y *Pseudomonas mendocina* sintetizan el poli (3-hidroxihexanoato-co-3 hidroxioctanoato) un PHA de cadena media (Brigham et al., 2010) y *Cupriavidus necator* produce el polihidroxibutirato (PHB) el cual es un PHA de cadena larga (Akaraonye, et al., 2010)¹². Estas bacterias productoras de PHA usan estos polímeros como material de reserva que puede ser utilizado posteriormente, bajo condiciones de limitación de nutrientes, para mantener su metabolismo (Lee, et al., 1999)¹³. En términos generales, entre los diversos microorganismos extensamente estudiados, la producción microbiana de PHB se ha llevado a cabo principalmente por la bacteria *R. eutropha* y *A. latus* (Grothe et al., 2000)¹⁴.

El microorganismo de elección para la producción industrial de PHA varía en función de varios factores, los cuales pueden incluir la capacidad de la célula para utilizar una fuente de carbono de bajo costo (residuos agrícolas y subproductos industriales), el costo del medio, la tasa de crecimiento, la tasa de síntesis del polímero, la calidad y cantidad de los PHA, y el costo de los procesos posteriores (Chakraborty, et al., 2012)¹⁵.

¹¹ Brigham, C., K. Kurosawa, C. Rha, and A. Sinskey. 'Bacterial Carbon Storage to Added Products.', *Microbial & Biochemical Technology* Vol. S3, 2011.

¹² Akaraonye, E., T. Keshavarz, and I. Roy. 'Production of Polyhydroxyalkanoates: The Future Green Materials of Choice', *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* Vol. 85, No. 6, 732-743, 2010.

¹³ Lee, S. Y., J. Choi, and H. H. Wong. 'Recent Advances in Polyhydroxyalkanoate Production by Bacterial Fermentation: Mini-Review', *Int J Biol Macromol* Vol. 25, No. 1-3, 31-6, 1999.

¹⁴ Grothe, E., and Y. Chisti. 'Poly(B-Hydroxybutyric Acid) Thermoplastic Production by *Alcaligenes Latus*: Behavior of Fed-Batch Cultures', *Bioprocess Engineering* Vol. 22, 441-449, 2000.

¹⁵ Chakraborty, P., K. Muthukumarappan, and W. Gibbons. 'Pha Productivity and Yield of *Ralstonia Eutropha* When Intermittently or Continuously Fed a Mixture of Short Chain Fatty Acids', *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2012.

a

Los PHAs han sido producidos a gran escala mediante cultivo puro del microorganismo *Cupriavidus necator* en fermentación Fed-batch usando glucosa como fuente de nutrientes más sin embargo, los costos de producción no son competitivos con los de los plásticos derivados del petróleo (Budde, et al., 2011)¹⁶. Por lo tanto, para reducir el costo de producción de biopolímeros tales como el polihidroxibutirato P(3HB), se requiere el uso de fuentes de carbono económicas y suplementos nutricionales con estrategias de alimentación de sustrato (Sharifzadeh, et al., 2009)¹⁷.

Ahora bien, procesos que emplean bacterias productoras de polihidroxialcanoatos para la obtención de dichos polímeros a escala industrial, son mencionados en las patentes WO2013072723 y US8618245. En particular, en la solicitud de patente WO2013072723 se divulga un proceso para producir copolímeros de hidroxialcanoato en el cual se emplea como fuente de carbono materia prima que contiene sacarosa obtenida a partir de la transformación de las materias primas vegetales orgánicas, tales como jugo de frutas, melaza de caña de azúcar, pulpa de remolacha, melaza de remolacha azucarera, y similares. No obstante, en dichos procesos se hace un pre-tratamiento de la materia prima el cual consiste en una hidrólisis ácida y térmica para lograr desdoblar la molécula de sacarosa en glucosa y fructosa y el microorganismo empleado es *Ralstonia eutropha*, que solamente consume los monosacáridos glucosa y fructosa y no puede consumir la sacarosa directamente. Además, la hidrólisis térmica o química de los materiales azucarados derivados de la caña de azúcar puede generar unas sustancias denominadas furfurales los cuales junto con los ácidos orgánicos presentes en estas materias primas como ácido láctico y acético pueden llevar a la inhibición parcial o total de la bacteria empleada en la producción de PHB.

Asimismo, la solicitud de patente US8618245 se refiere a un proceso de obtención de polímeros biodegradables a partir de un residuo cítrico resultante del procesamiento de zumo de naranja y

¹⁶ Budde, C. F., S. L. Riedel, F. Hubner, S. Risch, M. K. Popovic, C. Rha, and A. J. Sinskey. 'Growth and Polyhydroxybutyrate Production by *Ralstonia Eutropha* in Emulsified Plant Oil Medium', *Appl Microbiol Biotechnol* Vol. 89, No. 5, 1611-9, 2011.

¹⁷ Sharifzadeh, B., G. Najafpour, H. Younesi, F. Tabandeh, and H. Eisazadeh. 'poly(3-Hydroxybutyrate) Synthesis by *Cupriavidus Necator* Dsmz 545 Utilizing Various Carbon Source. ', *World Applied Sciences Journals* Vol. 7, No. 2, 157-161, 2009.

10

los polímeros obtenidos son poliésteres clasificados como polihidroxialcanoatos incluyendo, entre ellos, el poli (3-hidroxibutirato) y poli (3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato). Sin embargo, en el proceso aquí descrito es necesario realizar una hidrólisis a los residuos cítricos para lograr liberar los azúcares y permitir que el microorganismo los pueda consumir.

Asimismo, existen patentes relacionadas con microorganismos genéticamente modificados para aumentar la producción de PHAs. En particular, la solicitud de patente No. WO1999/14313, divulga sistemas biológicos para la producción de polihidroxialcanoatos empleando un gen que codifica una 4-hidroxibutiril-Co transferasa aislada e integrada en el genoma de bacterias. De esta manera, se obtiene un proceso de producción mejorado para 4HB-que contienen polihidroxialcanoatos usando organismos transgénicos, incluyendo tanto bacterias y plantas. Igualmente, la solicitud de patente No. WO2012166822A2 también se refiere a un proceso que emplea microorganismos genéticamente modificados para producir polihidroxialcanoatos (PHA) a partir de corrientes de materias primas a base de agua, que pueden ser suspensiones heterogéneas.

Además, la producción de PHAs a partir de residuos de la agricultura y del procesamiento de alimentos, es un enfoque atractivo no solo por la disminución de los costos de producción de los PHAs sino también para el aprovechamiento de estos residuos (Farah, et al., 2011). Actualmente existe la opción de utilizar poli (3 hidroxibutirato) (P (3HB), y poli (3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato) (P (3HBco3HV)), PHAs producidos por fermentación (González, et al., 2013)¹⁸. Por esta razón en esta invención se usaron como sustratos alternativos, el jugo y meladura clarificados de caña de azúcar para la producción de polihidroxialcanoato (PHA) en fermentaciones discontinuas (batch) empleando la bacteria *Alcaligenes latus*.

En la actualidad, la producción de bioplásticos ha venido presentando un aumento a nivel mundial por sus implicaciones

¹⁸ González, Yolanda., Jesús. Cordová, Orfil. González, and Juan. Meza. 'Síntesis y Biodegradación De Polihidroxialcanoatos: Plásticos De Origen Microbiano', *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* Vol. 29, 39, 2013.

positivas para el medio ambiente como sustituto de los plásticos convencionales. Las materias primas que en principio se han utilizado como sustrato para la producción de los bioplásticos, son azúcares convencionales que presentan limitaciones por su alto costo, por lo cual se contempla como alternativa la producción de estos por fermentación bacteriana, empleando sustratos más económicos que resultan de actividades agroindustriales.

Ahora bien, si bien en el estado de técnica se han buscado soluciones al problema técnico planteado en la presente solicitud, el cual es obtener PHA's empleando fuentes de carbono alternativas que resulten de actividades agro industriales, en el arte previo no se conoce un proceso con el cual se obtenga PHA's y preferiblemente polihidroxibutiratos, empleando jugo y meladura clarificados de caña de azúcar resultantes de actividades agroindustriales (derivados de la producción de caña de azúcar) como fuente de carbono (materia prima) y en el cual no sea necesario realizar un pre-tratamiento de la materia prima, es decir, en el cual no sea necesario realizar una hidrólisis ácida y térmica para lograr desdoblar la molécula de sacarosa en glucosa y fructosa.

En particular, es relevante mencionar que ninguna de las anterioridades señaladas reporta resultados experimentales que demuestren el efecto que tiene emplear un jugo o meladura clarificados específico para la obtención de polihidroxibutiratos a partir de *Alcaligenes latus* y/o enseñan o sugieren el método con el cual son obtenidos dichos polihidroxibutiratos. Por el contrario, en la presente solicitud se especifican las características del jugo y meladura clarificados que permiten obtener polihidroxibutiratos sin la necesidad de someterlas a ningún tipo de pre-tratamiento empleando la bacteria *Algaligenes latus*. De tal manera que, la efectividad del proceso objeto de protección para la producción de polihidroxibutiratos ha podido ser demostrada como se indicará más adelante en los ejemplos.

3. DESCRIPCIÓN GENERAL DE LA INVENCION.

Según los problemas que se han logrado identificar en el estado de la técnica, la presente solicitud proporciona un proceso para la

producción de polihidroxialcanoato empleando la bacteria *Alcaligenes latus* junto con jugo y meladura clarificados de caña de azúcar como fuente de carbono de las mismas, en el cual no es necesario realizar una etapa de pre-tratamiento de la fuente de carbono y que presenta un buen rendimiento de conversión sustrato-producto.

En particular, la presente invención se refiere a un procedimiento de producción de polihidroxialcanoatos (PHA) a partir de jugo y meladura clarificados de caña de azúcar que resulta del procesamiento de la caña de azúcar.

El procedimiento comprende las siguientes etapas:

1. Obtener jugo y meladura clarificados de caña de azúcar;
2. Preparar el medio de cultivo para la producción de PHA;
3. Realizar el procedimiento de cultivo (fermentación);
4. Recuperar la biomasa celular;
5. Extraer el PHA producido.

En el estado de la técnica se conocen varios procesos para la producción de poliésteres biodegradables empleando microorganismos y en particular bacterias que acumulan intracelularmente los polihidroxialcanoatos como material de reserva.

No obstante, la presente invención ilustra un proceso novedoso mediante el cual se emplea como fuente de carbono de la bacteria *Algaligenes latus*, meladura y jugo clarificados de caña de azúcar, con el fin de obtener polihidroxibutiratos que puedan ser usados como sustitutos de los poliésteres sintéticos en diferentes sectores, incluyendo los sectores alimentario, farmacéutico, médico, agrícola y otros.

Entre las ventajas que ofrece la presente invención en relación al estado de la técnica se encuentran las siguientes: la obtención de polímeros biodegradables que se producen a partir de recursos

renovables, la posibilidad de emplear como materias primas productos derivados de la producción de caña de azúcar, la obtención de polihidroxibutiratos empleando microorganismos existentes en la naturaleza sin modificación genética alguna, la no necesidad de emplear una etapa de pre-tratamiento para la fuente de carbono empleada para la bacteria *Alcaligenes latus*, y un alto rendimiento de conversión sustrato-producto.

4. DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION.

La presente invención se refiere a un proceso de producción de PHA, a partir materias primas derivadas de la fabricación del azúcar de caña.

4.1 Obtención del Jugo clarificado y de la meladura clarificada

Para la obtención del jugo clarificado y de la meladura clarificada, se siguen las siguientes etapas:

La caña que llega del campo, es pesada y enviada a procesamiento a escala industrial. Posteriormente, se pesa y se dispone en las mesas de caña, para ser llevada a un molino (Fulton, USA). Antes de llegar al molino, la caña se prepara en una desfibradora (Dedini, Brasil) para facilitar la extracción del jugo. La caña preparada llega al molino donde se extrae el jugo para la posterior elaboración de azúcar.

Seguidamente, la caña se muele en seis molinos de cuatro mazas (Fulton, USA), accionados por motores eléctricos y variadores de velocidad. El jugo extraído en los molinos se pesa (Fletcher, USA). Posteriormente, el jugo es sometido a un proceso de blanqueo el cual consiste en adicionar sulfito y luego cal para neutralizar su acidez y ayudar en la separación de los sólidos presentes. Después de adicionarle cal, el jugo se calienta para acelerar la separación de los sólidos no azúcares.

Al jugo caliente se le adiciona floculante y se envía a los clarificadores, donde se logra la separación de los sólidos disueltos, los cuales se precipitan formando un lodo conocido como

1a

cachaza. El jugo que sale de los clarificadores limpio y brillante, se le conoce como jugo clarificado.

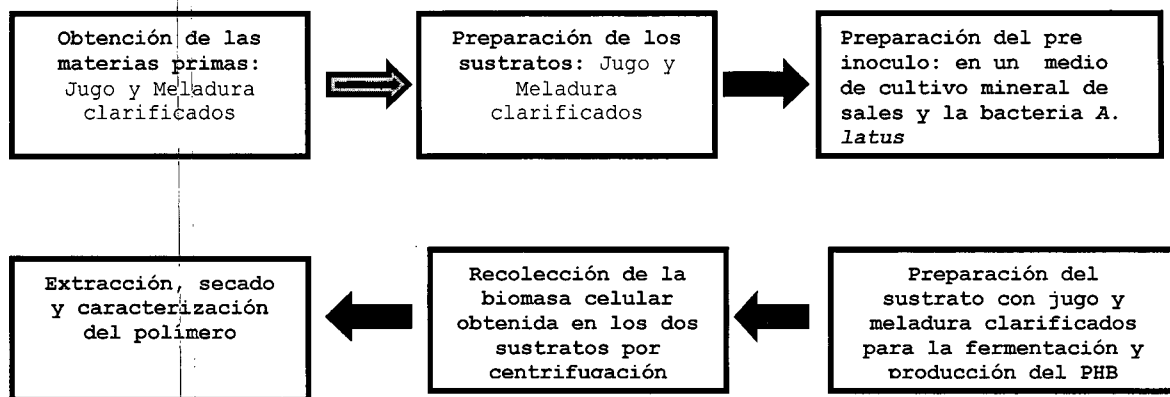
De otro lado, para obtener meladura clarificada (también conocida como jarabe), el jugo clarificado se concentra desde 15°Brix hasta 65°Brix, utilizando un evaporador tipo Roberts. De la meladura que sale de los evaporadores se separan los sólidos, para obtener un material más claro y brillante mediante clarificación, donde la meladura se mezcla con ácido fosfórico, cal y floculante, y posteriormente se envía al clarificador de meladura, donde se le inyecta aire en pequeñas partículas que hacen flotar los sólidos en forma de espuma. Para obtener la meladura clarificada, se toma el material descrito y se mezcla con la cachaza que sale de los clarificadores.

Los sustratos alternativos, jugo y meladura clarificados, fueron analizados en cuanto a su contenido de macro y micronutrientes.

4.2 Obtención de PHA a partir de jugo y meladura clarificados de caña de azúcar

El proceso de producción de PHA a partir de un jugo y meladura clarificados de caña de azúcar, comprende las siguientes etapas:

- a. Obtener jugo y meladura clarificados de caña de azúcar;
- b. Preparar el medio de cultivo para la producción de PHA;
- c. Realizar el procedimiento de cultivo (fermentación);
- d. Recuperar la biomasa celular;
- e. Extraer el PHA producido.



Para la preparación del jugo y meladura clarificados de caña de azúcar, se tomaron muestras de meladura y jugo clarificado de la fábrica de azúcar de Ingenio Providencia S.A. (Colombia). A estas muestras se les realizó la determinación de los azúcares fermentables por medio de cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC), se les determinó la concentración de nitrógeno por medio del método de amino-nitrógeno libre (ANL), obteniendo así la cantidad de sulfato de amonio (fuente de nitrógeno empleada) que se debía adicionar a los medios de cultivo de jugo y meladura clarificados de caña de azúcar, para ajustar la relación C/N en 28:1, el pH de cada medio de cultivo fue ajustado entre 6,5 - 7 (Mettler Toledo, Suiza) con ácido clorhídrico 1N o hidróxido de sodio 1N.

Luego de la adición de la fuente de nitrógeno, los medios de cultivo se deben someter a un proceso de esterilización con el fin de eliminar todo tipo de microorganismos allí presentes. Esta esterilización se realiza a 121°C durante 15 minutos.

El medio de cultivo usado en el procedimiento biotecnológico descrito en la presente invención debe comprender un contenido inicial de azúcares fermentables de 20 g.l⁻¹. Para efectuar el procedimiento biotecnológico, se pueden usar microorganismos pertenecientes a diferentes grupos taxonómicos: *Azotobacter*, microorganismos metilotróficos, *Alcaligenes*, *Pseudomonas*, *Burkholderia* además de *Escherichia coli* recombinante. Preferentemente los microorganismos usados en la presente invención se seleccionan entre *Alcaligenes latus*, *Pseudomonas oleovorans*, *Azobacter vinelandii*, *Bacillus cereus*, *Burkholderia sacchari* y *Escherichia coli* recombinante. Incluso más preferentemente, el procedimiento biotecnológico de la presente invención se realiza mediante el uso de *Alcaligenes latus*.

Para que el procedimiento biotecnológico sea satisfactorio, tanto en la producción de microorganismos como en la producción de polímero, es necesario un inóculo previo. El inóculo previo debe ser ejecutado preferentemente por medio de la propagación del microorganismo *Alcaligenes latus* en medio de cultivo que contenga un medio mineral de sales (20 g.l⁻¹ sacarosa, 1,4 g.l⁻¹ (NH₄)₂ SO₄, 1.5 g.l⁻¹ KH₂PO₄, 3.6 g.l⁻¹ Na₂HPO₄.12H₂O, 0.2 g.l⁻¹ MgSO₄.7H₂O y 1 ml/l de solución de elementos traza (TES) que contiene: Citrato férrico (III) de amonio 60 g.l⁻¹, CaCl₂.2 H₂O 10 g.l⁻¹, H₃BO₃ 0.3 g.l⁻¹, CoCl₂.6H₂O 0.2 g.l⁻¹, ZnSO₄.7 H₂O 0.1 g.l⁻¹, MnCl₂.4 H₂O 0.03 g.l⁻¹, Na₂MoO₄.2H₂O 0.03 g.l⁻¹, NiSO₄.7 H₂O 0.02 g.l⁻¹, CuSO₄.5H₂O 0.01 g.l⁻¹). Este inóculo previo es mantenido en un agitador rotatorio a una temperatura, rotación y tiempo compatibles con el procedimiento. Preferentemente, el primer inóculo previo es mantenido a 33°C bajo agitación de 200 rpm durante 48 h. Seguidamente, un 10% (100 ml) del volumen final (1000 ml) que va a ser usado en el procedimiento de cultivo es transferido desde el inóculo previo hasta el medio de cultivo que se caracteriza por contener el jugo y la meladura clarificados de caña de azúcar ajustados a la concentración de azúcar fermentable descrito anteriormente y adicionando el sulfato de amonio antes de la esterilización del medio de cultivo (fuente de nitrógeno de fácil asimilación para *Alcaligenes latus*) para el crecimiento y la producción de PHA del microorganismo.

El procedimiento biotecnológico para la producción de PHA de la presente invención se puede realizar por medio del procedimiento del cultivo discontinuo o en un procedimiento de cultivo de alimentación discontinua. El procedimiento de la presente invención comprende la obtención de un crecimiento celular óptimo y a su vez de la producción de PHA. El procedimiento de cultivo se realiza a una temperatura de 33°C y durante el procedimiento de cultivo, el PH se sostiene entre 6.5 y 7.0 y el medio de cultivo es agitado a una velocidad de 200 rpm. La recuperación del polímero (PHA) se puede realizar por métodos diferentes compatibles con el procedimiento de cultivo de la invención. Estos métodos incluyen la separación del material celular que contiene el polímero seguido de un procedimiento de extracción. La separación del material se realiza al final de la fermentación donde todo el medio de cultivo es llevado a centrifugación a 6000 rpm por 20 minutos, el sobrenadante es usado para determinar los

17

análisis fisicoquímicos del consumo de sustrato por HPLC y la biomasa obtenida se lava con agua para retirar los residuos de las sales del medio de cultivo. Posteriormente, se procede a realizar la extracción preparando una solución de 12.5 ml de hipoclorito de sodio 30% (v/v) y 12.5 ml cloroformo y dicha solución se mezcla con 1 g de biomasa fresca y se centrifuga (Labnet Hermle Z 200 A, Alemania) en tubos plásticos eppendorf de 50 ml durante 20 min a 3000 rpm y se mantiene en baño maría a 30°C (Memert, Alemania) por 90 min. A continuación se centrifuga (Labnet Hermle Z 200 A, Alemania) la mezcla durante 15 min a 4000 rpm. Como resultado de lo anterior, se observa la formación de 3 fases: en la parte superior se encuentra el hipoclorito, la fase del medio contiene el resto de las células y la fase inferior es el PHB con el cloroformo, la cual se toma con una pipeta cuidadosamente. Para la separación del cloroformo y el PHB, este último se precipita usando metanol y agua en una relación de 7:3 (v/v) y se filtra. Posteriormente, en una campana de extracción se coloca la mezcla y se deja durante 48 h, para volatilizar el exceso de disolvente (metanol). Finalmente, el pellet de PHB se pesa y se estima el rendimiento de PHB por biomasa producida.

5. BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

En la figura 1 se muestra una comparación de la producción de biomasa seca (g.l^{-1}) en los sustratos alternativos (jugo y meladura clarificados) durante el tiempo de fermentación.

En el jugo caña de azúcar la mayor producción de biomasa se presentó en un tiempo de 30 horas de fermentación (1.50 g.l^{-1}) y en la meladura clarificada la mayor producción se logró a las 30 horas de fermentación 1.42 g.l^{-1} (Figura 1).

Como se observa a continuación en la tabla 1, el análisis estadístico de las medias de mínimos cuadrados entre los tratamientos muestra que entre el sustrato jugo clarificado y meladura clarificada no hay diferencia estadísticamente representativa (estadístico $\text{Pr} > |t|$ ($0.9581 > 0.1$)).

Tabla 1. Resultado de las medias de mínimos cuadros para los tratamientos jugo clarificado y meladura clarificada en la producción de biomasa seca (g.l⁻¹).

Diferencias de trat medias de mínimos cuadrados						
trat	_trat	Estimate	Error estándar	DF	Valor t	Pr > t
JCLA	MCLA	-0.06445	1.1896	8.439	-0.05	0.9581

En la figura 2 se muestran el de sustrato (azúcar fermentable) (g.l⁻¹) en los sustratos alternativos (jugo y meladura clarificados de caña de azúcar) durante el tiempo de fermentación.

En dicha figura se observa que el consumo del sustrato jugo y meladura clarificados, el mayor porcentaje de consumo se presentó a las 60 horas de fermentación con 62.4% y 70% respectivamente.

En la tabla 2 se muestra que no hay diferencia estadísticamente significativa en el consumo del sustrato jugo y meladura clarificados.

Tabla 2. Medias de mínimos cuadros para los tratamientos jugo clarificado, meladura clarificada y sustrato comercial en el consumo del sustrato (g.l⁻¹).

Medias de mínimos cuadrados por tratamiento					
Trat	Estimador	Error estándar	DF	Valor t	Pr > t
JCLA	15.3679	0.5183	8.047	29.65	<.0001
MCLA	15.0967	0.5183	8.047	29.13	<.0001

En la figura 3 se muestra el comportamiento del nitrógeno en los sustratos evaluados durante la fermentación. En esta figura se observa que la fuente de nitrógeno se consumió el 100% a las 54 horas en el caldo meladura mientras que en el caldo jugo clarificado se tuvo un consumo del 96% a las 60 horas de fermentación.

En el análisis estadístico realizado para el consumo de nitrógeno se pudo evidenciar que entre el jugo clarificado y la meladura

clarificada no hay diferencia estadísticamente significativa ($Pr > |t|$) ($<0.0001 < 0.0001$) como se muestra en la tabla 3.

Tabla 3. Medias de mínimos cuadrados para los tratamientos jugo clarificado y meladura clarificada en el consumo del nitrógeno (ppm).

Medias de mínimos cuadrados por tratamientos					
trat	Estimador	Error estándar	DF	Valor t	Pr > t
JCLA	38.7879	1.3683	22.88	28.35	<.0001
MCLA	33.8182	1.3683	22.88	24.72	<.0001

En la figura 4 se muestra la curva patrón de peso seco.

En la figura 5 se muestra el espectro de espectroscopia infrarroja (FT-IR) del polímero obtenido en el sustrato alternativo meladura clarificada.

En la figura 6 se muestra el espectro de espectroscopia infrarroja (FT-IR) del polímero obtenido en el sustrato alternativo jugo clarificado.

6. EJEMPLOS.

Se debe mencionar que la presente invención puede ser llevada a cabo por una persona medianamente versada en la materia, con base en sus conocimientos y de acuerdo con los ejemplos que se presentan a continuación.

Los siguientes ejemplos ilustran la presente invención. Sin embargo debe entenderse que éstos no son limitativos, de acuerdo con el conocimiento de una persona medianamente versada en la materia.

Abreviaturas.

- PHA: Polihidroxicanoato
- PHB: polihidroxibutirato

Y_{p/x}: Rendimiento de biomasa
Y_{p/s}: Rendimiento de sustrato
Y_{x/s}: Rendimiento de biomasa sustrato
ATR-FTIR: Espectroscopia infrarroja
%p/v: Porcentaje peso volumen
Ppm: Partes por millón
DO: densidad óptica
DCW: peso de biomasa seca
AF: Concentración final de azúcares fermentables
Sustratos alternativos: Jugo y meladura de caña de azúcar clarificado

Microorganismo y mantenimiento

Se utilizó *Alcaligenes latus* obtenida de la American Type Culture Collection como cultivo liofilizado. La cepa se reconstituyó y fue preservada en viales con caldo mineral de sales a -196°C. El banco de trabajo se realizó manteniendo el cultivo en slant con medio mineral de sales a 4°C.

EJEMPLO 1. ESPECIFICACIONES DEL JUGO Y MELADURA CLARIFICADOS.

Para la producción de polihidroxibutirato empleando *Algaligenes latus*, se utiliza jugo clarificado de caña de azúcar con las especificaciones que se ilustran en la tabla 4.

Tabla 4. Caracterización fisicoquímica del jugo y la meladura clarificada de caña de azúcar

	Características Físico-químicas y Nutricionales	Meladura Clarificada	Jugo Clarificado
	°Brix	61.301	14.94
	Pureza (%)	86.043	86.4
	Azúcar fermentable (%)	58.018	13.54
	Acidez Volátil (ppm)	1277	306
	Acidez Láctica (ppm)	750	100
	pH	6.13	6.78

	Amino nitrógeno libre (ANL) (ppm)	383	45
Macronutrientes (%)	N- Total	0.14	0.033
	P ₂ O ₅	0.02	0.023
	CaO	0.51	0.41
	MgO	0.43	0.38
	K ₂ O	0.44	0.37
	Na ₂ O	0.07	0.07
	S	0.29	0.15
Micronutrientes (ppm)	B	10.19	14.72
	Cu	6.98	5.39
	Fe	88.08	105.5
	Mn	22.19	16.86
	Zn	13.19	12.36

EJEMPLO 2. RENDIMIENTO DE BIOMASA Y RENDIMIENTO DE PRODUCTO SUSTRATO.

Se realizaron fermentaciones aeróbicas, tipo batch, (33°C, 200 rpm, pH = 6.5-7, por 60 horas), las cuales se ajustaron a 20 g.l⁻¹ de azúcar fermentable y con una relación de carbono nitrógeno de 28.3/1. Se usó relación del 10 % v/v de inóculo con respecto al sustrato. El sustrato alternativo presentó una buena concentración de magnesio y de micro-nutrientes tales como Fe, B, Zn, Mg, Cu. El rendimiento de biomasa ($Y_{p/x}$) obtenido en el jugo clarificado y en la meladura clarificada fue de 1.27 g.l⁻¹ y 1.33 g.l⁻¹ respectivamente). El rendimiento del producto sustrato ($Y_{p/s}$) fue 0.10 g.l⁻¹ y 0.11 g.l⁻¹ respectivamente. La producción de polihidroxialcanoato (PHA) obtenida fue de 1.3 g.l⁻¹ y 1.6 g.l⁻¹ respectivamente. La espectroscopia infrarroja indicó que el polímero obtenido en los sustratos evaluados fue polihidroxibutirato (PHB).

EJEMPLO 3. ILUSTRACIÓN DEL PROCEDIMIENTO DE PREPARACIÓN DEL JUGO CLARIFICADO.

El Jugo de caña de azúcar fue obtenido en un ingenio azucarero colombiano a escala industrial. Se utilizó caña de azúcar variedad CC8592, la cual es una variedad resistente a las principales

22

enfermedades que atacan el cultivo de la caña de azúcar en el valle geográfico del río cauca, entre ellas el carbón (*Ustilago scitaminea*), la roya (*Puccinia melanocephala*) y el mosaico (ScMV). Adicionalmente, produce un mayor tonelaje por hectárea de caña cosechada y un mayor porcentaje de sacarosa que otras variedades de caña empleadas. La caña se pesó (Fletcher, USA), para facilitar la extracción del jugo y mejorar la eficiencia de la misma se desfibró en una desfibradora (Dedini, Brasil), y se molió en molinos de cuatro masas (molino Fulton, USA). El jugo extraído en los molinos se pesó (Fletcher, USA) y posteriormente se neutralizó con cal (pH 6.5 +/- 0.5) para ayudar en la separación de los sólidos. El jugo se calentó a 105°C, para acelerar la separación de los sólidos no azúcares. El jugo limpio y brillante, libre de sedimento fue utilizado.

El jugo de caña se caracterizó en cuanto a macronutrientes (Nitrógeno, Sodio, Potasio, Magnesio) y micronutrientes (Hierro, Boro, Zinc, Manganeso, Cobre). Las muestras de jugo clarificado se sometieron a digestión ácida empleando una solución 500 ml de HNO³ y 250 ml de HClO₄ en proporción 2:1. Posteriormente, las muestras se agitaron con plancha agitadora (Büchi, Suiza) a 360°C durante 28 min y la muestra se filtró en teflón y se aforó con agua destilada a 50 ml. Los macronutrientes se determinaron por absorción atómica (AOAC 985.35) en un equipo de absorción atómica (Perkin Elmer, modelo 2380, USA) y la determinación del fósforo se realizó por colorimetría visible (AOAC 995.11). Los resultados se expresaron en porcentaje peso/volumen (%p/v) para macronutrientes y en partes por millón para los micronutrientes (ppm).

Para formular el sustrato, el jugo de caña fue ajustado a 20 (g.l⁻¹) de azúcar fermentable, y como fuente de nitrógeno, se adicionó sulfato de amonio para mantener una relación carbono: nitrógeno de 28.3/1 (C:N 28.3/1). El sustrato fue ajustado a pH 6.5 +/- 0.5 con NaOH 2N/HCl 2N.

Como sustrato comercial (sustrato control) se utilizó el sustrato mineral de sales, el cual se compone (g.l⁻¹) de: sacarosa 20, (NH₄)₂SO₄ 1.4, KH₂PO₄ 1.5, Na₂HPO₄.12H₂O 3.6, MgSO₄.7H₂O 0.2 y solución de elementos traza (TES) 1 ml/L. La solución de elementos traza (TES) se compone de (g.l⁻¹): Citrato férrico (III) de amonio

23

60, $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ 10, H_3BO_3 0.3, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.2, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ 0.1, $\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ 0.03, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.03, $\text{NiSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ 0.02, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.01. El pH del medio fue ajustado a 6.5 $\pm$ 0.5 con NaOH 2N/HCL 2N.

EJEMPLO 4. PREPARACIÓN DEL INOCULO

Se utilizaron 800 ml de caldo mineral de sales, los cuales se prepararon en Erlenmeyer de 2000 ml. El caldo fue sembrado bajo condiciones de esterilidad con cuatro slant de *Alcaligenes latus*. El erlenmeyer se incubó bajo condiciones aerobias en un shaker rotatorio (Innova 44, USA) con temperatura de 33°C, 200 rpm durante 48 h y posteriormente fue usado como inculo de las fermentaciones del jugo de caña de azúcar y del medio mineral de sales.

EJEMPLO 5. FERMENTACIÓN

Se realizaron 6 fermentaciones batch en Erlenmeyer de 2000 ml, con volumen efectivo de trabajo de 1000 ml (3 fermentaciones por sustrato). Los Erlenmeyer permanecieron agitados a 200 rpm en el Shaker (Innova 44, USA) por 60 horas a 33°C. El pH de las fermentaciones se controló a pH 6.5 - 7 con NaOH de 2N. Los medios de fermentación fueron sembrados con el inculo de *Alcaligenes latus* (descrito arriba), manteniendo una relación del 10% v/v con respecto al volumen del sustrato.

De cada sustrato, a las 0, 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54 y 60 horas de fermentación se tomaron asépticamente 30 mL de fermentado con el fin de medir parámetros cinéticos de fermentación, (el tiempo 0 correspondió a las condiciones iniciales de cada sustrato).

A continuación se adjuntan los resultados y sus respectivos análisis estadísticos:

Tabla 5. Análisis estadístico

T-Grouping for trat*tiempo Least Squares Means Slice (Alpha=0.05)			
LS-means with the same letter are not significantly different.			
Slice	tiempo	Estimate	
trat JCLA	30	1.4970	A
trat JCLA			A
trat JCLA	36	1.3933	A
trat JCLA			A
trat JCLA	24	1.3113	A
trat JCLA			A
trat JCLA	48	1.2350	A
trat JCLA			A
trat JCLA	54	1.1930	A
trat JCLA			A
trat JCLA	42	1.1570	A
trat JCLA			A
trat JCLA	60	1.1490	A
trat JCLA			A
trat JCLA	18	0.9337	A
trat JCLA			A
trat JCLA	12	0.7687	A
trat JCLA			A
trat JCLA	0	0.1273	A

Análisis estadístico de la biomasa obtenida en la meladura clarificada:

Tabla 6. Análisis estadístico

Agrupación T para trat*tiempo Mínimos cuadrados de muestra (Alpha=0.05)			
Muestra	tiempo	Estimado	
trat MCLA	30	1.5054	A
trat MCLA			A

Agrupación T para trat*tiempo			
Mínimos cuadrados de muestra			
(Alpha=0.05)			
Muestra	tiempo	Estimado	
trat MCLA	48	1.4443	A
trat MCLA			A
trat MCLA	60	1.3780	A
trat MCLA			A
trat MCLA	36	1.3177	A
trat MCLA			A
trat MCLA	24	1.2734	A
trat MCLA			A
trat MCLA	54	1.2368	A
trat MCLA			A
trat MCLA	42	1.0869	A
trat MCLA			A
trat MCLA	18	1.0853	A
trat MCLA			A
trat MCLA	12	0.9159	A
trat MCLA			A
trat MCLA	6	0.2105	A
trat MCLA			A
trat MCLA	0	0.1142	A

Tabla 7. Análisis estadístico

trat*tiempoMedias de mínimos cuadrados						
trat	tiempo	Estimador	Error estándar	DF	Valor t	Pr > t
JCLA	0	0.1273	1.0018	14.51	0.13	0.9006
JCLA	6	0.09400	1.0018	14.51	0.09	0.9265
JCLA	12	0.7687	1.0018	14.51	0.77	0.4552
JCLA	18	0.9337	1.0018	14.51	0.93	0.3666
JCLA	24	1.3113	1.0018	14.51	1.31	0.2109
JCLA	30	1.4970	1.0018	14.51	1.49	0.1565
JCLA	36	1.3933	1.0018	14.51	1.39	0.1853
JCLA	42	1.1570	1.0018	14.51	1.15	0.2668
JCLA	48	1.2350	1.0018	14.51	1.23	0.2373
JCLA	54	1.1930	1.0018	14.51	1.19	0.2528
JCLA	60	1.1490	1.0018	14.51	1.15	0.2700
MCLA	0	0.1142	1.0010	14.54	0.11	0.9107
MCLA	6	0.2105	1.0008	14.53	0.21	0.8363
MCLA	12	0.9159	1.0005	14.52	0.92	0.3750
MCLA	18	1.0853	1.0002	14.51	1.09	0.2956
MCLA	24	1.2734	0.9999	14.49	1.27	0.2229
MCLA	30	1.5054	0.9994	14.45	1.51	0.1535
MCLA	36	1.3177	0.9988	14.4	1.32	0.2077
MCLA	42	1.0869	0.9980	14.33	1.09	0.2941
MCLA	48	1.4443	1.0355	16.32	1.39	0.1818
MCLA	54	1.2368	0.9980	14.33	1.24	0.2352
MCLA	60	1.3780	0.9988	14.4	1.38	0.1887

EJEMPLO 6. DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS CINÉTICOS

Se determinó la concentración de biomasa(X), consumo de sustrato (fuente de carbono), consumo de nitrógeno, rendimiento de biomasa sustrato ($Y_{x/s}$), rendimiento producto sustrato ($Y_{p/s}$), rendimiento producto biomasa ($Y_{p/x}$), y productividad de PHB.

La concentración de biomasa se determinó mediante la realización previa de una curva de calibración densidad óptica (DO) contra el peso de biomasa seca (DCW) reemplazando el valor de la densidad óptica en la ecuación de la curva descrita en la figura 4.

Para realizar la curva de calibración se realizó un cultivo de *A. latus*. Se inocularon 400 ml de caldo mineral de sales con dos slant de *A. latus*, que se incubaron a 33°C (Binder, USA) durante 48 horas a 200 rpm en un Shaker rotatorio (Innova 44, USA). Finalizado el tiempo de crecimiento, se repartieron 90 ml de la suspensión celular en 9 tubos de ensayo de vidrio con peso inicial conocido. Los tubos de vidrio con los 10 ml de suspensión celular fueron llevados a un horno (Binder, USA) a temperatura de 105°C hasta peso constante (es decir hasta que el cuarto decimal cambie ± 0.0001 gramos) durante un lapso de tiempo entre 24-27 horas. Cumplido el tiempo se enfriaron en un desecador con vacío durante 1 hora.

Posteriormente se pesaron en balanza analítica (Mettler Toledo xs-204, USA) los tubos de vidrio. Se promediaron los valores obtenidos de los 9 tubos y se obtuvo la concentración del peso seco de biomasa en el cultivo inicial (g/10mL).

Con el cultivo restante se prepararon diluciones en agua destilada estéril (1/5, 1/6, 1/7, 1/9, 1/15, 1/20, 1/30) y se midió la absorbancia de cada dilución a 600 nm (Espectronic genesys 2PC, USA), tomando como blanco agua destilada. Con los resultados se construyó la curva patrón mostrada en la figura 4 donde se correlacionó la absorbancia y los gramos por litro (g.l^{-1}) de biomasa seca.

El consumo de sustrato (fuente de carbono) se calculó con la ecuación (1) que se muestra a continuación, a partir de datos de concentración de azúcares fermentables, tomados en cada uno de los tiempos arriba nombrados. La concentración de azúcares se midió por HPLC (Shimadzu, USA, bomba LC 10ADvp, detector de índice de refracción RID10A, controlador SCL10Avp, automuestreador SILC 10AF, con software Zstar y una columna Hi-Plex Ca, 300 x 7.7 mm acoplada a una pre columna de yoyo con inserto WAT015209 (Sugar-Pak), USA). Las condiciones de operación fueron: temperatura de la columna: 75°C, fase móvil: agua de osmosis inversa desionizada (desionizador Simplicity, USA), flujo de la fase móvil: 0.6 ml/min, volumen de inyección de muestras y estándares: 10 μL . Las muestras fueron filtradas (filtros millipore DURAPORE EM PVDF, 0.22 μm de poro, 47 mm de diámetro) y el filtrado fue inyectado en

un equipo HPLC. Los estándares de calibración con concentraciones de sacarosa de 0.09, 0.1, 0.11 g.l⁻¹, concentraciones de glucosa y fructosa de 0.009, 0.01, 0.011 g.l⁻¹ fueron preparados en agua grado HPLC.

El consumo de nitrógeno se calculó como aminonitrógeno libre en ppm, con la ecuación 2. La concentración de amonio se determinó semicuantitativamente mediante la prueba de amonio (NH₄⁺), el cual es un método colorimétrico donde los iones de amonio forman con el reactivo Nebler un compuesto pardo-amarillo. Se comparó la zona de reacción de la tira de ensayo con las zonas de una escala colorimétrica (10-30-60-100-200-400 mg/l de NH₄⁺). La determinación del consumo nitrógeno se realizó por el Test de amonio, tomando 5 ml del caldo mineral de sales, caldo jugo clarificado y caldo de meladura clarificada, adicionando 5 ml de agua destilada y 10 gotas del reactivo NH₄-1, manteniendo el frasco verticalmente durante la adición del reactivo (las gotas del reactivo se deben añadir y agitar por balanceo).

Los Y_{x/s}, Y_{p/s} y Y_{p/x}, se determinaron mediante las ecuaciones 3, 4 y 5 respectivamente. Veamos:

$$\text{Consumo sustrato} = \frac{AF * 100}{AF_0 (g_l - 1)} \% \quad (1)$$

Donde, AF: Concentración final de azúcares fermentables (g.l⁻¹), AF₀: Concentración inicial de azúcares fermentables (g.l⁻¹) (Serna et al., 2010).

$$AMN \left(\frac{mg}{l} \right) = \frac{ml \text{ NaOH } 0.1 N \text{ requeridos en la titulación} * 1.4 * 1000}{100 \text{ ml de muestra tomada}} \quad (2)$$

La relación básica usada para los cálculos es 1ml de NaOH 0.1 N = 1.4mg de nitrógeno.

$$\frac{Y_x}{s} = \frac{X - X_0}{S_0 - S} \text{ g.g}^{-1} \quad (3)$$

$$\frac{Y_p}{s} = \frac{P}{S_0 - S} \text{ g.g}^{-1} \quad (4)$$

$$Y^{p/x} = \frac{P}{X_0 - X} \text{ g.g}^{-1} \quad (5)$$

Dónde: S es la concentración de azúcares fermentables en (g.l^{-1}) en cada tiempo de fermentación, S_0 : es la concentración inicial de azúcares reductores, X : Concentración final de biomasa (g.l^{-1}), X_0 : concentración inicial de biomasa (g.l^{-1}), S_0 : concentración inicial de azúcares fermentables (g.l^{-1}), S : concentración final de azúcares fermentables (g.l^{-1}), P : concentración final de PHA (g.l^{-1}).

La productividad volumétrica se calculó así: Gramos PHB producidos por litro por hora de tiempo de cultivo ($\text{g.l}^{-1}.\text{h}^{-1}$).

EJEMPLO 7. EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DEL PHB

La extracción y cuantificación del PHB se realizó de la siguiente manera:

Se preparó una mezcla de 12.5 ml de hipoclorito de sodio 30% (v/v) y 12.5 ml cloroformo. Esta solución se mezcló con 1 g de biomasa húmeda y se centrifugó en tubos eppendorf de 50 ml por 20 min a 3000 rpm. La muestra se colocó en baño maría a 30°C durante 90 minutos y se centrifugó durante 15 min a 4000 rpm.

En consecuencia de lo anterior, se formaron 3 fases: (i) en la parte superior hipoclorito, (ii) en la fase del medio, restos celulares, y (iii) en la fase del fondo PHB con cloroformo. La fase del cloroformo se extrajo con pipeta. Para la separación del cloroformo y el PHB, el PHB se precipitó usando metanol y agua en una proporción 7:3 (v/v) y se filtró por membrana (filtro millipore de tamaño 0.45μ). Durante un lapso de tiempo de 48 horas, se colocó la mezcla en una campana de extracción para volatilizar el exceso de metanol. Finalmente, el pellet de PHB se pesó (Mettler Toledo xs-204, USA) y se calculó el rendimiento por biomasa obtenida mediante la ecuación 6.

$$\% \text{ Acumulación} = \frac{\text{Polimero final (g.l}^{-1}\text{)} \cdot 100}{\text{Biomasa seca final (g.l}^{-1}\text{)}} \quad (6)$$

EJEMPLO 8. ANÁLISIS DE LOS BIOPOLÍMEROS EMPLEANDO ESPECTROSCOPIA INFRARROJA POR MEDIO DE FT-IR

Las muestras del biopolímero obtenidas al finalizar la fermentación en los sustratos evaluados fueron analizadas empleando espectroscopia infrarroja por medio de ATR (FTIR -ATR).

Se tomó una pequeña cantidad de cada una de las muestras del biopolímero para el análisis ATR FT-IR y se colocó directamente sobre el cristal de Germanio del porta- muestra marca *ThermoScientific iS10*, USA.

Los espectros ATR FT-IR fueron tomados en un espectrofotómetro (*ThermoScientific iS10*, USA), y el análisis de los grupos funcionales obtenidos fueron comparados con los grupos funcionales del polihidrobutirato (PHB) patrón reportado en la literatura.

EJEMPLO 9. Identificación del polímero producido por *A. latus*

Mediante espectroscopia infrarroja (ver Figuras 5 y 6) se determinó que el polímero producido por *A. latus*, tanto en el sustrato formulado con jugo y meladura clarificados de caña de azúcar fue un polímero de tipo poliéster. Se identificó la presencia de la banda del grupo carbonilo (1720cm⁻¹), bandas de metilo de cadena alifática (2995cm⁻¹-2975cm⁻¹), bandas de metileno de cadena alifática (2865cm⁻¹-2855 cm⁻¹) y la banda de estiramiento C-O de ester (1279cm⁻¹), lo cual corresponde al grupo ester carbonilo (C=O) y a el grupo -CH, respectivamente.

Tabla 8: Asignaciones para las muestras analizadas

Señal (cm ⁻¹)	Asignación
Rango 2995-2975	C-H tensión asimétrica metilo
2933	C-H tensión metileno
Rango2865-2855	C-H tensión simétrica metilo

1720	C=O estiramiento carbonilo
1378	flexión simétrica metilo
1279	C-O estiramiento asimétrico éster
1228	C-O estiramiento simétrico éster

Tabla 9. Molécula identificada en base a la longitud de onda por espectroscopia infrarroja FTIR del PHB obtenido en este trabajo.

Identificado	PHB ^a	PHB ^b	PHB ^c	PHB ^d
	Longitud de onda (cm-1)	Longitud de onda (cm-1)	Longitud de onda (cm-1)	Longitud de onda (cm-1)
-OH	3434	3434	-	-
-CH	1277	1278	-	1279
C=O	1720	1720	1725	1724
-CH2	1454	1453	1452	1454
-CH3	1379	1379	1379	1379

a. Jugo Clarificado; b. Meladura clarificada; c. (Srivastava and Tripathi, 2013); d. (Tripathi and Srivastava, 2011).

Los resultados de la tabla 6 muestran que la espectroscopia de FTIR es un método convencional alternativo que permitió analizar el PHB de las células bacterianas empleadas. El carácter distintivo de un espectro, está determinado por la estructura química de cada componente, el cual contribuye a espectros directamente relacionados con las concentraciones del componente de la muestra. Es sobre esta base que se realizo la cuantificación del analito (Tripathi and Srivastava, 2011).

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de producción de polihidroxialcanoatos (PHA) a partir de jugo y meladura clarificados de caña de azúcar caracterizado porque comprende las siguientes etapas:

- (i) obtener jugo y meladura clarificados de caña de azúcar;
- (ii) preparar el medio de cultivo para la producción de PHA;
- (iii) realizar el procedimiento de cultivo (fermentación);
- (iv) recuperar la biomasa celular; y
- (v) extraer el PHA producido.

2. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 caracterizado porque para obtener jugo clarificado de caña de azúcar se siguen las siguientes etapas:

- desfibrar la caña de azúcar,
- molerla en seis molinos de cuatro mazas accionados por motores eléctricos y variadores de velocidad,
- pesar el jugo extraído de los molinos,
- someter el jugo a un proceso de blanqueo adicionando sulfito y luego cal,
- calentar el jugo,
- adicionar floculante y separar los sólidos disueltos en clarificadores, los cuales se precipitan formando un lodo conocido como cachaza, y
- obtener de los clarificadores el jugo clarificado.

3. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 2 caracterizado porque para obtener meladura clarificada de caña de azúcar adicionalmente se concentra el jugo clarificado desde 15°Brix hasta 65°Brix, evaporando el jugo clarificado y

33

posteriormente separando los sólidos que salen de los evaporadores,

luego la meladura se sulfita, se mezcla con ácido fosfórico, cal y floculante, y se envía al clarificador de meladura, donde se le inyecta aire en pequeñas partículas que hacen flotar los sólidos en forma de espuma, y

se mezcla el material obtenido con la cachaza que sale de los clarificadores.

4. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 en donde la preparación del medio de cultivo comprende las siguientes etapas:

-propagar el microorganismo *Alcaligenes latus* en medio de cultivo que contenga un medio mineral de sales con 20 g.l⁻¹ sacarosa, 1,4 g.l⁻¹ (NH₄)₂ SO₄, 1.5 g.l⁻¹ KH₂PO₄, 3.6 g.l⁻¹ Na₂HPO₄.12H₂O, 0.2 g.l⁻¹ MgSO₄.7H₂O y 1 ml/l de solución de elementos traza (TES) que contiene: Citrato férrico (III) de amonio 60 g.l⁻¹, CaCl₂.2 H₂O 10 g.l⁻¹, H₃BO₃ 0.3 g.l⁻¹, CoCl₂.6H₂O 0.2 g.l⁻¹, ZnSO₄.7 H₂O 0.1 g.l⁻¹, MnCl₂.4 H₂O 0.03 g.l⁻¹, Na₂MoO₄.2H₂O 0.03 g.l⁻¹, NiSO₄.7 H₂O 0.02 g.l⁻¹, CuSO₄.5H₂O 0.01 g.l⁻¹,

-mantener este inóculo previo en un agitador rotatorio a 33°C y agitación de 200 rpm durante 48 h,

- transferir desde el inóculo previo hasta el medio de cultivo un 10% (100 ml) del volumen final (1000 ml) que va a ser usado en el procedimiento de cultivo.

34

RESUMEN

La presente invención se refiere a un procedimiento de producción de poliésteres biodegradables a partir de materias primas de la fabricación del azúcar de caña (jugo y meladura clarificados). Los polihidroxialcanoatos aquí descritos pueden ser usados como sustitutivos de los poliésteres sintéticos en diferentes sectores, incluyendo los sectores alimentario, farmacéutico, médico, agrícola y otros.

Figura 1.

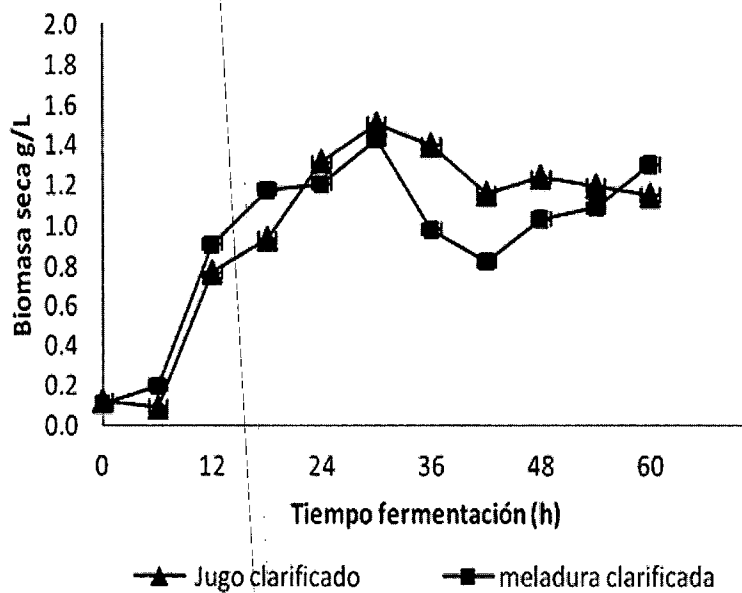


Figura 2.

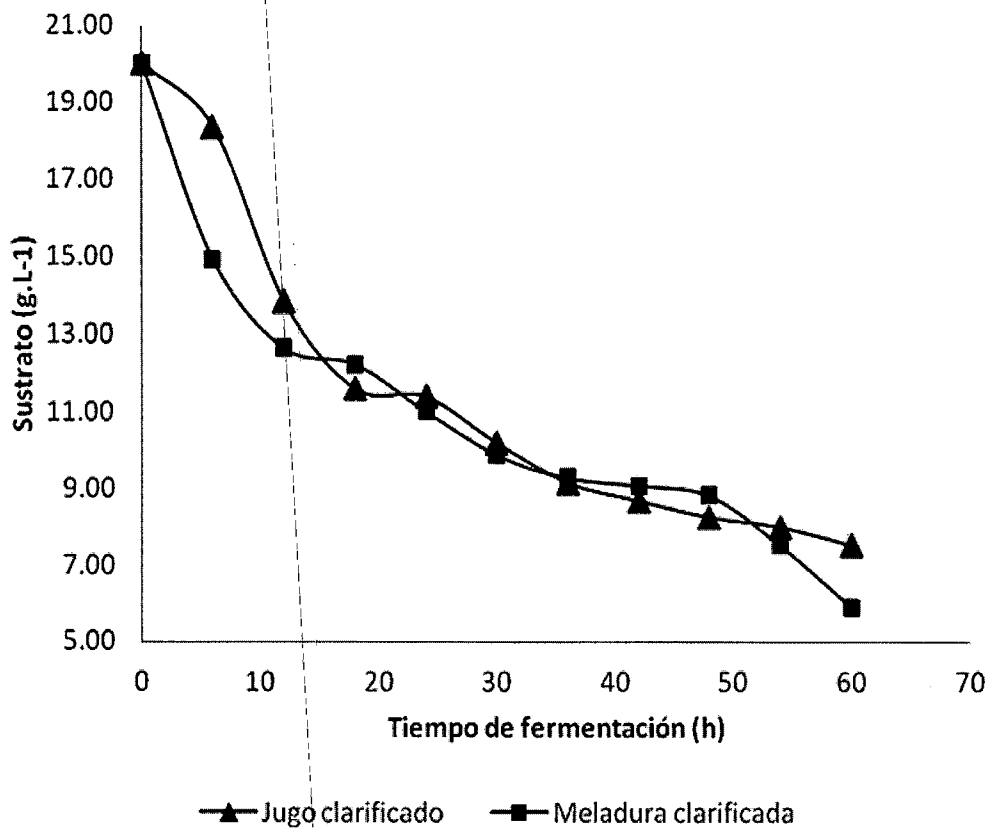


Figura 3.

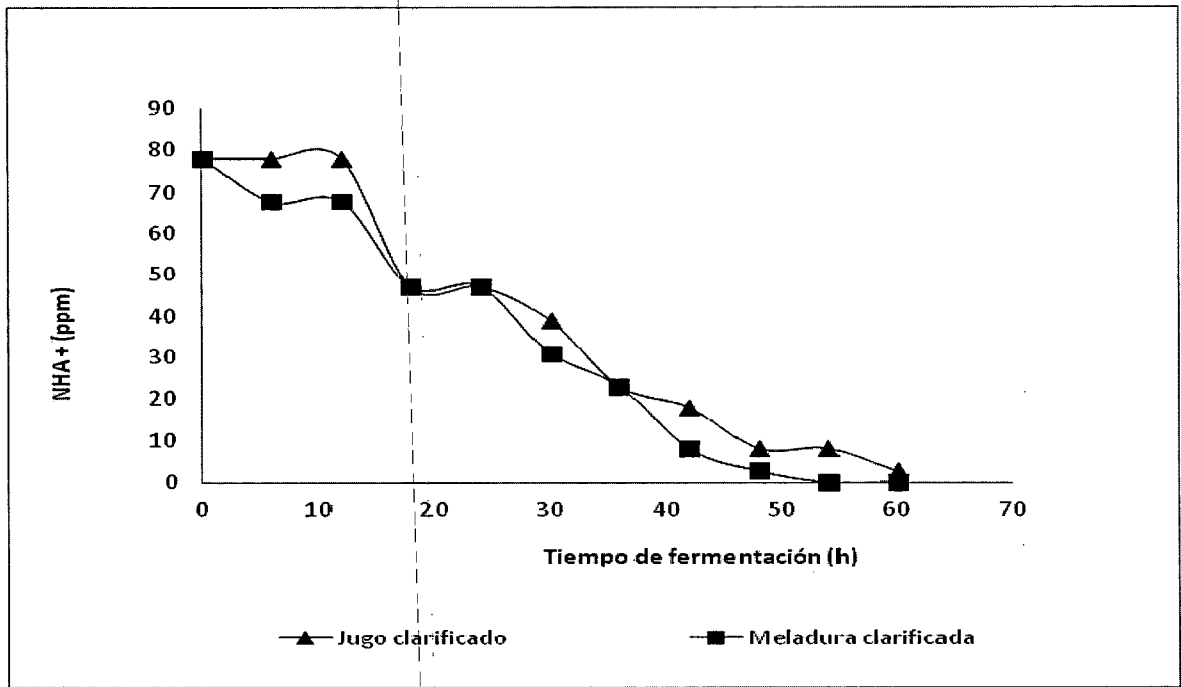


Figura 4.

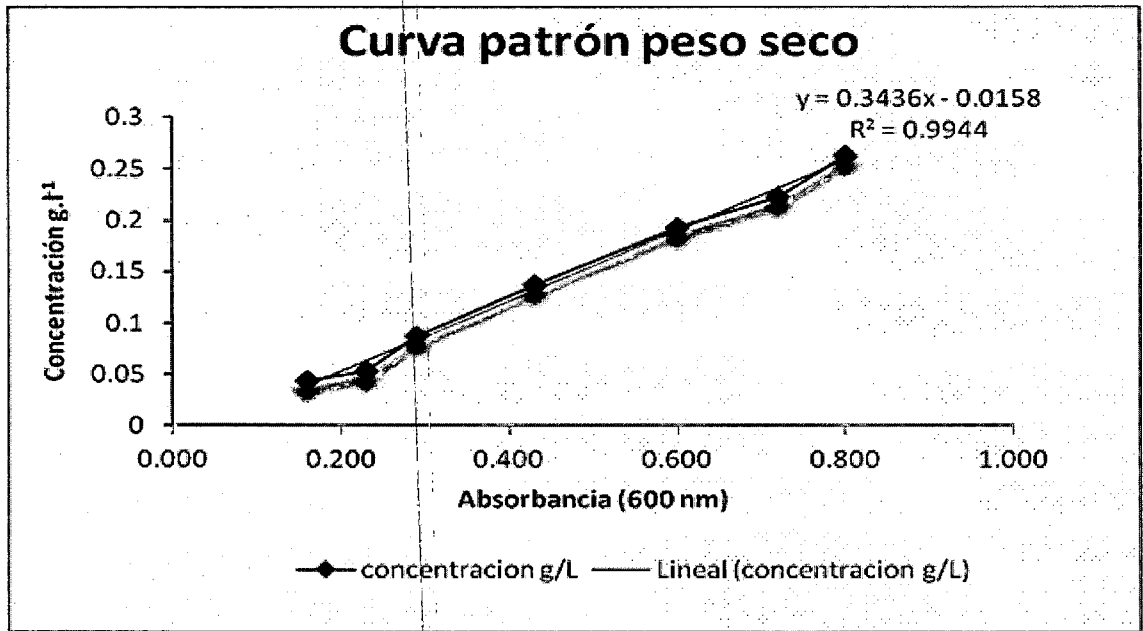


Figura 5.

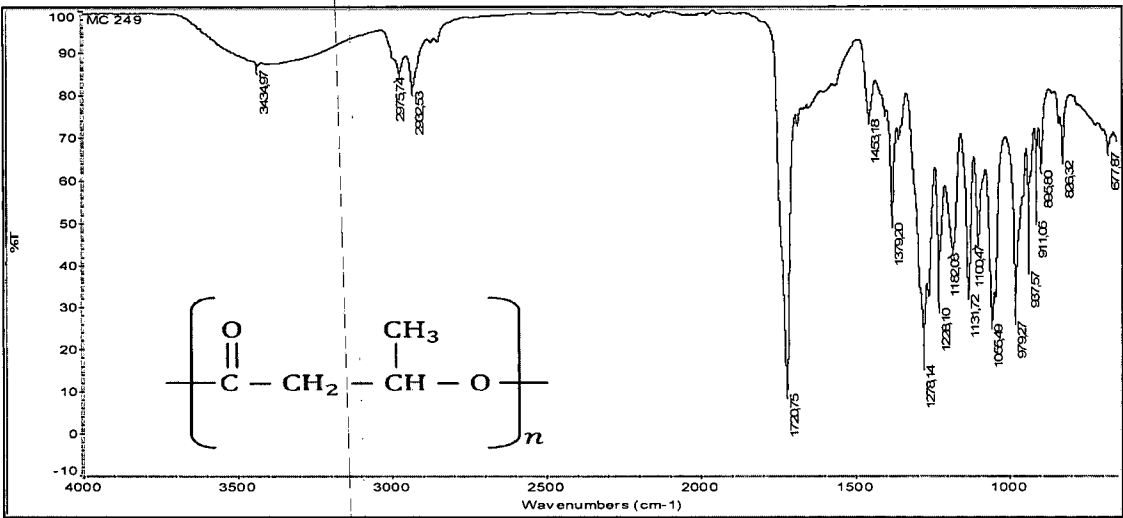
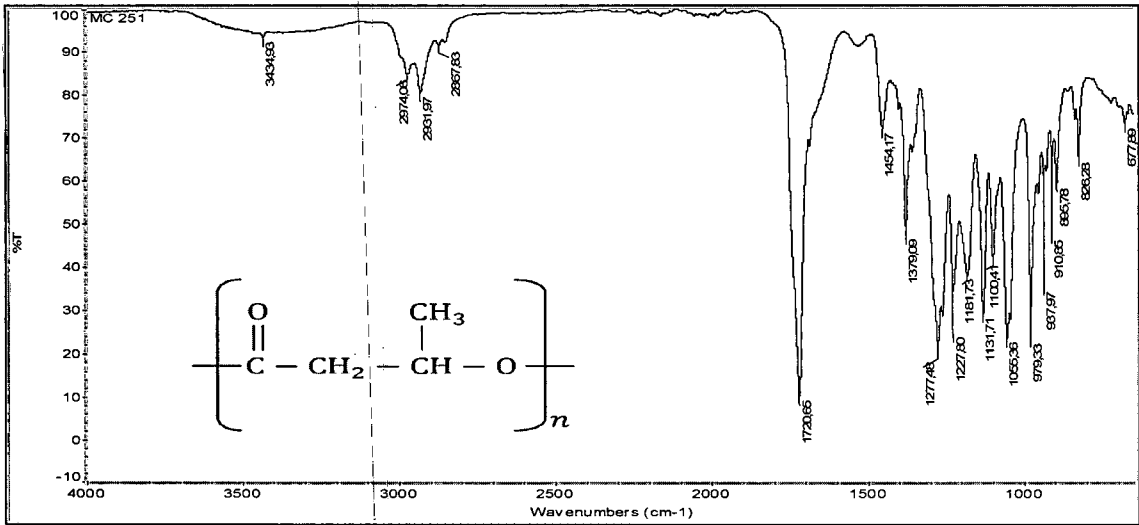


Figura 6.



38

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	Espacio reservado para el adhesivo de radicación
---	--

DELEGATURA PARA LA PROPIEDAD INDUSTRIAL
FORMULARIO PARA OTORGAR PODER A ABOGADO
EN LOS TRÁMITES DE PROPIEDAD INDUSTRIAL

1. Datos del otorgante

☐ Persona Natural ☒ Persona Jurídica

INGENIO PROVIDENCIA S.A.

Nombre o denominación/Razón Social completa(En caso de que haya más de un solicitante, relaciónese en hoja adjunta)

Nombre del Representante _____

Nacionalidad/País de constitución	Dirección del otorgante	
COLOMBIA	Carrera 9 # 28-103 Cali, Valle del Cauca, Colombia	
Dirección Electrónica	No. Fax	Número Telefónico
clientes@cavelier.com	2118650	3473611

2. Datos del Apoderado

Principal Luz Clemencia Suárez de Páez	35.456.344	23.555
Primer Suplente Nidia Osorio López	39.787.682	73.366
Segundo Suplente Oscar Correa Barbosa	79.524.634	71.027

Apellidos y Nombre Documento de Identificación T.P.(sólo abogados Profesionales)

Nacionalidad/País de constitución	Dirección del Apoderado	
Colombiana	Carrera 4 No. 72-35, Bogotá, Colombia	
Dirección Electrónica	No. Fax	Número Telefónico
cavelier@cavelier.com	2118650	3473611

☐ Autorizo expresamente a la Superintendencia de Industria y Comercio para que todas las comunicaciones sean enviadas a través de la dirección de correo electrónico.

© CAVELIER ABOGADOS

Mediante el presente documento, la persona indicada en el punto 1 de este documento nombra a las personas que se identifican en el punto 2 como sus apoderados en los términos del artículo 66 del Código de Procedimiento Civil, para las actuaciones que se relacionan a continuación.

3. Actuaciones en cuestión:

Este poder concierne:

☒ Todas las solicitudes y/o registros actuales y futuros del otorgante.

☐ La(s) siguiente(s) solicitud(es) y/o registro(s):

NOMBRE	NÚMERO DE SOLICITUD O REGISTRO

Nota: Si el espacio anterior no es suficiente, por favor relacione las actuaciones en hoja anexa.

4. Alcance del poder:

☒ Confiero expresamente al (los) apoderado(s) todas las facultades legales para que represente mi(s) interés(es) en la(s) actuación(es) señalada(s) en el punto 3 de este documento, incluyendo:

☒ Desistir de la(s) solicitud(es) y de la demás actuaciones

☒ Renunciar a los derechos del registro de signos distintivos o de nuevas creaciones

☒ Transigir

☒ Recibir

☒ Conciliar

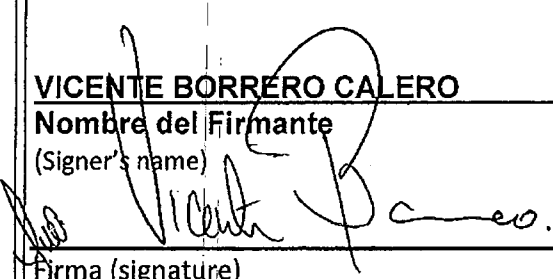
☒ Ratificar los actos de agentes oficiosos

5. Firma

VICENTE BORRERO CALERO

Nombre del Firmante

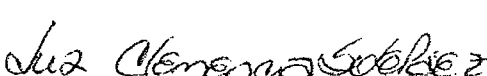
(Signer's name)



Firma (signature)

10 de Octubre , 2012

Fecha (Date)

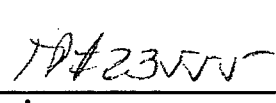


LUZ CLEMENCIA DE PAEZ

Firma del Apoderado

TP No. 23.555

Tarjeta Profesional



CESION DE DERECHOS DE PROPIEDAD INDUSTRIAL

La suscrita, de una parte **DARLY SILVANA PARRADO SABOYA**, mayor de edad, identificada con cédula de ciudadanía No. 40.445.467 expedida en Villavicencio, Meta y domiciliada en Palmira, Valle del cauca, declaro bajo juramento ser única y verdadera inventora de la invención para "**PRODUCCIÓN DE POLIHIDROXIALCANOATOS A PARTIR DE JUGO Y MELADURA CLARIFICADOS DE CAÑA DE AZUCAR**" y declaro que **cedo y transfiero**, sin limitación, a favor de la sociedad **INGENIO PROVIDENCIA S.A.**, constituida y existente de conformidad con las leyes de la República de Colombia, sociedad comercial identificada con NIT 891.300.238-6 y domiciliada en la Carrera 9 No. 28-103 de Cali, Colombia, todos los derechos y privilegios inherentes a la referida invención, pudiendo por consiguiente la CESIONARIA, considerarse como única dueña, explotarla como cosa propia o disponer de ella como mejor convenga a sus intereses, tanto en la República de Colombia como en cualquier otro país u organización de Patentes.

El presente documento se suscribe para ser presentado por **INGENIO PROVIDENCIA S.A.** ante la Superintendencia de Industria y Comercio.

Dado y firmado hoy 11 de Marzo de 2014 en Palmira (V)



Darly Silvana Parrado Saboya, C.C. N° 40.445.467 de Villavicencio

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

-/-



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 14 - 0064188

Bogotá D.C., Junio 17 de 2014 - 11:28:37

RECIBIDO DE : CAVELIER ABOGADOS

NI 860.041.367

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	644039185	17/06/2014	14.671.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN	515.000.00	515.000.00
				\$515.000.00

SON: **QUINIENTOSQUINCE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-136120- -00000-0000

Fecha: 2014-06-24 16:40:08 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 2 PATENTES Eve: 1 REGDEPOSITO
Act. 411 PRESENTACION Folios: 43

0010: 14063-801-001-1.

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

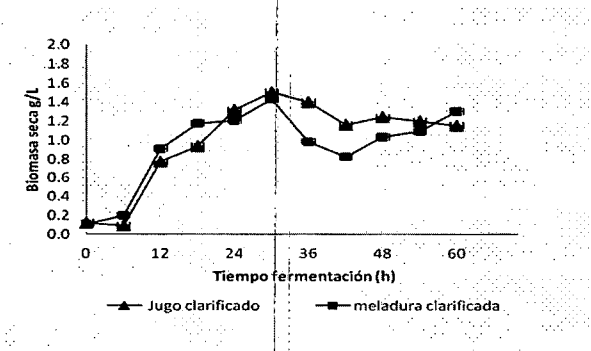
, Junio 17 de 2014 - 11:28:43

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISION DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION	
(21) N° de solicitud: (22) Fecha de solicitud: (30) Prioridad (31) <i>No. Prioridad</i> (32) <i>Fecha</i> (33) <i>País</i>		(51) Int Cl: C08K 005/000 (71) Solicitante(s) INGENIO PROVIDENCIA S.A. (72) Inventor(es) DARLY SILVANA PARRADO SABOYA (74) Apoderado: LUZ CLEMENCIA DE PAEZ	
(54) Título: PRODUCCIÓN DE POLIHIDROXIALCANOATOS A PARTIR DE JUGO Y MELADURA CLARIFICADOS DE CAÑA DE AZUCAR.			

Resumen:

La presente invención se refiere a un procedimiento de producción de poliésteres biodegradables a partir de materias primas de la fabricación del azúcar de caña (jugo y meladura clarificados). Los polihidroxicanoatos aquí descritos pueden ser usados como sustitutivos de los poliésteres sintéticos en diferentes sectores, incluyendo los sectores alimentario, farmacéutico, médico, agrícola y otros.

Figura 1





No. 14-136120- -00000-0000

Fecha: 2014-06-24 16:40:08 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 2 PATENTES Eve: 1 REGDEPOSITO
Act. 411 PRESENTACION Folios: 43

ión 486/00

PATENTE DE INVENCION ☐

☐	Indicación que se solicita
☐	Datos de Identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Descripción de la invención
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)
Completa ☐	Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☐ MODELO DE UTILIDAD PCT ☐ Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

☐	Indicación que se solicita una PCT
☐	Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
Completa ☐	Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita Diseño industrial
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita un esquema de trazado
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica de un esquema de trazado
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐