



(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 281 963**

(51) Int. Cl.:

C12P 7/44 (2006.01)

C12N 1/16 (2006.01)

C12R 1/74 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Número de solicitud europea: **99924529 .3**

(86) Fecha de presentación : **27.05.1999**

(87) Número de publicación de la solicitud: **1114175**

(87) Fecha de publicación de la solicitud: **11.07.2001**

(54) Título: **Medio y procedimiento de fermentación para producir ácidos α , ω -alcanodicarboxílicos.**

(30) Prioridad: **14.09.1998 US 152386**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.10.2007

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.10.2007

(73) Titular/es: **GENERAL ELECTRIC COMPANY**
1 River Road
Schenectady, New York 12345, US

(72) Inventor/es: **Mobley, David, Paul y**
Shank, Gary Keith

(74) Agente: **Carpintero López, Francisco**

ES 2 281 963 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Medio y procedimiento de fermentación para producir ácidos α , ω -alcanodicarboxílicos.

5 Esta invención fue hecha con la ayuda del Gobierno bajo el Contrato de Gobierno No. 93-COOP-1-9547, concedido por el Ministerio de Agricultura. El Gobierno tiene ciertos derechos en esta invención.

Campo técnico

10 La actual invención se relaciona con el campo de la producción biofermentativa de ácidos α , ω -alcanodicarboxílicos. Particularmente, la invención proporciona un medio y un procedimiento que alcanza una producción específica superior de ácidos α , ω -alcanodicarboxílicos a un bajo costo usando una levadura biocatalizadora.

Antecedentes de la invención

15 Los ácidos α , ω -alcanodicarboxílicos de cadena larga (es decir, ácidos alcanodicarboxílicos con un número de carbonos de nueve o mayor) se utilizan como materias primas en la síntesis de una variedad de productos químicos y de materiales de polímero. Por ejemplo, el ácido dodecanodioico se utiliza como un comonomero con el bisfenol A para producir un copoliéstercarbonato, un termoplástico de ingeniería particularmente deseable el cual retiene fuerza de alto
20 impacto, el sello distintivo de la resina policarbonatada, mientras que presenta una viscosidad más baja al derretirse. Esta característica da lugar a una productividad mejor del moldeado que la resina policarbonatada convencional, permitiendo la producción de piezas plásticas livianas, fuertes, de paredes delgadas.

25 Diácidos con números de carbono mayores de cuatro (de aquí en adelante designados como diácidos) son producidos actualmente casi exclusivamente por procesos de conversión no biológicos. El ácido de dodecanodioico es manufacturado a través de la trimerización cíclica catalizada con níquel, del butadieno, seguido por la hidrogenación a ciclododecano, la oxidación con aire a una mezcla de ciclododecanona y el ciclododecanol, y finalmente, oxidación con ácido nítrico a ácido dodecanodioico. Estos tipos de procesos químicos para la producción de diácidos tienen un número de limitaciones y de desventajas. Cada proceso se restringe a la producción de los diácidos de longitudes de
30 cadena de carbono específicas, basados en el material inicialmente utilizado. Por ejemplo, el proceso del ácido dodecanodioico comienza con butadieno, por lo tanto los productos de este proceso de reacción se limitan a los ácidos con longitudes de cadena en múltiplos de cuatro. En la práctica, únicamente un solo diácido, el ácido dodecanodioico, es hecho por este proceso. Adicionalmente, los procesos se basan en las materias de base petroquímicas no renovables, y el proceso de conversión de multireacciones produce subproductos indeseados que dan lugar a pérdida de
35 productividad, basuras de metal pesado, y óxidos de nitrógeno que se deben destruir en un horno de reducción.

Los procesos biológicos de conversión para la producción de diácidos tienen un número de ventajas potenciales en relación a los procesos no-biológicos existentes de conversión. Primordialmente entre éstos está el uso de materias de base renovables como materiales iniciales y la capacidad de producir el diácido sin la generación de los subproductos
40 químicos peligrosos que necesitan procesos costosos de disposición de desechos. Otra ventaja importante alcanzada usando un proceso biológico es que tal proceso se puede adaptar fácilmente para producir una variedad amplia de diácidos usando el mismo biocatalizador y el mismo equipo. Debido a que las síntesis químico orgánicas actuales son únicamente apropiadas para la producción de un solo diácido, la síntesis de varios diácidos diversos requeriría el desarrollo de un nuevo esquema de síntesis para cada diácido. Por otra parte, un biocatalizador de levadura se puede
45 utilizar para producir diácidos de diversas longitudes, usando el mismo equipo, medios y protocolos, simplemente proporcionando un sustrato diferente a la levadura.

Varias levaduras naturales son conocidas por producir diácidos cuando son provistas de ácidos grasos, ésteres del ácido graso o los alcanos como sustratos. Las levaduras pertenecientes al género *Candida*, tal como *C. albicans*, *C. cloacae*, *C. guilliermondii*, *C. intermedia*, *C. lipolytica*, *C. maltosa*, *C. parapsilosis*, *C. zeylenoides* y *C. tropicalis*,
50 ha sido reportado que producen diácidos. No obstante estas levaduras tienen un número de limitaciones evitando su uso para la producción comercial de diácidos. Producen una producción total ineficiente de diácido en relación al ácido graso o los alcanos utilizados como material inicial, y también producen cantidades relativamente grandes de subproductos indeseados.

55 En la levadura, los sustratos n-alcano son transportados hacia la célula, son hidroxilados a alcoholes grasos por un sistema específico del citocromo P450, y después son adicionalmente oxidados por una oxidasa de alcohol y una oxidasa de aldehído para formar un ácido graso. Los ácidos grasos se oxidan de la misma forma para formar el diácido correspondiente. Ambos, ácidos grasos y diácidos se pueden degradar, sin embargo, a través del proceso peroxisomal de la oxidación, subsecuente a la activación a un éster de acil-CoA. Esto conduce a la reducción de la cadena en unidades de dos. Así, los diácidos producidos en levaduras son a menudo reducidos en grados diferentes.

Cepas de *Candida tropicalis*, modificadas genéticamente, han sido desarrolladas de modo que superan algunos de estos obstáculos para la producción comercial rentable de diácidos. La patente de los Estados Unidos de América 5,254,466 divulga la modificación genética de cepas de *C. tropicalis*. En esta cepa de levadura, el proceso de la
65 beta-oxidación se bloquea, dando por resultado la producción del diácido substancialmente puro sin la conversión indeseada del sustrato en cadenas más cortas de diácidos y biomasa, y en la producción substancialmente cuantitativa con respecto al material inicial. Un organismo particular bloqueado para oxidaciones es *C. tropicalis* H5343 (ATCC

No. 20962). EP-A-0316702 divulga un proceso para la conversión, por medio de fermentación, de las mezclas del éster del ácido graso que contienen por lo menos algunos ésteres del ácido láurico en los ácidos dicarboxílicos con un número igual de los átomos de carbono basados en la división del ácido graso y hace uso de un microorganismo que presenta una proporción más alta de la transformación para los compuestos C12 que para los homólogos más altos de estos. Esto es alcanzado realizando la conversión en presencia de una cepa del microorganismo *Candida tropicalis* DC2-C2009 (DSM 4277) y/o de los mutantes y/o de las variantes de este, que tienen la capacidad de convertir el metil laureato, en una proporción más alta de transformación, que sus homólogos más altos, en ácidos alfa, omega-dicarboxílicos.

La *C. tropicalis* ha sido modificada más a fondo, según lo descrito en la patente 5,620,878 de los Estados Unidos de América. Esta referencia divulga la amplificación de los genes codificando la citocromo P450 monooxigenasa y la reductasa del NADPH, lo que resulta en la actividad creciente de 4-hydroxylase y así el incremento en la productividad específica (gramos de diácido/litro/hora) de diácidos. El organismo particular responsable de ampliar los componentes del citocromo P450 monooxigenasa y de la reductasa de NADPH se conoce como *C. tropicalis* AR40 (ATCC No. 20987), depositada por la Corporación Henkel, Plymouth Meeting, Pa, USA el 9 de marzo de 1990.

Las cepas conocidas, modificadas genéticamente, demuestran distintas ventajas sobre cepas de levadura previamente disponibles para la producción de diácidos. Esta tecnología ha dado lugar a organismos que pueden producir las cantidades grandes de producto necesarias para desarrollar un proceso comercialmente factible. La producción descrita usa estos procedimientos de invención anteriores, sin embargo, incluye el uso de medios preferidos de fermentación los cuales contienen componentes relativamente costosos. El costo del medio en los procesos de biofermentación es demasiado alto para ser usado en la práctica, en la producción del diácido en escala comercial. Por ejemplo, la forma de realización preferida de la patente 5,620,878 de los Estados Unidos de América, describe un medio que abarca 3 g/l de peptona, 6 g/l de extracto de levadura, 6,7 g/l de base del nitrógeno de la levadura (Difco), 3 g/l de acetato de sodio, 7,2 g/l de $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$, 9,3 g/l de KH_2PO_4 , y 75 g/l de glucosa. Estos son ingredientes convenientes para la práctica en laboratorio, pero no para la fermentación en escala industrial.

Por lo tanto, continúa la necesidad de medios de biofermentación completa de bajo costo, que proporcionen la suficiente ayuda nutriente al biocatalizador de la levadura de modo que permita la alta productividad específica de diácidos a partir de material inicial adecuado de ácido graso o alcano.

Resumen de la invención

Por consiguiente, los inventores han desarrollado un medio y un proceso de fermentación económico para la fabricación de ácidos α , ω -alcanodicarboxílicos. La invención es un medio de biofermentación para la producción de ácidos α , ω -alcanodicarboxílicos, que contribuye al crecimiento de la levadura, comprende: (a) jarabe de maíz que provee una concentración de glucosa de cerca de 30 a 60 g/l; (b) una fuente de nitrógeno orgánico seleccionada del grupo, formada por licor escarpado de maíz a una concentración de entre 4 a aproximadamente 15 g/l y del extracto de levadura de cerveza en una concentración de entre 1 a aproximadamente 5 g/l; (c) una fuente de nitrógeno inorgánico; (d) una fuente de fosfato; (e) opcionalmente una fuente de elementos traza; (f) un cultivo de levadura generador de ácido α , ω -alcanodicarboxílico; y (g) un sustrato que la levadura puede convertir en un ácido α , ω -alcanodicarboxílico. Con el uso de fuentes nutrientes alternativas, de bajo costo, que apoyan el crecimiento de la levadura, la invención proporciona un medio que permite la producción comercial de diácidos importantes, en cantidad grande, utilizando un proceso biológico de conversión que no requiere material de inicio petroquímico o que produzca una corriente de desechos peligrosos. La invención proporciona un medio y un procedimiento que, aunque menos costoso que los medios del arte anteriores, da lugar a la producción de diácidos, por lo menos tan alta como los procedimientos del arte anterior por medio de las células de la levadura.

Descripción detallada de la invención

Esta invención proporciona los medios de cultivo para el crecimiento y el mantenimiento de *C. tropicalis* AR40 y cepas similares de la levadura. Estos medios incorporan fuentes nutrientes que proporcionan un caldo de cultivo rico en nutrientes, que promueve el buen crecimiento de las células de la levadura, pero que también son menos costosos que los medios divulgados en el arte anterior y deriva en alta productividad específica del diácido por las células de la levadura.

Un medio preferido de la fermentación del arte anterior para el diácido que produce la levadura, incluye una fuente del carbono tal como glucosa, una fuente orgánica del nitrógeno tal como extracto de levadura, sales, amortiguadores, y una fuente de aminoácidos, vitaminas, y minerales traza, tales como la Levadura en Base de Nitrógeno (Difco). Ver la tabla 1. Estos medios, mientras que son exitosos en el laboratorio, no son convenientes para la producción comercial de los diácidos debido al alto costo de sus ingredientes.

TABLA 1

Medio representativo del arte anterior: ¹

<u>Componente</u>	<u>Concentración en (g/l)</u>	<u>Propósito</u>
Glucosa	75	Energía, carbohidrato
Levadura Difco en Base de Nitrógeno	6,7	Nitrógeno inorgánico, aminoácidos, vitaminas, minerales, elementos traza
Extracto de Levadura Difco	3,0	Nitrógeno orgánico (aminoácidos), vitaminas, minerales, y elementos traza
Sulfato de amonio	3,0	Nitrógeno inorgánico
Fosfato de potasio, monobásico	1,0	Amortiguador
Fosfato de potasio, dibásico	1,0	Amortiguador
¹ Picataggio y otros., Bio/Tecnología, 10:894 - 898 (1992).		

Asombrosamente, los inventores han encontrado que la substitución de las fuentes nutrientes de un costo más bajo no reducen la viabilidad del cultivo de la levadura, ni reducen la producción específica de los diácidos deseados.

Los medios inventivos utilizan el jarabe de maíz como fuente principal de carbohidratos. El jarabe de maíz sin refinar en los medios OPT1 y OPT2, ver las tablas 2 y 3, es una fuente mucho más barata de glucosa que la glucosa altamente purificada usada en los medios típicos del arte anterior para la producción de diácidos de levadura. También creemos que el jarabe de maíz sin refinar es un ingrediente preferido porque también contiene nutrientes traza, que la glucosa altamente purificada no contiene, aunque el jarabe de maíz refinado o el jarabe de maíz modificado puede ser substituido. Los nutrientes traza específicos responsables de las mejoras en los resultados vistos con jarabe de maíz sin refinar, en relación con glucosa pura, son desconocidos. El jarabe de maíz sin refinar contiene niveles bajos de minerales y de sales de metales, tales como calcio, magnesio y hierro, pero el papel específico de éstos es desconocido. Adicionalmente, los inventores han descubierto que cuando se utilizan los medios inventivos, una concentración eficaz de 40 g/l de la glucosa proporciona una suficiente fuente de energía, mientras que, en el arte anterior fue descrito que se utilizaba cerca de 75 g/l de glucosa. Esta substitución reduce substancialmente el costo de la fuente de carbohidrato en el medio.

Mientras que los medios del arte anterior contienen los extractos de levadura estandarizados y/o suplidos que son semipurificados y diseñados para el uso estándar del laboratorio como fuente de aminoácidos, el licor escarpado de maíz y el extracto de levadura fermentada proporcionan estos nutrientes en los medios inventivos. Las fuentes nutrientes típicas del nitrógeno y traza en el arte anterior son extracto de levadura de Difco, un extracto de levadura estandarizado que contiene los aminoácidos, vitaminas, minerales, y elementos traza, y base del nitrógeno de la levadura de Difco, una fórmula media preparada en laboratorio que contiene sulfato de amonio, sales de fosfato, magnesio, sodio, y calcio, junto con los aminoácidos, vitaminas, y elementos traza. Éstas son fuentes nutrientes relativamente costosas, puesto que contienen niveles cuidadosamente controlados de ingredientes tales como vitaminas B. Los medios inventivos contienen menos componentes definidos que puedan proporcionar la nutrición equivalente a un costo menor total. Los medios preferidos contienen el jarabe de maíz, que proporciona una concentración de la glucosa de entre 30 a aproximadamente 60 g/l, una fuente orgánica del nitrógeno (licor escarpado de maíz, aproximadamente de 4-15 g/l ó de extracto de levadura de cerveza, aproximadamente 1-5 g/l), una fuente inorgánica de nitrógeno, una fuente de fosfato, y opcionalmente una fuente de elementos traza.

Los medios para el uso con esta invención se pueden utilizar con cualquier levadura que produce diácido, y una variedad amplia de sustratos. Cualquier ácido graso, éster del ácido graso, o sustrato de alcano, saturado o no saturado, puede ser utilizado. El sustrato deseable tiene 6-22 átomos de carbono, aunque los ácidos grasos deseables tienen 10-22 átomos de carbono. Los sustratos preferidos son ácido láurico, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido oleico ácido palmítico y los ésteres metílicos de estos, y dodecano, tridecano, y tetradecano.

Los siguientes ejemplos describen medios según la invención y su uso en la producción de ácidos α , ω -alcanodi-carboxílicos. Un ejemplo comparativo que usa el medio que contenía los ingredientes enumerados en la tabla 1 (con

glucosa en 60 g/l), también es incluido. Este ejemplo comparativo demuestra que los medios de esta invención apoyan el crecimiento y la producción específica de ácidos α , ω -alcanodicarboxílicos tal como medios del arte anterior, bajo las mismas condiciones.

Ejemplos

1. Medio OPT1

El licor escarpado de maíz, el sulfato de amonio y las sales de fosfato enumerados en la tabla 2 en las cantidades suficientes para obtener las concentraciones finales indicadas fueron disueltos en agua desionizada y esterilizados, calentando a 121°C y 15 libras por pulgada cuadrada de presión, (psig). El extracto de maíz sin refinar, así como la solución de glucosa al 50%, fue esterilizado por separado calentando de la misma forma. Las soluciones concentradas de las sales minerales restantes y de los elementos traza, fueron preparadas individualmente y esterilizadas con filtro, por filtración por separado. El extracto de maíz, las sales, y las soluciones de los elementos traza fueron agregados a la solución enfriada que contenía el licor escarpado de maíz, para rendir las concentraciones indicadas. El medio resultante entonces fue elevado a un pH de 6,5. El extracto de maíz sin refinar utilizado en los medios OPT1 y OPT2 era jarabe de maíz de dextrosa al 95%, sin refinar, Cargill CLEARSTREET™. El licor escarpado de maíz era Cargill Heavy Steepwater.

TABLA 2
Medio OPT1

Componente	Concentración (g/L)
Extracto de maíz sin refinar	40 (base glucosa)
Licor escarpado de maíz	9,0
Sulfato de Amonio	8,0
Fosfato de Potasio, monobásico	2,0
Fosfato de Potasio, dibásico	1,0
Sulfato de magnesio (MgSO ₄ ·7H ₂ O)	0,5
Cloruro de Sodio	0,1
Cloruro de Calcio (CaCl ₂ ·2H ₂ O)	0,1
Solución de elementos traza*	1,0 mL/L
* La solución de elementos traza contiene 500 mg/l H ₃ BO ₃ , 400 mg/l MnSO ₄ · 7H ₂ O, 400 mg/l ZnSO ₄ · 7H ₂ O, 200 mg/l FeCl ₃ · 6H ₂ O, 200 mg/l NaMoO ₄ · 2H ₂ O, 100 mg/l KI, and 40 mg/l CuSO ₄ · 5H ₂ O.	

2. El Medio OPT2

El medio OPT2 contiene los componentes enumerados en la tabla 3, y se hace según lo descrito en el ejemplo 1, substituyendo el Extracto de Levadura de Cerveza por el Licor Escarpado de Maíz. El extracto de levadura de cerveza usado en este medio fue Amberex™ 1003.

TABLA 3
Medio OPT2.

Componente	Concentración (g/L)
Extracto de Maíz sin Refinar	40 (base glucosa)
Sulfato de Amonio	8,0
Extracto de Levadura Fermentada	3,0
Fosfato de Potasio, monobásico	2,0
Fosfato de Potasio, dibásico	1,0
Sulfato de Magnesio (MgSO ₄ ·7H ₂ O)	0,5
Cloruro de Sodio	0,1
Cloruro de Calcio (CaCl ₂ ·2H ₂ O)	0,1
Solución de Elementos Traza*	1,0 mL/L
*La Solución de Elementos Traza esta descrita en la Tabla 2.	

3. Producción Biofermentativa del ácido 1,14-tetradecanodioico con *C. tropicalis* AR40 Crecida en el Medio OPT1

La *C. tropicalis* AR40 fue hecha crecer bajo condiciones estériles en el Medio OPT1 en un fermentador con agitador, aireado, con un volumen de líquido inicial de 2,5 l. El medio de cultivo estéril fue inoculado con un inóculo del 10% de *C. tropicalis* AR40 y crecido en 30°C, pH 6,5, con un índice de la aireación de 1 w/m (aire) por 18 horas. En este tiempo, después de que el crecimiento de las células ha alcanzado la densidad máxima de la célula, la fase de la conversión fue iniciada comenzando a agregar el sustrato del metil miristato. Al mismo tiempo, el pH del cultivo fue elevado a 8,2 con el hidróxido de sodio 6N. El pH fue mantenido en 8,2 para las primeras 30 horas de la fase de conversión y en 8,7 después de eso, con la adición controlada de la solución del hidróxido del sodio. Durante la fase de conversión, el jarabe de maíz sin refinar fue agregado continuamente al medio de cultivo en el índice de 2,0 glucosa/l/hora. El sustrato fue agregado en una proporción suficiente para proveer un exceso del sustrato, en relación al índice de la conversión del sustrato, al producto del diácido. Sobre el período de la conversión de 49 horas, el ácido 1,14-tetradecanodioico fue producido, en un índice medio de 0,76 g/l/hr.

4. Producción Biofermentativa del ácido 1,14-tetradecanodioico con *C. tropicalis* AR40 Crecida en el Medio OPT1

La fermentación descrita en el ejemplo 3 fue repetida con las siguientes diferencias de menor importancia. El pH fue controlado a un pH 8,2 para las primeras 32,5 horas de la conversión y 8,7 después de eso. Durante la fase de la conversión, jarabe de maíz sin refinar fue agregado en un índice de 1,89 glucosa/l/hr. En un período de conversión de 50 horas, el ácido 1,14-tetradecanodioico fue producido en un índice medio de 0,99 g/l/hr.

5. Producción Biofermentativa del ácido 1,14-tetradecanodioico con *C. tropicalis* AR40 Crecida en el Medio OPT2

La fermentación descrita en el ejemplo 4 fue repetida, substituyendo el medio OPT2 por el medio OPT1 y en un pH levemente diferente. El pH fue controlado a pH 8,1 para las primeras 29,5 horas y a 8,7 después de eso. En un período de conversión de 50 horas, el ácido 1,14-tetradecanodioico fue producido en un índice medio de 0,84 g/l/hr.

6. Producción Biofermentativa Comparativa del ácido 1,14-tetradecanodioico con *C. tropicalis* AR40 Crecida en un Medio Representativo del Arte Anterior

La biofermentación fue realizada cuatro veces separadas usando el mismo biocatalizador y bajo esencialmente las mismas condiciones que en el ejemplo 4, excepto que el medio utilizado fue el medio representativo del arte anterior

ES 2 281 963 T3

descrito en la tabla 1 con glucosa a 60 g/l. También, para estos ejemplos, según los procedimientos del arte anterior, la glucosa del grado reactivo fue utilizada no solamente como la fuente del carbono durante el crecimiento de la célula, sino también durante la fase de la conversión. Durante la conversión, la glucosa fue agregada en un índice de 1,8 +/- 0,3 g/l/hora, y el sustrato fue agregado al fermentador en una proporción suficiente para proveer un exceso del sustrato con respecto al índice de la conversión del sustrato al diácido. La tarifa de la producción del diácido para estos experimentos varia entre 0,58 y 0,80 g/L/h. El índice de producción medio del diácido en 50 horas de conversión de los cuatro experimentos fue 0,69 g/l/hr.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Un medio de biofermentacion para la producci3n de 6cidos α , ω -alcanodicarbox6licos que apoya el crecimiento de la levadura, comprende:

- a) jarabe de ma6z que proporciona una concentraci3n de glucosa de 30 a 60 g/l;
- b) una fuente org6nica del n6tr3geno seleccionada del grupo, constituida por licor escarpado de ma6z a una concentraci3n de 4 a 15 g/l y del extracto de levadura de cerveza en una concentraci3n de 1 a 5 g/l;
- c) una fuente de n6tr3geno inorg6nico;
- d) una fuente de fosfato;
- e) opcionalmente una fuente de elementos traza;
- f) un cultivo de la levadura productora de 6cidos α , ω -alcanodicarbox6licos, seleccionado de *C. tropicalis* AR40 (ATCC No. 209 87) y;
- g) un sustrato que la levadura puede convertir en un 6cido α , ω -alcanodicarbox6lico, en donde dicho sustrato tiene de 6 a 22 6tomos de carbono y es seleccionado a partir de 6cidos grasos, 6steres de 6cidos grasos y alcanos.

2. Un medio de biofermentacion seg6n la reivindicaci3n 1, en el que el jarabe de ma6z proporciona una concentraci3n de la glucosa de 40 g/l, y la fuente de n6tr3geno org6nico es licor escarpado de ma6z en una concentraci3n de 9 g/l.

3. Un medio de biofermentacion seg6n la reivindicaci3n 1, en el que el jarabe de ma6z proporciona una concentraci3n de la glucosa de 40 g/l, y la fuente de n6tr3geno org6nico es extracto de levadura fermentada en una concentraci3n de 3 g/l.

4. Un medio de biofermentacion seg6n la reivindicaci3n 1, en el que el jarabe de ma6z es jarabe de ma6z sin refinar.

5. Un procedimiento para producir 6cidos α , ω -alcanodicarbox6licos que comprende la biofermentacion por levadura de un sustrato que contiene de 6 a 22 6tomos de carbono seleccionados del grupo, constituido por 6cidos grasos, 6steres de 6cidos grasos, y alcanos, en el medio de biofermentacion seg6n la reivindicaci3n 1.

6. Un procedimiento de producir 6cidos α , ω -alcanodicarbox6licos seg6n la reivindicaci3n 5, en el que el sustrato es un 6cido graso que tiene 10 - 22 6tomos de carbono.

7. Un procedimiento de producir 6cidos α , ω -alcanodicarbox6licos seg6n la reivindicaci3n 5, en el que el sustrato es seleccionado a partir del grupo constituido por 6cido l6urico, 6cido miristico, 6cido palmitico, 6cido este6rico, 6cido oleico, 6cido palmitoleico, metil 6ster del 6cido l6urico, metil 6ster del 6cido miristico, metil 6ster del 6cido palmitico, metil 6ster del 6cido este6rico, metil 6ster del 6cido oleico, metil 6ster del 6cido palmitoleico, dodecano, tridecano y el tetradecano.