



Mapeamento tecnológico dos métodos de extração de lipídeos de microalgas

Amanda Pereira da Paz

Monografia em Engenharia Química

Orientadoras:

**Prof^ª. Yordanka Reyes Cruz, D.Sc.
Carolina Vieira Viêgas, D.Sc.**

Janeiro de 2021

Mapeamento tecnológico dos métodos de extração de lipídeos de microalgas

Amanda Pereira da Paz

Monografia em Engenharia Química submetida ao Corpo Docente da Escola de Química, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Engenharia Química.

Aprovado por:

Adriana dos Anjos Silva, D.Sc.

Gisel Chenard Diaz, D.Sc.

Orientado por:

Yordanka Reyes Cruz, D.Sc.

Carolina Vieira Viêgas, D.Sc.

Rio de Janeiro, RJ - Brasil
Janeiro de 2021

Ficha Catalográfica

Da Paz, Amanda Pereira.

Mapeamento tecnológico dos métodos de extração de lipídeos de microalgas / Amanda Pereira da Paz. Rio de Janeiro: UFRJ/EQ, 2021.

xiii, 56 p.; il.

(Monografia) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, 2021.

Orientadores: Yordanka Reyes Cruz e Carolina Vieira Viêgas.

1. Microalgas. 2. Lipídios 3. Extração. 4. Monografia (Graduação - UFRJ/EQ). 5 Yordanka Reyes Cruz, D.Sc.. 6. Carolina Vieira Viêgas, D.Sc.. I. Mapeamento tecnológico dos métodos de extração de lipídeos de microalgas

Aos meus pais e aos meus irmãos por serem a minha base, meus exemplos e maiores
incentivadores.

Nada no mundo é mais perigoso que a ignorância sincera e a estupidez conscienciosa –
Martin Luther King

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer, primeiramente, aos meus pais Cristina e Joaquim pelo apoio, dedicação e amor, por estarem presentes em todos os momentos importantes e sempre acreditarem em mim.

Aos meus irmãos, Clarissa, Lucas e Pedro por sempre fazerem da minha vida mais leve, tornando momentos difíceis mais fáceis. Ao meu sobrinho Ayan, que ainda não nasceu, mas já me incentiva a querer ser uma pessoa melhor.

Ao meu namorado, Rafael, por ser meu porto seguro em momentos de ansiedade e por ser um grande incentivador de tudo que eu faço.

Às orientadoras, Carolina e Yordanka, pela empolgação, orientação e disponibilidade, além de serem muito mais do que orientadoras e serem muito queridas.

Também a Neumara, que não foi minha orientadora neste projeto, mas foi minha orientadora da iniciação científica, que me apresentou o mundo das microalgas, que me fez criar tanto carinho pelo tema.

Aos amigos da UFRJ, do GreenTec, da Ipiranga, da White Martins e do intercâmbio que deixaram minha trajetória acadêmica mais divertida e prazerosa. Em especial a minha amiga Mayra, que mesmo a distância se faz muito presente na minha vida.

Por fim, agradeço a Deus, por tornar este trabalho possível, pelos anos de faculdade e por colocar pessoas incríveis em minha vida.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
CENTRO DE TECNOLOGIA
ESCOLA DE QUÍMICA



Resumo do Projeto Final apresentado à Escola de Química como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de Engenharia Química.

Mapeamento tecnológico dos métodos de extração de lipídeos de microalgas
Amanda Pereira da Paz

Janeiro, 2021

Orientadores: Prof^ª.Yordanka Reyes Cruz, D.Sc.
Carolina Vieira Viegas, D.Sc

A exploração do conteúdo celular das microalgas está sendo muito estudada pela vasta quantidade de aplicações e pelo fato do cultivo microalgal não demandar muito espaço para crescimento e acúmulo de biomassa. No caso da extração de lipídios, ela tem sido muito explorada para produção de biocombustíveis e para fins alimentícios. Entretanto, o uso de lipídios para esses processos em larga escala é limitado pelo custo de pré-tratamentos da biomassa para a extração. Dentro deste contexto, o presente trabalho tem como objetivo identificar tendências tecnológicas de extração de lipídios através da elaboração de um estudo de prospecção tecnológica. Para isso, foram analisadas as patentes prospectadas nas bases Derwent e INPI no período de 2000 a 2020 com as palavras-chave “Microalga”, “Lipídio” e “Extração”. Na base Derwent saíram como resultado 160 patentes, dentre elas foram determinadas as áreas de conhecimento “*Energy Fuels*” e “*Food Science Technology*”, que foram as áreas de interesse escolhidas para esse trabalho, e retirando as patentes repetidas e irrelevantes foram prospectadas ao total 62 patentes dessa base. Já na base do INPI, pelo mesmo período e com o uso das mesmas palavras-chave foram obtidas 6 patentes e todas foram utilizadas nesse trabalho, somando um total de 68 patentes analisadas. Os Estados Unidos foi o país com o maior número de depósitos de patentes, representando 23,5% do total. Além disso, foi observado uma grande quantidade de processos envolvidos na extração de lipídios, também uma ampla variedade de aplicação em seu uso, explicitando a importância e relevância desse estudo.

Palavras-chave: *Microalga, lipídeo, extração.*

ÍNDICE

Capítulo I - INTRODUÇÃO	11
I.1 Justificativa do trabalho	11
I.2 Estrutura do Trabalho	13
I.3 Objetivos.....	13
I.3.1 Objetivo geral	13
I.3.2 Objetivos específicos.....	13
Capítulo II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
II.1. Microalgas	14
II.1.1 Tipos de cultivo de microalgas.....	14
II.1.2 Condições nutricionais para o cultivo de microalgas.....	17
II.1.3 Formas de condução de cultivos microalgáceos	19
II.2 Lipídios de Microalgas	20
II.2.1 Formas de extração de lipídios.....	21
II.2.2 Lipídios para a produção de biocombustíveis	25
II.2.2 Lipídios para a indústria e tecnologia de alimentos	27
Capítulo III – Prospecção Tecnológica	29
III.1. Conceito e Metodologias	29
III.1.1. Conceito e Objetivos.....	29
III.1.2. Metodologia do estudo tecnológico de patentes	30
Capítulo IV – Resultados e Discussão	34
IV.1. Resultados do estudo tecnológico de patentes.....	34
IV.1.1 Evolução temporal dos pedidos de depósitos de patente.....	34
IV.1.2 Distribuição de patentes por localidade.....	35
IV.1.3 Determinação de condições de cultivo	39
IV.1.4 Determinação das espécies de microalgas mais descritas	41
IV.1.5 Pré-tratamento da biomassa.....	43
IV.1.6 Extração de lipídios	45
IV.1.7 Produção de ésteres de interesse específico ou biodiesel	46
IV.1.8 Aplicação específica	47
IV.1.9 Objetivos dos processos de extração de lipídios descritos nas patentes.....	49
Capítulo V – Conclusão	51
Capítulo VI – Referências Bibliográficas	52

LISTA DAS ABREVIATURAS

DWPI – DERWENT WORLD PATENTS INDEX

OMPI – ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE PROPRIEDADE INTELECTUAL

INPI – INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

g – Grama

L – Litro

s – Segundo

m – Metro

$\mu\text{mol}(\text{es})$ – Micromol(es)

pH - Potencial hidrogeniônico

LISTA DAS FIGURAS

Figura 1. Reação de transesterificação de triglicerídeos. Fonte: Mata et al, 2010	26
Figura 2. Prospecção Tecnológica. Fonte: Adaptado de Pires Teixeira, 2013.	30
Figura 3. Gráfico de patentes relevantes e descartadas na base Derwent.....	33
Figura 4. Evolução temporal dos pedidos de depósito de patentes considerando os anos de 2000 a 2020 nas bases Derwent e INPI	35
Figura 5. Evolução temporal dos pedidos de depósito de patentes considerando os anos de 2000 a 2020 nas bases Derwent e INPI	36
Figura 6. Distribuição do tipo de depositante de patentes nas bases Derwent e INPI.....	38
Figura 7. Distribuição de empresas e instituições de ensino com maior número de depósito de patente nas bases Derwent e INPI.....	38
Figura 8. Patentes analisadas que citavam algum parâmetro referente a “Condições de Cultivo” nas bases Derwent e INPI	40
Figura 9. Meio BG11. (F. Di Caprio et al, 2018).....	40
Figura 10. Análise das espécies de microalgas utilizadas no processo de produção e extração de lipídios descritas nas patentes nas bases Derwent e INPI.....	41
Figura 11. Produtividade de algumas espécies de microalgas (Viêgas, 2010 e Mata et al, 2010)	42
Figura 12. Quantidade de patentes relacionadas a processos de secagem da biomassa para extração de lipídios nas bases Derwent e INPI.....	43
Figura 13. Quantidade de patentes que explicitam os processos de rompimento celular na extração de lipídios nas bases Derwent e INPI.....	44
Figura 14. Quantidade de patentes que citam os métodos de extração de lipídios nas bases Derwent e INPI	45
Figura 15. Processos de esterificação e produção de biodiesel prospectadas nas bases Derwent e INPI	47
Figura 16. Produtos citados como foco de produção nas patentes prospectadas nas bases Derwent e INPI	48
Figura 17. Patentes prospectadas que citaram processos de extração de outros compostos além da extração de lipídios nas bases Derwent e INPI	49
Figura 18. Avaliação dos principais objetivos do processo de extração de lipídios nas patentes prospectadas.....	50

LISTA DAS TABELAS

Tabela 1. Comparação das características de diferentes tipos de cultivos de microalgas. Fonte: Elaborado com base em A. Suali & Sarbatly (2012).	16
Tabela 2. Processos envolvidos na extração de lipídios. Fonte: Elaborado com base em M.L. Menegazzo e G.G. Fonseca, 2019.	21
Tabela 3. Área de conhecimentos determinadas e quantidade de documentos encontrados, repetidos, irrelevantes e analisados da base de dados Derwent	31
Tabela 4. Patentes encontradas com as palavras-chave “microalga”, “lipídio” e “extração” na base de patentes do INPI.	31
Tabela 5. Países das empresas ou instituições de ensino que depositaram as patentes na base internacional.....	36
Tabela 6. Classificação das empresas com maior número de patentes depositadas por setor industrial	38

Capítulo I - INTRODUÇÃO

I.1 Justificativa do trabalho

As microalgas estão presentes em todos os ecossistemas existentes, não apenas nos aquáticos, mas também nos terrestres, representando uma grande variedade de espécies vivendo em amplas condições ambientais (Mata,2010). Em comparação com as oleaginosas, o crescimento da microalga não precisa de herbicidas ou pesticidas, o que é uma vantagem para o meio ambiente (Rodolfi et al. 2009). Apesar de suas estruturas simples, (Hajar et al., 2017) as microalgas contêm grandes quantidades de lipídios, proteínas e carboidratos, que podem ser usados para diferentes mercados (Vanthoor-Koopmans et al., 2013).

As microalgas têm sido amplamente exploradas devido a aplicabilidade e potencial como fonte de biomassa para a produção de biocombustíveis e materiais de alto valor agregado. Os lipídios podem ser usados como fonte de biocombustíveis, como blocos de construção na indústria química e como óleos comestíveis para os mercados de alimentos e saúde. No entanto, as técnicas de *downstream*, como a extração de lipídios, ainda precisam ser totalmente desenvolvidas para superar as barreiras técnico-econômicas (Muhammad et al, 2021). Por isso, o mapeamento de tecnologias de extração de lipídeos e estratégias de lise das células torna-se necessário (Lee et al., 2020).

A extração de lipídios de microalgas apresenta considerável relevância que justifica a utilização da ferramenta de prospecção tecnológica para analisar, através de mapeamento tecnológico, a produção científica e patentária. Estas informações serão úteis na geração de políticas, estratégias e na fundamentação de processos de tomada de decisão relacionadas a linha de pesquisa sobre extração de lipídios e qualquer outro assunto.

A prospecção tecnológica objetiva identificar uma estratégia de pesquisa e tecnologias emergentes que tenham tendência de gerar maiores benefícios econômicos e sociais (SECTES/CEDEPLAR, 2009). Além disso, as empresas, para se manterem competitivas, buscam se diferenciar tentando inovar e antecipar tendências, para que em cenários de mudança possam agir prematuramente a frente da concorrência (Ribeiro, 2018). Outra perspectiva considerada no processo de prospecção tecnológica é a análise do conjunto de fatores e atores envolvidos na etapa de criação da inovação, bem como as relações entre eles, visando prever potenciais tecnológicos e avaliar características e consequências das mudanças tecnológicas. Portanto, o processo envolve previsão de possíveis impactos econômicos, sociais ou ambientais (Tigre, 2006). As análises da prospecção tecnológica

podem ser consideradas um processo de inteligência competitiva, e a partir de informações disponíveis em todo mundo, gerar novos cenários e potenciais nichos de mercados. (Vicente, M. 2017)

A prospecção tecnológica permite mapear desenvolvimentos científicos e tecnológicos com potencial de atuação e influência significativa em determinada indústria, assim como destacar inovações tecnológicas no setor (Kupfer e Tigre, 2004).

I.2 Estrutura do Trabalho

O presente trabalho está estruturado em sete capítulos. Uma breve descrição sobre cada capítulo é apresentada a seguir:

CAPÍTULO I - Introdução ao tema do trabalho, organização do texto bem como os objetivos do trabalho;

CAPÍTULO II - Revisão bibliográfica: apresenta uma visão geral e os conceitos necessários para o entendimento do assunto, abordando informações sobre microalgas e extração de lipídios;

CAPÍTULO III - Prospecção Tecnológica: apresenta conceitos necessários para o entendimento do assunto de prospecção tecnológica;

CAPÍTULO IV - Estudo Tecnológico de Patentes: Aborda a metodologia utilizada no estudo de patentes, análises e discussões das mesmas;

CAPÍTULO V - Conclusões: considerações finais desta monografia;

CAPÍTULO VI - Referências Bibliográficas: enumera as fontes de informação utilizadas no estudo realizado.

I.3 Objetivos

I.3.1 Objetivo geral

O presente trabalho tem como objetivo geral levantar informações tecnológicas sobre os processos extração de lipídeos de microalgas.

I.3.2 Objetivos específicos

Dentre os objetivos específicos do presente trabalho enumeram-se os seguintes:

- Analisar a evolução do cenário patentário mundial relacionado à extração de lipídios para produção de biocombustível;
- Analisar a evolução do cenário patentário mundial relacionado à extração de lipídios para produção de produtos alimentícios
- Identificar tendências mundiais do processo de extração de lipídios de microalgas

Capítulo II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

II.1. Microalgas

As microalgas são organismos unicelulares e microscópicos que vivem em ambientes aquáticos e possuem uma característica particular: não são classificadas como plantas, mas são capazes de realizar fotossíntese e logo, seus processos biológicos envolvem luz e gás carbônico. As microalgas possuem a capacidade de reprodução rápida, aumentando sua biomassa em grandes quantidades em pouco tempo.

A abundante quantidade de proteínas acumuladas em algumas espécies de algas as tornou uma das promissoras fontes não convencionais de proteínas. Carboidratos como glicose, amido e outros polissacarídeos de algas possuem alta taxa de digestibilidade para ração ou alimento. Eventualmente, outro constituinte importante das microalgas são os ácidos graxos e lipídios. Os lipídios das microalgas incluem os ácidos graxos ômega-3 e ômega-6, que alcançaram atenção científica devido às suas características de promoção da saúde e supressoras de doenças. (Katiyar et al, 2020)

Além disso, quando comparado a cultivos agrícolas tradicionais, a produção de microalgas pode ser de 10 a 100 vezes maior. Essa característica chamou a atenção dos pesquisadores do setor de energia, em particular os de biocombustíveis, que necessitam de grandes quantidades de matérias-primas renováveis.

Portanto, as microalgas têm seu espaço em diversos setores industriais atendendo a diferentes tipos de mercado, principalmente aos que pagam caro por matérias-primas, como é o caso da indústria cosmética e a de suplementos alimentares.

Segundo dados da Chies (2017), existem pelo menos 4 empresas no Brasil produzindo microalgas. Na região Nordeste, duas têm foco em nutrição humana e animal e as outras duas, encontradas no interior de São Paulo, atendem as indústrias de ração animal e cosmética e ainda, projetos de tratamento de efluentes. Uma das preocupações é a diminuição do custo de produção já que um dos principais mercados, o de biocombustíveis, necessita de grandes volumes e preços reduzidos.

II.1.1 Tipos de cultivo de microalgas

As características de crescimento e a composição das microalgas são significativamente dependentes do tipo de cultivo, sendo o fototrófico, heterotrófico, mixotrófico e fotoheterotrófico os principais tipos utilizados no cultivo de microalgas (Ahmad et al., 2011; Amaro et al., 2011).

O cultivo fototrófico ocorre quando a microalga usa luz, por exemplo, a luz solar, como fonte de energia e carbono inorgânico, por exemplo, o CO₂, como fonte de carbono para produzir energia química através do processo de fotossíntese (Huang et al., 2010).

O cultivo fototrófico tem uma vantagem ambiental, uma vez que o dióxido de carbono atmosférico, principal contribuinte do efeito estufa, pode ser utilizado na produção de biomassa microalgácea para o desenvolvimento de biocombustíveis, o que ocasionaria um balanço energético favorável. Principalmente por este motivo, o cultivo fototrófico é o tipo mais comumente usado para o crescimento de microalgas (Yoo et al., 2010).

Mata e colaboradores (2010) relataram que o teor lipídico em microalgas pode variar de 5 a 60%, dependendo da espécie, quando cultivadas fototroficamente.

No entanto, intensidade de luz e suprimento de CO₂ insuficientes são sempre questões problemáticas para o cultivo fototrófico. Em sistemas de cultivos abertos, a limitação é decorrente principalmente do fotoperíodo. Além disso, uma distribuição irregular da intensidade de luz afeta a produtividade em biomassa. Na literatura, raramente são reportadas concentrações finais de biomassa que ultrapassem 2 g · L⁻¹ (Zheng et al., 2012).

Alguns autores alegam que a suplementação com CO₂ poderia aumentar as produtividades em biomassa e lipídios, já que sua concentração na atmosfera é baixa (Ishida et al., 2000; Muradyan et al., 2004). Entretanto, é importante construir sistemas que impeçam a perda do excesso de CO₂. Ainda assim, deve-se levar em consideração que o acúmulo do oxigênio formado no processo de fotossíntese, uma vez que à medida que se aumenta a absorção de CO₂, aumenta-se a produção de O₂, que atua como inibidor das hidrogenases, enzimas responsáveis pela produção de hidrogênio necessário à produção de lipídios. Com isso, o aumento de CO₂ pode acarretar na redução da produção de lipídios (a.Sualli et al., 2012).

Algumas espécies de microalgas podem crescer sob condições fototróficas, e também podem utilizar carbono orgânico na ausência de luz. Neste caso, no qual as algas usam o carbono orgânico tanto como fonte de energia quanto como fonte de carbono, o cultivo é chamado de heterotrófico (Huerlimann et al., 2010; Xiong et al., 2008).

O cultivo heterotrófico evita problemas associados à limitação de luz e tem apresentado resultados relevantes na produção de biomassa microalgácea, sendo os rendimentos significativamente superiores aos do cultivo fototrófico (Huang et al., 2010).

Xu e colaboradores (2006) obtiveram um aumento de 40 % no teor lipídico quando alteraram o tipo de cultivo de uma *Chlorella protothecoides* de fototrófico para heterotrófico.

A escolha pelo metabolismo heterotrófico é questionada no sentido de ser necessária a adição de uma fonte de carbono orgânica, o que pode acarretar custos elevados se a mesma tiver que ser comprada e, com isso, inviabilizar a produção de biocombustíveis a partir de microalgas (Feng et al., 2011; Liang et al., 2013).

No cultivo mixotrófico, a microalga é submetida à fotossíntese e usa compostos orgânicos e inorgânicos (CO₂) como fonte de carbono para o crescimento. Assim, a microalga está apta a viver tanto em condições fototróficas quanto em heterotróficas. Ao utilizar compostos orgânicos, a microalga libera CO₂ via respiração e este é absorvido e utilizado sob cultivo fototrófico (Mata et al., 2010).

No cultivo fotoheterotrófico, a microalga requer luz quando usa compostos orgânicos como fonte de carbono. A principal diferença entre o mixotrófico e o fotoheterotrófico é que neste último somente a luz é usada como fonte de energia. Além disso, no fotoheterotrófico, a luz e as fontes orgânicas são necessárias ao mesmo tempo. Embora a produção de alguns metabólitos regulados pela intensidade de luz possa ser aumentada em cultivo fotoheterotrófico, a aplicação deste tipo de cultivo para produção de biodiesel é muito rara, assim como o caso de cultivo mixotrófico. Além disso, ambos tipos de cultivo são limitados por risco de contaminação e exigência de luz e pode exigir um fotobiorreator de grande escala especial, aumentando demasiadamente o custo de operação (a.Sualli et al., 2012).

Na Tabela 1 estão resumidas as principais características de cada tipo de cultivo.

Tabela 1. Comparação das características de diferentes tipos de cultivos de microalgas. Fonte: Elaborado com base em A. Suali & Sarbatly (2012).

Tipos de cultivo	Fototrófico	Heterotrófico	Mixotrófico	Fotoheterotrófico
Fonte de energia	Luz	Orgânica	Luz e orgânica	Luz
Fonte de carbono	Inorgânica	Orgânica	Inorgânica e orgânica	Orgânica
Densidade	Baixo	Alto	Médio	Médio

celular				
Tipo de reator	Aberto ou fotobioreator	Fermentador convencional	Fotobioreator fechado	Fotobioreator fechado
Custo	Baixo	Médio	Alto	Médio
Principais desvantagens	Baixa densidade Contaminação em sistema aberto	Alto custo de substrato Risco de contaminação	Alto custo de substrato e equipamento Risco de contaminação	Alto custo de substrato e equipamento Risco de contaminação

II.1.2 Condições nutricionais para o cultivo de microalgas

A produção de lipídios e as concentrações de diferentes ácidos graxos em microalgas também são influenciadas pela composição do meio de cultura. Frequentemente, o aumento no acúmulo de ácidos graxos é descrito como consequência aos efeitos da limitação de nutrientes e do tempo de cultivo (Mata et al., 2010).

Em condições limitantes de crescimento, verifica-se uma queda na divisão celular, na taxa fotossintética e na síntese de proteínas. A energia fotossintética é desviada da divisão celular para o acúmulo de carboidratos e síntese de lipídios, ocorrendo também um aumento da síntese de enzimas específicas para a absorção de nutrientes (Hakalin, 2014).

Por outro lado, Huerlimann e colaboradores (2010) verificaram um aumento do conteúdo de algumas classes lipídicas na fase exponencial de *Rhodomonas sp.* e *Isochrysis sp.* cultivadas em meio K^+ e sob 250 $\mu\text{moles de f\u00f3tons.m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Usualmente, as microalgas apresentam uma pequena produção de lipídios durante a fase exponencial, geralmente polares e poliinsaturados, com um aumento na síntese quando as culturas alcançam a fase estacionária de crescimento, predominando os apolares (Piorreck et al., 1984).

Na composição das microalgas, além do carbono (C), estão presentes pelo menos 19 elementos químicos. Alguns são necessários em concentrações na ordem de miligramas por litro, como H, N, O, P, S, K, Na, Ca e Mg. Outros podem ser detectados como elementos traços ou micronutrientes e normalmente são requeridos em concentrações de nanogramas a microgramas por litro, como Si, Fe, Mn, Mo, Cu, Co, Zn, B e Va. Esses micronutrientes são incorporados em moléculas orgânicas essenciais, como em uma variedade de coenzimas

(CoA, cobamamida etc.) que participam de reações primordiais à vida da célula (Reynolds, 2006).

Os micronutrientes formam os constituintes estruturais das biomoléculas, da membrana citoplasmática e do meio intracelular, e ainda participam dos processos energéticos e de regulação metabólica. A ausência ou insuficiência destes micronutrientes pode causar danos afetando algumas funções vitais desses microrganismos (Lourenço et al., 2006).

Dentre os nutrientes mais importantes estão o fósforo (P) e o nitrogênio (N), que existem no ambiente aquático de diversas formas, podendo estar dissolvidos, particulados ou na forma biótica. Entretanto, apenas a forma dissolvida é diretamente disponível para o crescimento das microalgas. Várias espécies ainda necessitam de quantidades ínfimas de compostos orgânicos para o seu crescimento, como as vitaminas (Lourenço et al., 2006).

O fósforo é um importante fator limitante ao crescimento de microalgas, pois é essencial aos processos celulares como a transferência de energia (ATP) e a biossíntese de ácidos nucleicos, fosfolipídios, DNA etc., influenciando na composição da biomassa. O ortofosfato inorgânico (PO_4^{-3}) é a forma iônica de fósforo de uso preferencial pelas microalgas e sua absorção é dependente de energia. Portanto, esta é a fonte de fósforo mais utilizada nos meios de cultura. Existem outras fontes de fósforo inorgânico que podem ser absorvidas pelas microalgas, como o fosfato diácido ou didrogenofosfato (H_2PO_4^-) e o fosfato ácido ou hidrogenofosfato (HPO_4^{-2}) que são espécies provenientes do ácido ortofosfórico (H_3PO_4) (Salazar, 2015).

As vitaminas são compostos orgânicos essenciais ao funcionamento do metabolismo e muitas podem ser encontradas como cofatores de enzimas, desempenhando a função de coenzimas, que apresentam papéis vitais tanto para manutenção e crescimento quanto para acúmulos de biomoléculas na célula. Dentre elas, destaca-se a biotina, coenzima que catalisa reações de ativação e transferência de CO_2 ; a cobalamina (B12), coenzima que catalisa reações de isomerização e transferência de grupos metil; e tiamina (B1), coenzima que catalisa reações de ativação e transferência de aldeídos (Alberts et al., 2010).

Alguns processos biotecnológicos com microalgas almejam alcançar altos rendimentos em biomassa e para isso devem-se escolher os nutrientes e parâmetros físico-químicos adequados, levando em consideração o habitat natural das espécies para determinar as necessidades básicas para seu crescimento. Em contrapartida, algumas aplicações biotecnológicas visam condições de estresse para otimizar a biossíntese de biocompostos específicos, como os ácidos graxos. Os fatores de estresse mais estudados são as concentrações de certos nutrientes, intensidade luminosa, temperatura, salinidade e pH. A

limitação de nutrientes nos meios de culturas afeta em grandes proporções a composição química das algas, assim como sua taxa de crescimento (Radmann et al., 2008).

Em estudos realizados com microalgas cultivadas em baixas concentrações de nitrogênio, Piorreck e colaboradores (1984) observaram um aumento no conteúdo lipídico dessas microalgas sem, no entanto, alterar o perfil lipídico e de ácidos graxos. Em culturas de *Chlorella*, nas quais a divisão celular cessou devido à falta de nitrogênio no meio de cultura, o conteúdo lipídico das células aumentou de 28% para 70%, coincidente com um decréscimo no conteúdo proteico de 30% para 8% (Round, 1973). A maioria dos meios de cultivo utilizados para facilitar o acúmulo de lipídios nas microalgas são meios modificados a partir dos conhecidos como BG-11 (Rippka et al., 1979) e como BOLD 3N (Bold, 1949).

II.1.3 Formas de condução de cultivos microalgáceos

O cultivo de microalgas pode ser conduzido em diversos tipos de sistemas, sejam estes abertos ou fechados e ainda em cultivos fototrófico, mixotrófico, fotoheterotrófico ou heterotróficos. Dentre estes, destacam-se o processo descontínuo simples, o semicontínuo, o descontínuo alimentado e o contínuo (Hakalin, 2014).

O processo descontínuo simples, também chamado de batelada simples, é aquele no qual são adicionados, de forma simultânea ou não, o meio de cultura e o inóculo de microalga ao biorreator. Após um determinado tempo e finalizado o cultivo, separa-se a biomassa do meio. O sistema fechado é utilizado quando o objetivo é manter a cultura estéril, sendo esta a forma mais segura (Schmidell et al., 2001).

No processo semicontínuo ou batelada semicontínua são adicionados o inóculo de microalga e o meio de cultura no biorreator e o sistema é acompanhado até o fim do crescimento, onde retira-se de 30 a 60%, do cultivo mantendo-se no reator o restante da cultura, que será o inóculo da próxima batelada. Na segunda batelada, adiciona-se ao reator um volume de meio igual ao volume retirado, enquanto a parte que foi retirada é encaminhada para um processo de separação ou aplicação direta. Após o fim do crescimento da segunda batelada, o ciclo de produção é repetido até quando as células continuarem a apresentar um rendimento satisfatório. Observa-se que nesta forma de condução não é necessário o preparo de um novo inóculo para cada batelada, o que normalmente é um custo adicional para o processo e otimiza o tempo para obtenção do inóculo (Santos et al., 1992; Schmidell et al., 2001).

O processo descontínuo alimentado, ou batelada alimentada, consiste na adição de um ou mais nutrientes durante o cultivo e em que o produto, sendo este a biomassa, permaneça no reator até o final do crescimento. Pode-se manter a vazão alimentação constante ou variar com o tempo, e ainda a variação pode ser de forma contínua, conhecida como batelada alimentada contínua, ou intermitente, sendo esta a batelada alimentada por pulsos. Ao final do cultivo, toda a cultura é retirada e a direcionada para outros processos, como o de separação ou aplicação direta. A diferença desta forma de condução para a da semicontínua é que parte da cultura a ser utilizada não é mantida no biorreator como inóculo no próximo cultivo (Schmidell et al., 2001; Yamane & Shimizu, 1984).

O cultivo em batelada contínua é característico por possuir uma alimentação contínua de meio de cultura de vazão constante, sendo mantido o volume de cultivo através da retirada contínua de biomassa. É importante manter o volume constante no biorreator uma vez que se deseja que o sistema atinja a condição de estado estacionário ou regime permanente, no qual a concentração de células e de substrato limitante permaneça constante ao longo de todo tempo de operação, sendo este limitado pela viabilidade das células (Facciotti & Schmidell, 1995; Schmidell et al., 2001).

As formas de cultivo de microalgas permitem diversas alterações de variáveis possibilitando grande flexibilidade nos sistemas de operação buscando atingir o objetivo desejado.

II.2 Lipídios de Microalgas

Segundo Perez-Garcia (2011), a produção de lipídios em células de microalgas depende da temperatura, pH, idade da cultura, tipo de microalga e concentração de nutrientes como carbono, nitrogênio e fósforo no meio de cultivo. Entretanto, quando há baixas concentrações de nitrogênio no meio, o metabolismo das células muda de síntese proteica para síntese lipídica resultando num aumento de produção de lipídios (Quinn et al., 2011).

As maiores frações lipídicas, em espécies marinhas, são compostas de ácidos graxos poliinsaturados, em especial, o ácido eicosapentaenóico (EPA) e o ácido araquidônico. Os ácidos graxos poliinsaturados (Polyunsaturated Fatty Acids – PUFA) também estão presentes em microalgas de água doce em proporções menores, além dos monoinsaturados (MUFA) e saturados (SAFA). Dentre os vários ácidos graxos de microalgas, os comercialmente relevantes são os PUFA's essenciais, como ácido linoléico (18:2), linolênico (18:3), araquidônico (20:4) e eicosapentaenóico (20:5). Alguns dos ácidos graxos de microalgas com

potencial para utilização na produção de biodiesel são: palmítico (16:0), esteárico (18:0), ácido oléico (18:1), linoléico (18:2), undecaenóico (11:0), duodecaenóico (12:0), cis-eicosaenóico (20:1) e heptadecaenóico (17:0) (Hakalin, 2014)

II.2.1 Formas de extração de lipídios

A produção de lipídios por microalgas é um tópico muito estudado por uma grande comunidade de pesquisa e industrial, uma vez que está envolvida em várias questões globais: biocombustíveis ou óleos comestíveis, os quais podem ser produzidos para substituir, pelo menos parcialmente, as formas atuais de produção, para fins de desenvolvimento sustentável. Algumas espécies de microalgas são conhecidas por sua capacidade de produzir lipídios: uma mudança metabólica é provocada quando são cultivadas em meio livre de nitrogênio, levando à biossíntese de lipídios de reserva, principalmente triglicerídeos (Bouillaud et al, 2020).

Contudo, os triacilgliceróis de algas, que são os precursores mais úteis para a produção de biodiesel, são normalmente contidos como gotículas de lipídios dentro do citoplasma da microalga rodeado por uma parede celular rígida e, portanto, devem ser extraídos para serem explorados adequadamente (Kirrolia et al., 2013).

O rendimento do teor de lipídios pode apresentar variações dependendo do método de extração de lipídios escolhido. O teor de lipídios extraído é influenciado pela solubilidade dos ácidos graxos e pela capacidade do solvente de permear a membrana celular já rompida. (Menegazzo, et al, 2019).

Menegazzo, et al, 2019 determina que a tabela abaixo representa os processos envolvidos na extração de lipídios:

Tabela 2. Processos envolvidos na extração de lipídios. Fonte: Elaborado com base em M.L. Menegazzo e G.G. Fonseca, 2019.

Processo	Método
Métodos de ruptura da célula	Ultrassom
	Homogeneização a alta pressão
	Prensar
	Moinho de bolas
	Micro-ondas
	Choque osmótico
	Hidrólise enzimática

	Secagem ao sol
Processo de Secagem	Secagem por spray
	Liofilização
	Moagem
Redução do tamanho da partícula	Prensar
	Solventes orgânicos
Métodos de extração de lipídios	Fluido supercrítico
	Sohxlet
	Métodos de ruptura de células usando solventes

O pré-tratamento de microalgas para ruptura celular e extração de lipídios é uma etapa que consome muita energia. As microalgas são constituídas por paredes celulares altamente complexas, polissacarídeos intercalados com proteínas. Não é fácil quebrar a parede celular e extrair completamente o lipídio sem a aplicação de uma grande quantidade de energia (Vasistha et al, 2021)

A extração por solvente de lipídios de algas pode ser realizada a partir de biomassa de microalgas úmida e seca e, dependendo da opção escolhida, pré-tratamentos específicos devem ser realizados. Em particular, se a extração de lipídios for realizada a partir de biomassa seca, um pré-tratamento de secagem / desidratação é necessário. Por outro lado, a etapa de secagem é tipicamente caracterizada por elevados requisitos de energia e, portanto, a extração úmida é geralmente preferida a fim de garantir a viabilidade do processo (Stereti et al., 2014).

Existem dois tipos de associações que ocorrem nos lipídios: ligações de hidrogênio e forças eletrostáticas nos lipídios polares; Forças de van der Waals nos lipídios neutros e não polares. Essas interações devem ser rompidas para que a extração dos lipídios seja eficaz. Solventes orgânicos polares, por exemplo álcoois (metanol ou etanol) rompem as ligações de hidrogênio entre os lipídios polares enquanto os solventes orgânicos não polares, como o hexano, são comumente usados para quebrar as interações hidrofóbicas entre lipídios neutros e não polares. Portanto, a escolha do solvente está diretamente ligada à cepa ou espécie da microalga e seus arranjos lipídicos. Custo, toxicidade, volatilidade, polaridade e seletividade devem ser levados em consideração ao escolher o solvente (Menegazzo et al, 2019). Solventes como hexano, metanol, etanol e misturas de clorofórmio:metanol, etanol:hexano, clorofórmio:metanol:água e etanol:hexano:água são comumente utilizados para extração lipídica de microalgas (Hakalin, 2014)

Normalmente, a extração dos lipídios de microalgas é realizada por processos como prensagem mecânica, extração por solventes, fluidos supercríticos, utilizando-se enzimas, choque osmótico e extração ultrassônica assistida (Viêgas, 2010)

Um método padrão, confiável e popular para extrair lipídios de microalgas é o método de Bligh-Dyer (Nagappan et al, 2019). O método envolve o uso de água e dos solventes orgânicos, metanol e clorofórmio, em proporções específicas, para a extração de lipídios das células (Archanaa et al, 2012). Frequentemente, esse método é realizado diretamente nas microalgas, uma vez que extrai efetivamente os lipídios da célula da microalga sem a necessidade adicional de ruptura celular (Nagappan et al, 2019).

O método Soxhlet é o método de extração por solvente mais comumente utilizado para a extração de óleo de várias plantas e cepas de algas. No procedimento de Soxhlet, o óleo e a gordura do material sólido são extraídos por lavagens repetidas com um solvente orgânico, geralmente n-hexano ou éter de petróleo, sob refluxo em uma vidraria especial chamada extrator Soxhlet. Várias vantagens, como grande quantidade de extração usando solvente limitado e eficácia de custo em larga escala. Apesar dessas vantagens, existem certas limitações como, má extração de lipídios polares, longo tempo necessário para a extração, riscos de fervura de solventes etc. (Kirrolia et al, 2013).

A extração com fluido supercrítico é uma tecnologia verde emergente que vem ganhando considerável atenção e aceitação nos últimos anos devido à sua alta seletividade e ao uso de substâncias que possuem propriedades de líquidos e gases quando expostas a altas temperaturas e pressões. Quando a temperatura e a pressão do fluido atingem seus valores críticos, o fluido entra na região supercrítica. Esta propriedade permite que eles atuem como extração por solvente, não deixando nenhum resíduo quando o sistema é trazido de volta à pressão atmosférica e à temperatura ambiente. (Menegazzo, et al, 2019)

O CO₂ supercrítico é o método mais avançado, embora apresente desvantagens como exigência de pressão elevada e alto custo de capital para equipamentos. As vantagens do método de extração utilizando CO₂ supercrítico são os resíduos de biomassa que permanecem após a extração de óleo e que podem ser usados parcialmente como ração animal com alto teor de proteína e, possivelmente, como uma fonte de pequenas quantidades de outros produtos de microalgas de alto valor. (Kirrolia et al, 2013).

O resíduo da biomassa de algas que permanece após a extração do óleo também pode ser usado para produzir biogás por digestão anaeróbia. A digestão anaeróbica é um dos processos biológicos amplamente aplicados para converter uma biomassa orgânica em bioenergia. Durante o estágio de digestão anaeróbia poderia ser produzida uma renda

adicional da venda de fertilizantes ricos em nutrientes e água de irrigação. O dióxido de carbono gerado na combustão do biogás pode ser reciclado diretamente para a produção da biomassa de microalgas (Kirrolia et al, 2013 e Chen et al,2018).

A operação de secagem é responsável por retirar uma grande quantidade de água presente na biomassa das microalgas. As condições de secagem podem afetar a qualidade do produto e causar oxidação lipídica, resultando em alterações nos perfis de ácidos graxos das microalgas (Pohndorf et al,2016).

A secagem da biomassa pode ser realizada por vários métodos, como liofilização, secagem em tambor, secagem por pulverização, secagem ao sol e secagem em forno dentre outros. No entanto, cada método possui seus prós e contras. Alguns pesquisadores concluíram que a secagem em tambor e a secagem ao sol não são abordagens eficazes e econômicas, respectivamente. Em contraste, a liofilização revelou ser um método eficiente, mas caro. Além disso, a secagem em forno apresenta maior necessidade de energia. Posteriormente, foi concluído que a escolha das técnicas de secagem e colheita de células depende de vários aspectos, por exemplo, as espécies de microalgas, tempo de cultivo, manutenção e adequação das culturas para comercialização etc. (Katiyar et al, 2020).

Vários métodos de rompimento celular podem ser utilizados para ruptura da parede celular, incluindo processos mecânicos, tais como moinhos e ultrassom, e não mecânicos, incluindo choque osmótico, autoclave, hidrólise enzimática, ácida e alcalina (Hakalin., 2014).

A extração ultrassônica do óleo de algas envolve intensa sonicação do líquido, que gera ondas sonoras que se propagam no meio líquido, resultando em ciclos alternados de alta e baixa pressão. Durante o ciclo de alta pressão, a difusão de solventes, como o hexano, ocorre na célula. Pelas forças mecânicas de cisalhamento das cavitações, facilita a transferência de lipídios da célula para o solvente (Kirrolia et al, 2013).

Os métodos químicos de ruptura celular dependem da interação seletiva de um produto químico com os componentes da parede celular e são basicamente representados por hidrólise enzimática e lise química. Os últimos incluem hidrólise alcalina e ácida através de NaOH, HCl e H₂SO₄, mas também produtos químicos orgânicos, como lisina acetona, metanol e dimetilsulfóxido (DMSO), podem ser usados para quebrar e promover a lise da parede celular das algas (Stereti et al., 2014).

Na extração enzimática, a água é usada como solvente com as enzimas degradantes da parede celular para o fracionamento do óleo, proteínas e cascas, e o óleo é encontrado dentro das células vegetais, ligado a proteínas e uma ampla gama de carboidratos como amido, celulose, hemicelulose e pectina. Proteína e óleo são liberados pela abertura da parede celular

por degradação enzimática, processamento a jusante tornando possível o fracionamento dos componentes em um grau que não pode ser alcançado usando a técnica convencional como prensagem mecânica. Além disso estudos também demonstraram que a eficiência de extração de lipídios do tratamento enzimático é maior do que os métodos mecânicos, incluindo micro-ondas e ultrassom. (Kirrolia et al, 2013 e Nagappan et al, 2019) O alto custo de extração serve como fator limitante para a utilização em larga escala desse processo. (Kirrolia et al, 2013)

O choque osmótico ocorre por meio de um aumento ou queda repentina na concentração de sal do meio, que perturba o equilíbrio da pressão osmótica entre o interior e o exterior das células, fazendo com que as células em solução se rompam e liberem os lipídios. O choque osmótico usa agentes químicos de baixo custo, como por exemplo o sorbitol e NaCl, através de um processo simples, mas seu desempenho muitas vezes não é tão eficiente quanto o obtido por outras técnicas, pois resulta em efluentes com alta salinidade. Além disso, este método é específico para microalgas com uma parede celular permeável a esta solução. (Menegazzo et al, 2019).

O processo de extração de lipídios representa a principal limitação para produção de produtos com baixo custo como combustíveis e alimentos e aos co-produtos de valor elevado, como betacaroteno e polissacarídeos (Viêgas, 2010).

II.2.2 Lipídios para a produção de biocombustíveis

O biodiesel é uma mistura de monoalquil ésteres de cadeia longa derivado de matérias-primas renováveis, como óleos vegetais e gorduras animais. Para a produção desse biocombustível são utilizados alguns processos como transesterificação, esterificação e craqueamento ou pirólise, sendo o processo de transesterificação ou alcoólise, o mais utilizado (Viêgas, 2010)

A transesterificação é uma reação de várias etapas, incluindo três etapas reversíveis em série, onde os triglicerídeos são convertidos em diglicerídeos, então os diglicerídeos são convertidos em monoglicerídeos e os monoglicerídeos são então convertidos em ésteres (biodiesel) e glicerol (subproduto). A reação de transesterificação geral é descrita na fig. 3 onde os radicais R1, R2, R3 representam hidrocarbonetos de cadeia longa, conhecidos como ácidos graxos (Mata et al, 2010).

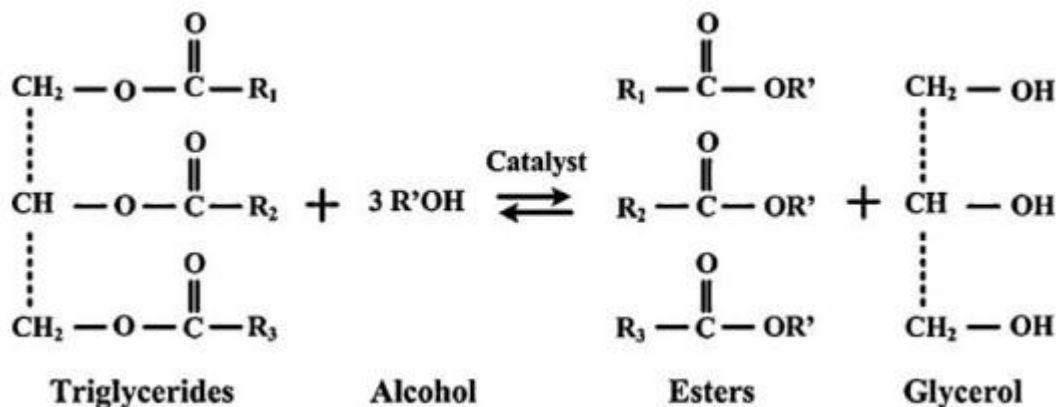


Figura 1. Reação de transesterificação de triglicerídeos. Fonte: Mata et al, 2010

O processo referido como transesterificação é quando o óleo (triglicerídeo) reage quimicamente com metanol ou outro álcool na presença de um catalisador, formando ésteres metílicos de ácidos graxos ou ésteres de álcool de ordem superior. Metanol, etanol, propanol e outros álcoois superiores podem ser usados na transesterificação; entretanto, o metanol e o etanol são usados com mais frequência. O metanol é reconhecido por seu baixo preço e propriedades físicas e químicas. O etanol é preferível ao metanol porque é produzido a partir de biomassa e, portanto, é renovável e menos tóxico para o meio ambiente (Skorupskaite et al, 2016).

A transesterificação é catalisada por ácidos; álcalis ou enzimas lipase. A fim de obter uma reação de transesterificação eficiente, a escolha do catalisador é muito importante (Kirrolia et al, 2013). Um catalisador ácido ou básico homogêneo ou heterogêneo pode ser usado para aumentar a taxa de reação de transesterificação, embora para alguns processos usando fluidos supercríticos (metanol ou etanol) pode não ser necessário usar um catalisador. Os processos industriais mais comuns usam catalisadores alcalinos homogêneos (por exemplo, NaOH ou KOH) em um reator agitado operando em modo descontínuo (Mata et al, 2010).

A literatura reporta processo catalítico usando metanol supercrítico e microesferas de titânia porosa em um reator de leito fixo para catalisar a transesterificação e esterificação simultâneas de triglicerídeos e ácidos graxos livres para biodiesel. O processo foi capaz de atingir eficiências de conversão de até 85%. Patil et al. relataram um processo envolvendo extração e transesterificação simultâneas de biomassa de algas úmidas contendo cerca de 90% de água em condições de metanol supercrítico (Kirrolia et al, 2013).

A esterificação consiste na reação entre os ácidos graxos encontrados nos óleos vegetais, com metanol ou etanol para formar ésteres metílicos ou etílicos, respectivamente e água. Geralmente a reação de esterificação é catalisada por ácidos inorgânicos como o ácido sulfúrico (Viêgas, 2010).

Já a pirólise é um processo termoquímico que normalmente é realizado a pressão atmosférica e temperatura variando de 300 a 700 ° C, na ausência completa de oxigênio. Os principais produtos da pirólise são um sólido (carvão), um líquido orgânico (petróleo bruto) e um gás de baixo valor calorífico (gás de pirólise), em diferentes proporções dependendo das condições do processo, tipo de reator e características da matéria-prima (Chiaramonti et al, 2017).

II.2.2 Lipídios para a indústria e tecnologia de alimentos

A tendência atual do mercado e a crescente demanda do consumidor por produtos naturais saudáveis fortaleceram as microalgas como uma fonte emergente de suplemento alimentar natural rico em nutrientes. Os constituintes dos alimentos desempenham um papel crítico na evolução de doenças não transmissíveis e desnutrição. Os produtos alimentícios à base de microalgas aparecem como fontes favoráveis de vitaminas, minerais, proteínas, lipídios funcionais / ácidos graxos poliinsaturados e carotenóides. Os ácidos graxos poliinsaturados são considerados uma das fontes promissoras da dieta humana e sua proporção ideal (ômega-3 a ômega-6; 1: 1 a 1: 4) é essencial para a prevenção de doenças não transmissíveis e outras doenças crônicas. Ácidos graxos poli-insaturados baseados em microalgas funcionam como uma alternativa ao óleo de peixe e possuem vários benefícios em termos de sabor, acúmulo de toxinas nenhum / reduzido e natureza veganista em relação aos óleos de origem animal (Katiyar et al, 2020).

As microalgas são capazes de melhorar o conteúdo nutricional de alimentos convencionais e rações, devido à sua composição química original também podendo servir como uma fonte de corantes naturais para alimentos. As microalgas contribuem positivamente para a saúde humana e animal, podendo se tornar suplementos alimentares e nutracêuticos (Bishop e Zubeck, 2012). O termo nutracêutico se refere ao valor nutricional e farmacêutico das microalgas, que também se tornaram atraentes devido ao tratamento de diversos problemas relacionados à saúde (Lee et al., 2017). Produtos à base de microalgas

têm, portanto, atraído consumidores, por se apresentarem como uma alternativa mais nutritiva e saudável para a alimentação (Oliver, 2020)

A maioria das microalgas com alto teor de ômega-3 são espécies de água do mar, como *Schizochytrium* sp. E *Nannochloropsis* sp. No entanto, espécies de água doce, por exemplo, *Desmodesmus* sp., também foram investigadas como uma fonte de ácidos graxos ômega-3 de cadeia longa, eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA) (Ferreira et al, 2019).

Capítulo III – Prospecção Tecnológica

III.1. Conceito e Metodologias

III.1.1. Conceito e Objetivos

Primeiramente, faz-se necessário uma análise conceitual sobre prospecção tecnológica. De acordo com Irvine e Martin (1984), a prospecção tecnológica representa um exercício sistemático voltado para o futuro de longo prazo da ciência, tecnologia e inovação, a fim de tomar decisões políticas atualizadas. A prospecção tecnológica desde seu início, pioneira no Japão, tem tentado ajudar as sociedades e economias a definir áreas estratégicas onde o futuro da ciência e tecnologia levaria (Pietrobelli e Puppato, 2016).

No Brasil, alguns termos são usados sem diferenciação para abordagem do assunto, sendo eles “prospecção, estudos do futuro e prospectiva”. Já os termos adotados internacionalmente são *forecast(ing)*, *foresight(ing)* e *future studies*. A prospecção tecnológica tem como objetivo incorporar informação ao processo de gestão tecnológica, tentando antever possíveis estados futuros da tecnologia ou condições que afetam sua contribuição para as metas estabelecidas. Prospecção não pode ser considerado sinônimo de previsão ou prognóstico, pois traz implícita a ideia de haver uma participação ativa na conformação do futuro (Coelho, 2003).

Coelho (2003) define o termo prospecção tecnológica oriundo de exercícios de prospecção com foco na capacidade funcional ou no tempo e com o significado de inovação. O objetivo é adotar informações do processo de gestão tecnológica, fazendo previsões para o futuro da tecnologia e levando em consideração condições externas que afetam suas metas estabelecidas. A prospecção tecnológica auxilia líderes a adotarem posições estratégicas e avaliando-se do ponto de vista evolucionista, significa garantir uma vantagem competitiva e sobreviver com os departamentos de pesquisa e desenvolvimento e outras áreas impactadas pela mesma.

Sob outra perspectiva, de acordo com o SECTES/CEDEPLAR (2009), a prospecção tecnológica se baseia na visão sistêmica do futuro a longo prazo da ciência, tecnologia, economia e sociedade, com o objetivo de identificar as áreas de pesquisas estratégicas e as tecnologias emergentes que tenham tendência de gerar benefícios sociais e econômicos.

No ponto de vista de Tigre (2006), a prospecção tecnológica envolve uma série de esforços ordenados que analisam um grupo de atores e fatores envolvidos no processo de inovação e criação, considerando as inter-relações e tentando fazer previsões e identificar potenciais, evoluções e quaisquer efeitos da mudança tecnológica. É uma aposta de como a tecnologia irá se comportar no futuro, do ponto de vista de utilização, inovação e aceitação da tecnologia. Nesse caso, é importante agregar a previsão de possíveis impactos sociais, ambientais, econômicos e institucionais. Portanto, a prospecção carrega um elevado grau de subjetividade estando sujeita à muitos critérios e incertezas, cabendo uma verificação.

A decisão de inovar ocorre num cenário de previsões e logo, os desenvolvimentos futuros em conhecimento e tecnologia, mercados, demanda de produtos e potenciais usos para a tecnologia final podem ser incertos, sabendo-se ainda que isso depende de muitos fatores, como ciclo de vida do produto e situação do setor. A implementação de novos processos organizacionais, o lançamento de um novo produto ou serviço, e a adoção de um novo processo também apresentam incertezas, o tempo e recursos gastos na busca e coleta de informações podem ter um alto investimento (Manual De Oslo, 2005). Abaixo, pode-se observar os objetivos gerais e específicos da prospecção tecnológica.

Objetivo Geral	<ul style="list-style-type: none"> • Identificar áreas de pesquisa estratégica e as tecnologias genéricas emergentes que têm a propensão de gerar os maiores benefícios econômicos e sociais
Objetivos Específicos	<ul style="list-style-type: none"> • Identificar oportunidades ou ameaças futuras segundo as forças que orientam o futuro (desejável e indesejável); • Construir futuros (desejáveis e indesejáveis), antecipando e entendendo o percurso das mudanças; • Subsidiar e orientar o processo de tomada de decisão em ciência, tecnologia e inovação; • Identificar oportunidades e necessidades mais relevantes para a pesquisa futura, estabelecendo prioridades e avaliando impactos possíveis; • Promover a circulação de informação e de conhecimento estratégico para a inovação; • Prospectar os impactos das pesquisas atuais e da política tecnológica; • Descobrir novas demandas sociais, novas possibilidades e novas ideias; • Monitorar seletivamente as áreas econômica, tecnológica e ambiental;

Figura 2. Prospecção Tecnológica. Fonte: Adaptado de Pires Teixeira, 2013.

III.1.2. Metodologia do estudo tecnológico de patentes

Em consulta na Derwent, no periódico CAPES, foram usadas as palavras-chave “microalgae”, “lipid” e “extraction”, correspondentes ao período de 2000 até 2020. Foi possível assim perceber o interesse mundial no tema, com o retorno de 160 patentes ao longo desses anos.

Estas patentes foram avaliadas e foi definido como áreas de conhecimento relevantes para esse trabalho “Energy Fuels”, para avaliar a aplicação da extração de lipídios para produção de biocombustíveis e “Food Science Technology”, que é uma área de bastante interesse pela sua ampla aplicação. Assim, foram selecionadas 83 patentes e delas identificados documentos repetidos e irrelevantes, o que resultou num número de patentes avaliadas de acordo com a tabela abaixo.

Tabela 3. Área de conhecimentos determinadas e quantidade de documentos encontrados, repetidos, irrelevantes e analisados da base de dados Derwent

Área de Conhecimento	Documentos encontrados	Repetidos	Irrelevantes	Analisados
<i>Energy Fuels</i>	40	5	3	32
<i>Food Science Technology</i>	35	7	6	22
<i>Energy Fuels e Food Science Technology</i>	8	0	0	8
Total	83	12	9	62

Além disso, na plataforma do INPI, com as palavras-chave “microalga”, “lipídio” e “extração” foi possível encontrar seis patentes depositadas, explicitadas na tabela abaixo.

Tabela 4. Patentes encontradas com as palavras-chave “microalga”, “lipídio” e “extração” na base de patentes do INPI.

Pedido	Depósito	Título	IPC
BR 10 2016 019934 4	29/08/2016	Processo de fracionamento para produção de concentrados proteicos, peptídeos bioativos e coprodutos derivados de biomassa microalgal	C07K 1/30
BR 10 2014 033150 6	22/12/2014	Processo de extração de pigmentos carotenoides a partir da biomassa de microalgas utilizando fontes lipídeos naturais	C09B 67/20
BR 10 2014 014156 1	11/06/2014	Aplicação de microalgas para biorremediação do glicerol oriundo da obtenção de biodiesel	C12P 19/04

BR 13 2012 025497 1	05/10/2012	Processo de produção de biocombustíveis a partir da pirólise de microalgas	C10G 9/30
BR 11 2013 006602 4	22/09/2011	Processo integrado para a produção de chlorella variabilis portadora de óleo para extração de lipídios utilizando subprodutos da produção de éster metílico de jatropha (jme)	C12N 1/12
PI 0701072-9	27/04/2007	Processo tecnológico para produção de microalgas utilizando meio adicionado de melão	C12N 1/20

Apesar do número baixo de patentes encontradas depositadas no Brasil, isso acaba sendo uma vantagem e uma oportunidade, pois abre margem para desenvolvimento de novas tecnologias no âmbito nacional.

Apesar de ter escolhido duas áreas de interesse para selecionar as patentes de acordo com o objetivo deste trabalho, foi observado que elas têm vários pontos de interseção e muitas vezes quando é falado a aplicação para biocombustíveis são citadas aplicações na área de alimentos e o mesmo é visto ao contrário.

Por isso, será abordado neste estudo as duas áreas, a de Biocombustíveis e a de Tecnologia da Ciência Alimentar, como uma só, já que o foco é a extração de lipídios. Entretanto, suas particularidades serão abordadas quando observada relevância para o trabalho realizado.

Com as patentes prospectadas na base do INPI o total de patentes analisadas ficou no total em 68 patentes.

A Figura 3 mostra o percentual de patentes classificadas como relevantes e irrelevantes, desconsiderando as patentes repetidas, em relação ao total de documentos encontrados nas bases Derwent e INPI, após a pré-seleção baseada nos critérios do método de pesquisa. Na base INPI todas as patentes foram relevantes de acordo com os critérios selecionados para esse estudo. As patentes descartadas são aquelas que não possuíam foco na área de interesse – extração de lipídios de microalgas.

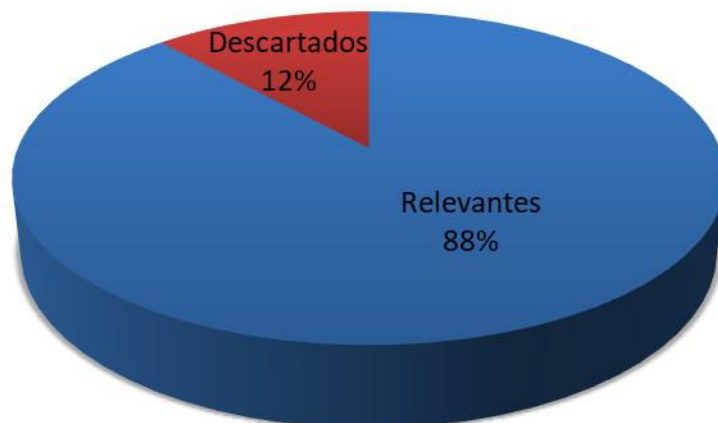


Figura 3. Gráfico de patentes relevantes e descartadas na base Derwent

É possível observar que apenas 12% das patentes das áreas de interesse selecionadas, foram irrelevantes para o mapeamento e que 88% foram considerados relevantes.

Algumas das patentes consideradas como irrelevantes tinham foco em extração de lipídios de animais marinhos como peixes e crustáceos, que se alimentam de microalgas. Como por exemplo: *“Producing eicosapentaenoic acid (EPA) and/or docosahexaenoic acid (DHA) containing oil used as liquid fuel composition, by feeding algae producing EPA and/or DHA to fish, and extracting EPA and/or DHA-containing lipids from fish”*.

Enquanto outras citam as microalgas para fins medicinais, com foco nas doenças que elas podem prevenir ou tratar, como na patente *“Marine microalgae extract used for preventing and treating gastrointestinal diseases caused by Salmonella, preparing fodder for animals, comprises proteins and polysaccharides having adsorptive capacity to pathogenic Gram-negative bacteria”*.

Capítulo IV – Resultados e Discussão

IV.1. Resultados do estudo tecnológico de patentes

A ferramenta utilizada no estudo de patentes foi a estatística. Alguns tópicos foram selecionados previamente para facilitar a análise das patentes prospectadas estudadas, avaliando evoluções, projeções e tendência da tecnologia de utilização de microalgas no processo de tratamento de efluentes a nível mundial. Dentre os tópicos selecionados estão: a evolução temporal dos pedidos de depósito de patentes, a distribuição por localidade, as empresas ou institutos envolvidos, a presença ou não de informações como meio de cultivo, luz e volume, a presença de simbiose, as espécies de microalgas utilizadas, os pré-tratamentos da biomassa envolvidos, o tipo de extração de lipídio realizada, a produção de biocombustível, a aplicação específica e a identificação do real interesse no processo extração de lipídios das patentes prospectadas selecionadas.

IV.1.1 Evolução temporal dos pedidos de depósitos de patente

Esta avaliação explicita a evolução cronológica dos pedidos de depósito de patentes. O ano de depósito de cada patente foi levado em consideração para gerar o gráfico mostrado na figura 4.

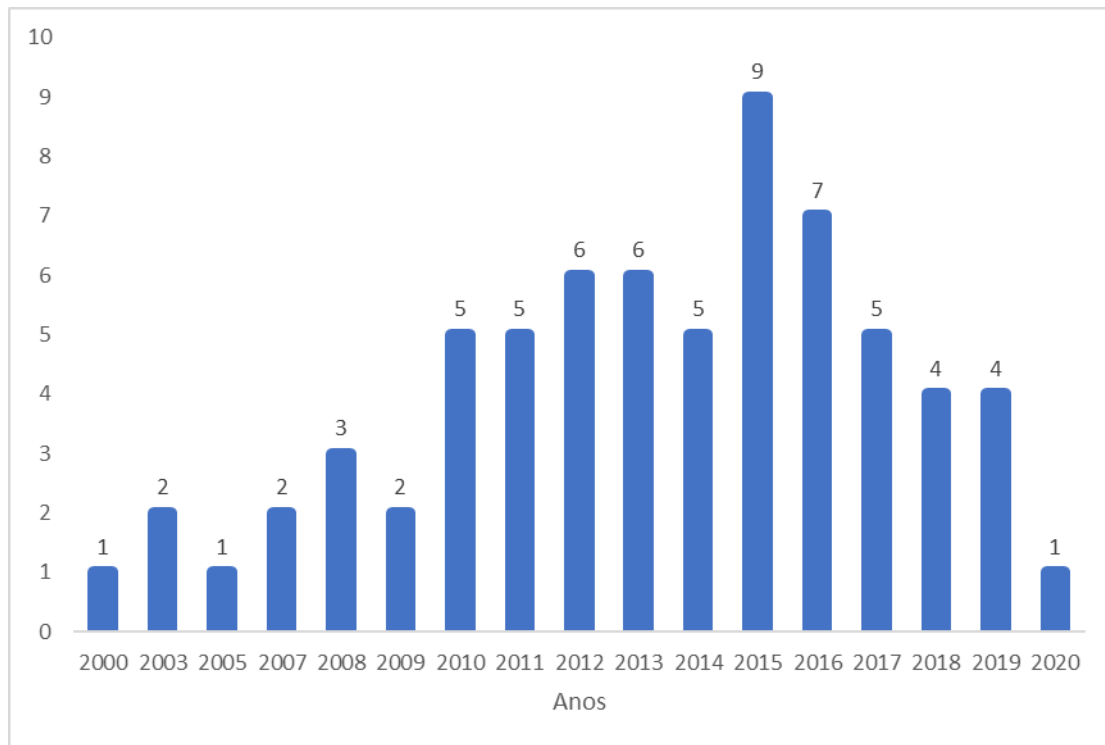


Figura 4. Evolução temporal dos pedidos de depósito de patentes considerando os anos de 2000 a 2020 nas bases Derwent e INPI

Observa-se que em 2010 houve um aumento no número de patentes depositadas em relação aos anos anteriores, isso se deve pelo fato de que em 2009 foi um ano que se retornaram as pesquisas com interesse do uso das microalgas para a produção de biocombustíveis e são as patentes com esse foco que ganham força nesse ano.

Além disso, em 2015 vemos que foi o pico de produção. Já em 2020 o depósito de patentes nas áreas de interesse selecionadas teve uma redução brusca. Isso pode ser dado devido ao cenário desse ano de instabilidade devido a pandemia e investimentos em pesquisa estarem voltados principalmente para a área da saúde.

IV.1.2 Distribuição de patentes por localidade

A distribuição de patentes por localidade tem o objetivo de avaliar os países em que patentes sobre o tema selecionado foram depositadas. A análise pode ser observada no gráfico a seguir:

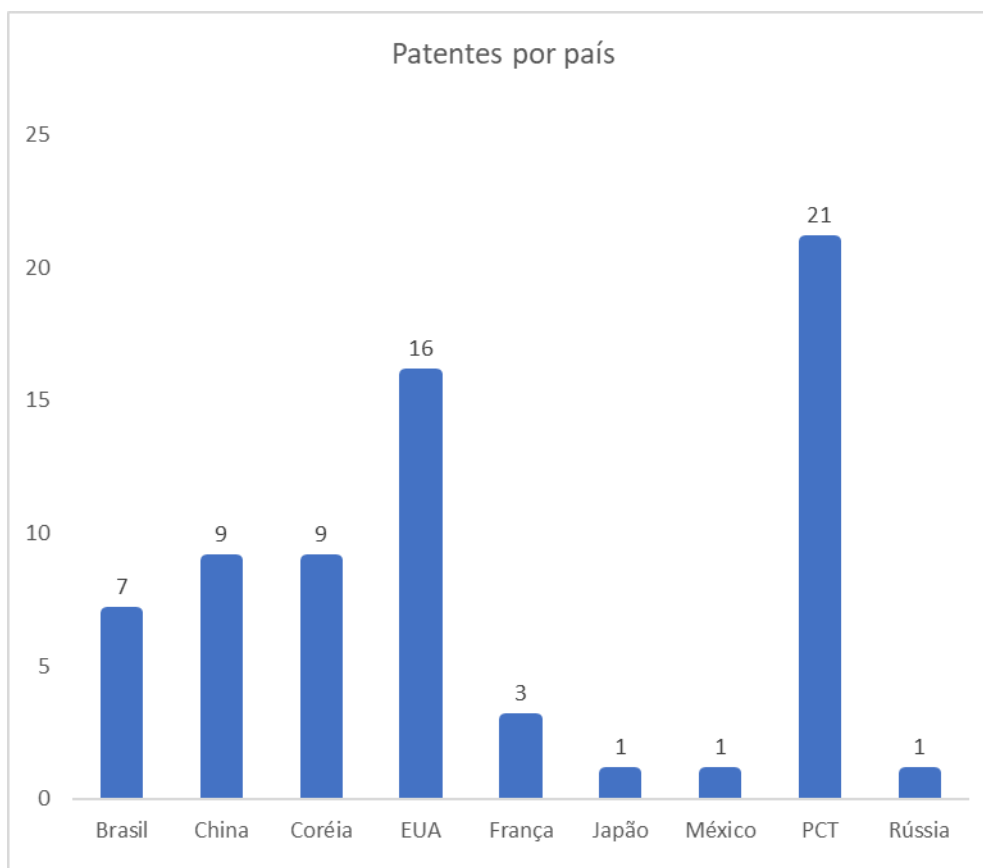


Figura 5. Evolução temporal dos pedidos de depósito de patentes considerando os anos de 2000 a 2020 nas bases Derwent e INPI

Como pode ser observado, o maior número de patentes depositadas é no PCT (*Patent Cooperation Treaty*), que é um tratado multilateral que permite requerer a proteção patentária de uma invenção, simultaneamente, num grande número de países, por intermédio do depósito de um único Pedido Internacional de patente. Este Tratado é administrado pela OMPI / WIPO (Organização Mundial da Propriedade Intelectual) e conta com 153 países signatários, entre eles o Brasil.

Dentre as patentes que apresentaram essa classificação, através da instituição de ensino ou empresa solicitante, foi possível determinar o país de origem de acordo com a tabela abaixo.

Tabela 5. Países das empresas ou instituições de ensino que depositaram as patentes na base internacional

País	Número de Patentes
Alemanha	1

Chile	1
EUA	7
Holanda	1
Índia	2
Itália	4
Jerusalém	1
Nova Zelândia	3
Suíça	1

Podemos ver uma maior hegemonia dos Estados Unidos em solicitação de patentes, ao todo foram 23 patentes depositadas sobre o tema, das quais 16 foram depositadas em base de patentes americanas e outras 7 na base internacional (PCT). Isso corresponde a 37% do total de patentes avaliadas nesse estudo.

Foi também analisado o tipo de depositante da patente e identificado que a participação de universidades ou centros de pesquisa corresponde a 47% e empresas estão envolvidas em 42% das solicitações de patentes e somente 12% são solicitações individuais não vinculadas a nenhuma instituição. Na figura abaixo é possível visualizar esses dados e o percentual interações entre eles.

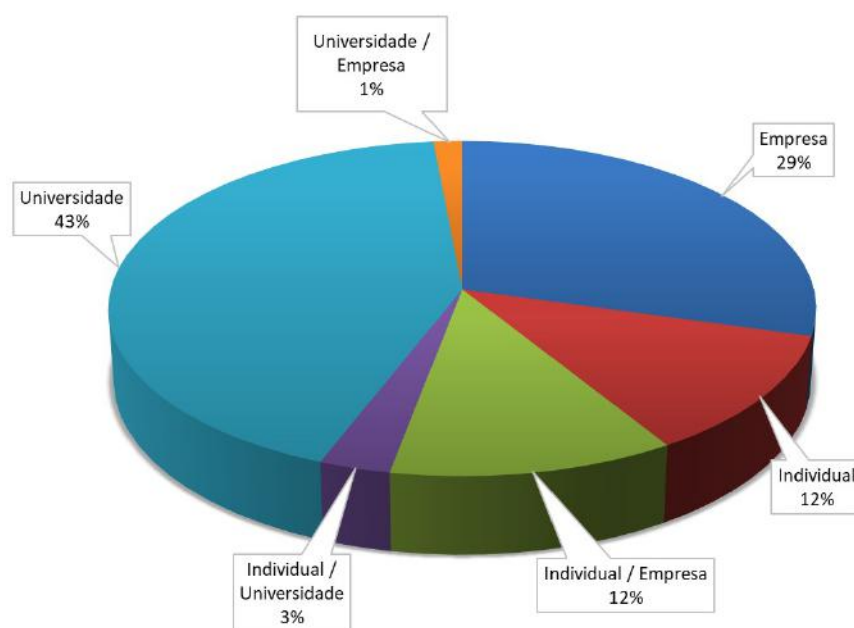


Figura 6. Distribuição do tipo de depositante de patentes nas bases Derwent e INPI

Em relação as empresas e os institutos de ensino depositantes, houve 47 envolvidas nas publicações. Dentre elas as que constam mais de uma vez como depositante de patentes estão apresentadas na figura 7.

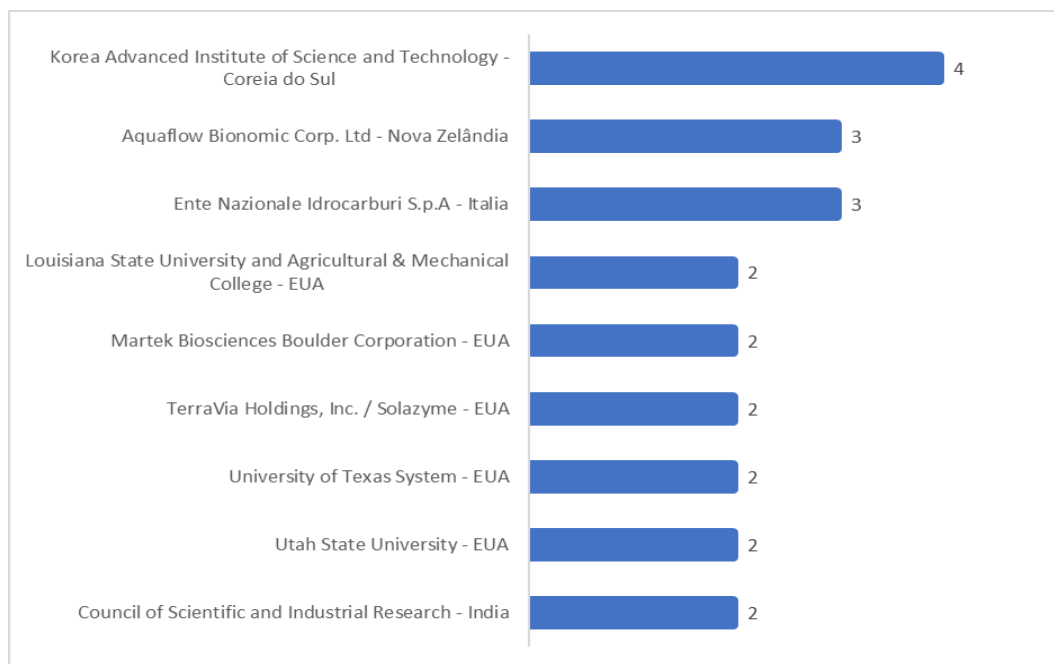


Figura 7. Distribuição de empresas e instituições de ensino com maior número de depósito de patente nas bases Derwent e INPI

Esses depositantes somam entre eles 22 patentes, dentre elas 12 são de universidades ou institutos de tecnologia e os outros 10 são empresas.

Analisando detalhadamente o perfil dessas empresas pode-se verificar os setores em que elas se enquadram, apresentados na tabela 6.

Tabela 6. Classificação das empresas com maior número de patentes depositadas por setor industrial

Empresa	Setor
Aquaflow Bionomic Corporation Ltd	Biotechnologia
Ente Nazionale Idrocarburi S.p.A	Petroquímico

Martek Biosciences Boulder
Corporation

Biotecnologia

TerraVia Holdings, Inc. / Solazyme

Biotecnologia

Aprofundando a análise dessas empresas foi possível notar que as três empresas do setor de biotecnologia, tem processos e produtos provenientes de microalgas. A empresa Aquaflow Bionomic Corporation Ltd produz biocombustíveis renováveis a partir de biomassa tanto celulósica como de microalgas.

Já a Martek Biosciences Boulder Corporation foca na produção a partir de microalgas de produtos nutricionais e de saúde. A TerraVia Holdings, Inc. / Solazyme combina a produção de biocombustíveis e de alimentos, explorando as microalgas nas duas áreas.

Indo em contraponto com as empresas antes mencionadas a Ente Nazionale Idrocarburi S.p.A é uma multinacional petrolífera e parece estar seguindo a tendência mundial de buscar fontes renováveis e sustentáveis de biocombustíveis para o futuro.

IV.1.3 Determinação de condições de cultivo

Conforme mencionado anteriormente, para o cultivo de microalgas, as condições de cultivo são muito importantes para o acúmulo de biomassa ou do componente de interesse desse trabalho, o lipídio. Por isso, foi identificado nas patentes depositadas as condições mencionadas, tais como o meio de cultura, a intensidade da luz, o pH, a temperatura, o volume, a agitação e a aeração.

Como pode ser observado na figura 8, o meio de cultura foi a taxonomia mais citada nas patentes, seguido pela temperatura. A agitação, por outro lado só foi citada em apenas uma patente.

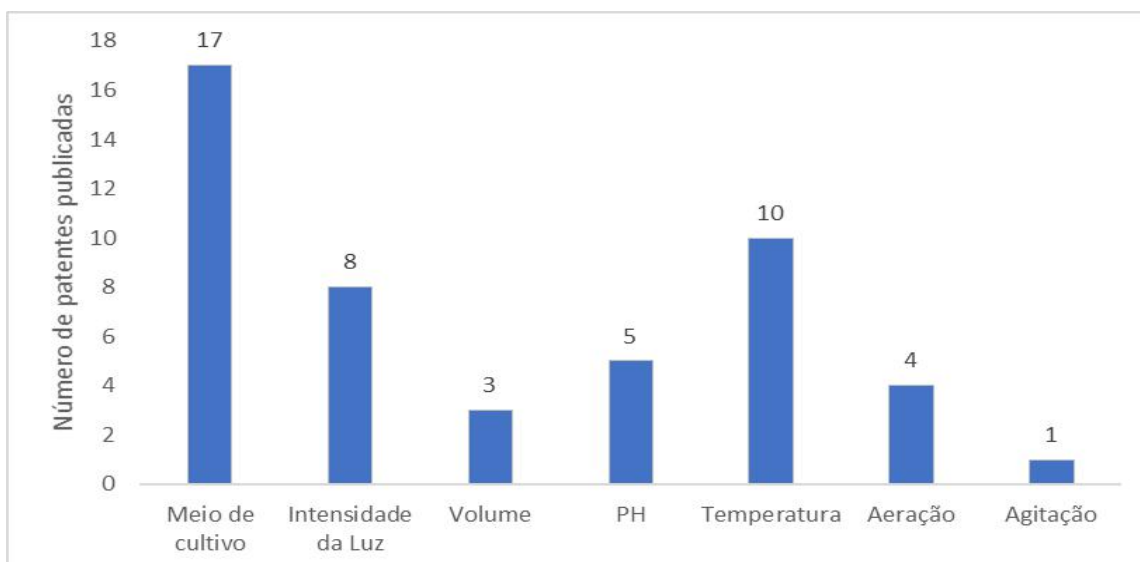


Figura 8. Patentes analisadas que citavam algum parâmetro referente a “Condições de Cultivo” nas bases Derwent e INPI

Dentre os meios de cultivo apresentados, o que foi mais relatado foi o BG11 padrão ou modificado, que tem seus componentes explicitados na figura 9.

Parameter	BG11
pH	7.1
HCO ₃ ⁻ (mg/L)	14.5
Ca ²⁺ (mg/L)	9.8
Mg ²⁺ (mg/L)	7.4
Cl ₂ (mg/L)	-
NH ⁴⁺ (mg/L)	0.4
NO ₃ ⁻ (mg/L)	1090
NO ₂ ⁻ (mg/L)	-
Cl ⁻ (mg/L)	17.4
F ⁻ (mg/L)	-
K ⁺ (mg/L)	13.7
Na ⁺ (mg/L)	400
SO ₄ ²⁻ (mg/L)	30
As (µg/L)	-
Fe (mg/L)	1.3
Mn (µg/L)	0.2
PO ₄ ³⁻ (mg/L)	17
EDTA (mg/L)	1
H ₃ BO ₃ (µg/L)	60
Zn (µg/L)	65
Mo (µg/L)	7
Cu (µg/L)	0.64

Figura 9. Meio BG11. (F. Di Caprio et al, 2018)

Hakalin, 2014 avaliou que o meio BG11 favorece a uma maior produtividade de biomassa, produtividade de lipídios totais, quando comparado a outros meios, o que explica ser o mais citado dentre as patentes prospectadas.

Além dele, foi citado também os meios BG11 modificado, o meio Zarrouk, água residual e água do mar com adição de selênio.

Este último é apresentado na patente “*Enriching protists with lipids rich in polyunsaturated fatty acids, useful for producing lipids rich in polyunsaturated fatty acids, comprises culturing protists in culture medium comprising selenium compound e.g. selenite or selenic acid*”. Esta patente foca no cultivo para enriquecer o conteúdo lipídico em ácidos graxos poliinsaturados, para aplicação em alimentos para nutrição humana ou animal, ou em produtos cosméticos através da adição de selênio, selenita ou ácido selênico.

IV.1.4 Determinação das espécies de microalgas mais descritas

Esta análise permitiu identificar as principais microalgas utilizadas para produção e extração de lipídios. Elas estão relacionadas na figura a seguir:

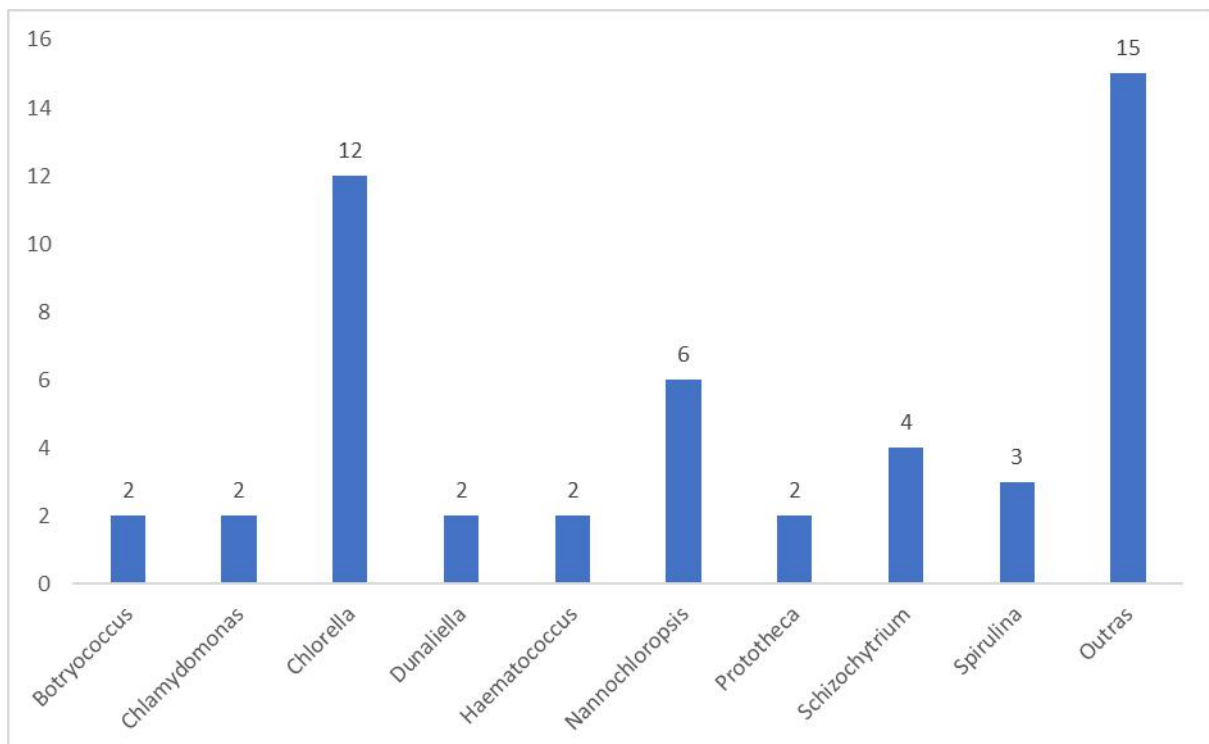


Figura 10. Análise das espécies de microalgas utilizadas no processo de produção e extração de lipídios descritas nas patentes nas bases Derwent e INPI

Num total de 68 patentes prospectadas e utilizadas, foi possível uma grande variedade de microalgas sendo utilizadas para acúmulo e extração de lipídios. É relevante ressaltar que uma única patente pode citar mais de uma espécie de microalgas, mas a determinada como preferencial para o processo foi a selecionada nesse estudo.

Mata et al, 2010 determinou a produtividade de lipídios de algumas espécies de microalgas e dentre elas é possível perceber que a *Chlorella* é uma espécie que apresenta alta produtividade por litro de cultivo e teor de óleo considerável, entretanto não é a microalga com maior teor lipídico. A explicação para seu uso em maior número, pode ser devido a ser uma das poucas microalgas permitidas pela legislação para fins alimentícios, também ser uma microalga com grande adaptabilidade a diferentes meios de cultivo. A *Nannochloropsis*, que vem logo em seguida é vista como uma das microalgas com maior potencialidade de produção diária de lipídios.

Microalga	Produtividade de lipídeos (mg/L/dia)	Volume de biomassa produzida (g/L/dia)	Área destinada à produção (g/m ² /dia)
<i>Ankistrodesmus</i> sp.	-	-	11,5–17,4
<i>Botryococcus braunii</i>	-	0,02	3,0
<i>Chaetoceros muelleri</i>	21,8	0,07	-
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	17,6	0,04	-
<i>Chlorella emersonii</i>	10,3–50,0	0,036–0,041	0,91–0,97
<i>Chlorella protothecoides</i>	1214	2,00–7,70	-
<i>Chlorella sorokiniana</i>	44,7	0,23–1,47	-
<i>Chlorella vulgaris</i>	11,2–40,0	0,02–0,20	0,57–0,95
<i>Chlorella</i> sp.	42,1	0,02–2,5	1,61–16,47/25
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	-	2,90–3,64	72,5/130
<i>Chlorella</i>	18,7	-	3,50–13,90
<i>Chlorococcum</i> sp.	53,7	0,28	-
<i>Cryptocodinium cohnii</i>	-	10	-
<i>Dunaliella salina</i>	116,0	0,22–0,34	1,6–3,5/20–38
<i>Dunaliella primolecta</i>	-	0,09	14
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	-	0,12	-
<i>Dunaliella</i> sp.	33,5	-	-
<i>Ellipsoidion</i> sp.	47,3	0,17	-
<i>Euglena gracilis</i>	-	7,70	-
<i>Haematococcus pluvialis</i>	-	0,05–0,06	10,2–36,4
<i>Isochrysis galbana</i>	-	0,32–1,60	-
<i>Isochrysis</i> sp.	37,8	0,08–0,17	-
<i>Monodus subterraneus</i>	30,4	0,19	-
<i>Monallanthus salina</i>	-	0,08	12
<i>Nannochloris</i> sp.	60,9–76,5	0,17–0,51	-
<i>Nannochloropsis oculata</i>	84,0–142,0	0,37–0,48	-
<i>Nannochloropsis</i> sp.	37,6–90,0	0,17–1,43	1,9–5,3
<i>Neochloris oleoabundans</i>	90,0–134,0	-	-
<i>Pavlova salina</i>	49,4	0,16	-
<i>Pavlova lutheri</i>	40,2	0,14	-
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	44,8	0,003–1,9	2,4–21
<i>Porphyridium cruentum</i>	34,8	0,36–1,50	25
<i>Scenedesmus obliquus</i>	-	0,004–0,74	-
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	35,1	0,19	-
<i>Scenedesmus</i> sp.	40,8–53,9	0,03–0,26	2,43–13,52
<i>Skeletonema</i> sp.	27,3	0,09	-
<i>Skeletonema costatum</i>	17,4	0,08	-
<i>Spirulina platensis</i>	-	0,06–4,3	1,5–14,5/24–51
<i>Spirulina máxima</i>	-	0,21–0,25	25
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	17,4	0,08	-
<i>Tetraselmis suecica</i>	27,0–36,4	0,12–0,32	19
<i>Tetraselmis</i> sp.	43,4	0,30	-

Figura 11. Produtividade de algumas espécies de microalgas (Viêgas, 2010 e Mata et al, 2010)

Vale ainda resaltar que foi citada na patente “*Forming algal lipid fraction enriched for docosahexaenoic acid, useful in dietary supplement involves culturing algal cultures consisting of strain from algal genus Isochrysis or Pavlova, where the algal strain produces*

fatty acid subsets” o uso das microalgas *Isochrysis sp.* e *Pavlova sp.* em co-produção para a produção de lipídios enriquecidos com ácido docosahexaenóico (DHA) e ácido eicosapentaenóico (EPA) para fim da produção de suplemento dietético.

E a patente “*New consortium comprising viable fungus and photosynthetically active alga, useful for producing biofuel*” cita a simbiose de fungos e microalgas no cultivo, que gera alto rendimento na produção de óleo para a produzir de biocombustíveis.

IV.1.5 Pré-tratamento da biomassa

Como muitos processos de extração de lipídios são realizados a partir da biomassa seca, foram analisados os processos envolvidos na secagem da biomassa relatados nas patentes. Na figura 12 pode ser observado o resultado dessa análise.

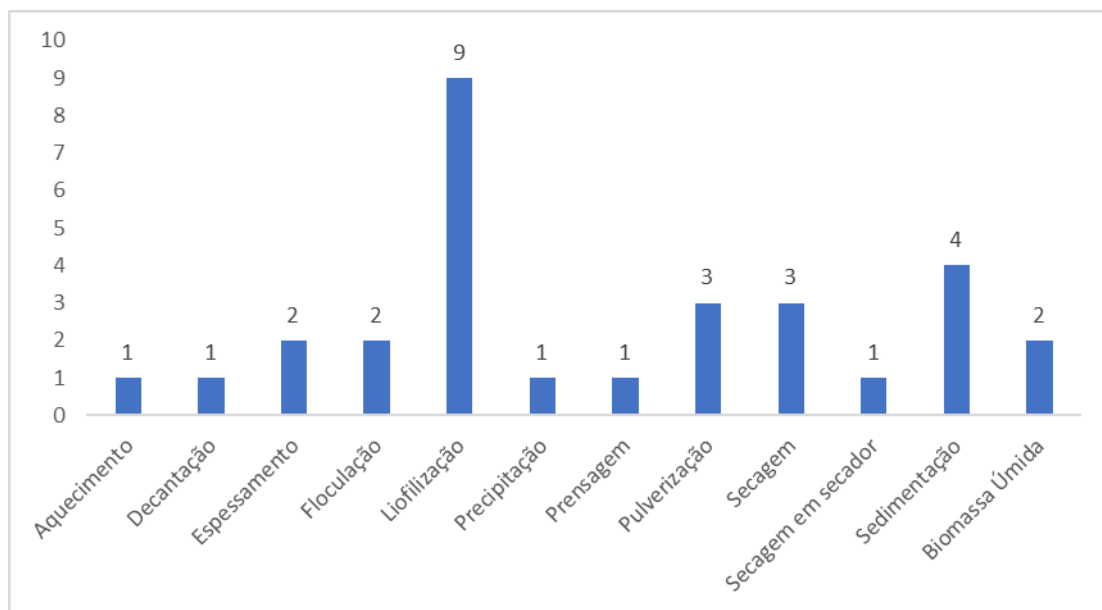


Figura 12. Quantidade de patentes relacionadas a processos de secagem da biomassa para extração de lipídios nas bases Derwent e INPI

É possível notar que a liofilização é o processo mais utilizado para esse fim. E realmente é o método usado por muitos pesquisadores. Nesse processo as células de microalgas são rompidas e o pó fino obtido pode ser submetido diretamente para extração de óleo e transesterificação. Além disso, método de liofilização pode ser usado em diferentes espécies de microalgas. No entanto, a aplicação da liofilização é um método demorado e

requer alto investimento, o que atrapalha sua aplicação em grande escala (Skorupskaite, 2016).

Depois da secagem da biomassa, muitas vezes é necessário o rompimento da célula como um pré-tratamento da extração. Por isso, foram prospectadas também as formas de quebra da parede celular.

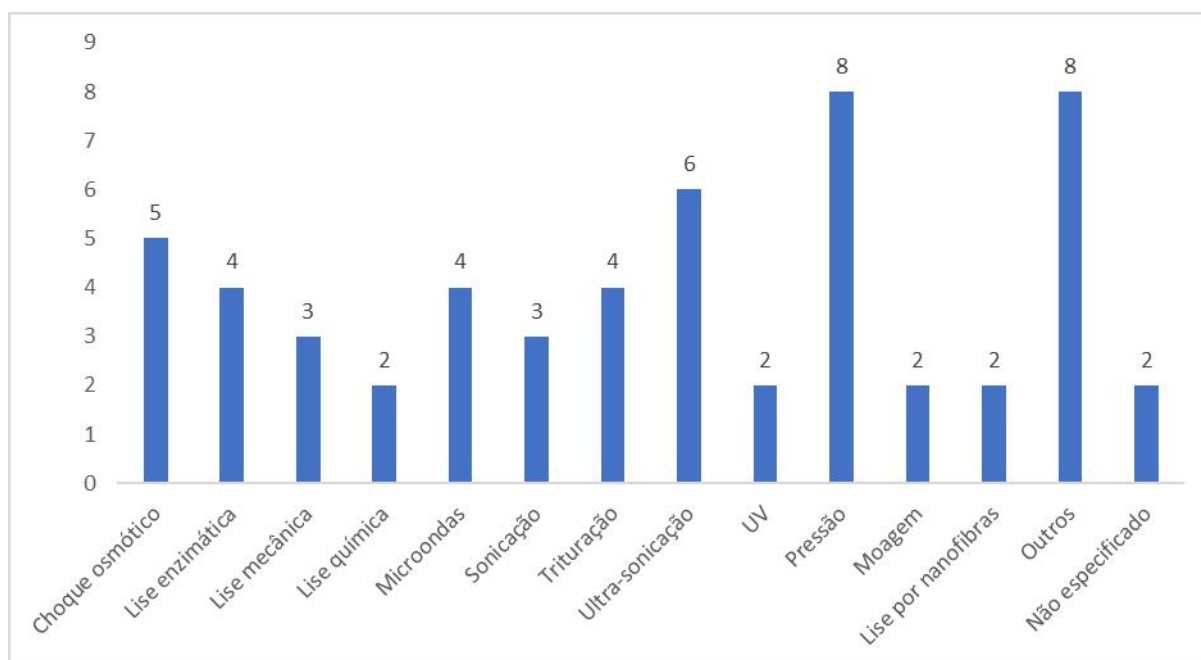


Figura 13. Quantidade de patentes que explicitam os processos de rompimento celular na extração de lipídios nas bases Derwent e INPI

É possível notar que vários processos de quebra da parede celular podem ser usados para a extração de lipídios. Em muitas patentes foi citado o uso métodos de alta pressão para esse fim. Dentre eles podemos citar metodos de microjato de alta pressão, homogeneizador de pressão e métodos de oscilação de pressão e tratamento térmico sob pressão.

Além disso, outro método muito citado foi o de rompimento por ultra-som. E isso é explicado pelo fato desse método ser um dos mais eficientes para romper as células (Vasistha et al, 2021). Além disso, a ultra-sonicação melhora a extração de óleo das células de algas, e também ajuda sua conversão em biodiesel. Entretanto, a aplicação em larga escala deste método não é viável, pois não é rentável com a quantidade de produção de petróleo (Kirrolia et al, 2023). Por isso, foi verificado que das 6 patentes que citam esse processo, 5 tem a área de interesse em biocombustíveis.

Já nos processos com fins alimentícios, muitas patentes não citam o método de rompimento celular, mas o uso de alta pressão foi citado algumas vezes.

Um método patenteado para quebra celular por nano materiais, que tem aplicação tanto para produção de biocombustíveis como para produtos farmacêuticos e nutracêuticos, e foge dos métodos convencionais de ruptura celular é citado na patente: “Extracting chemical compound from organism having cell wall in the production of biofuels, comprises exposing organism to solution of nanomaterials, treating organism with extraction solvent and extracting chemical compound from organismo”.

IV.1.6 Extração de lipídios

Esta análise ajuda a identificar os principais processos de extração de lipídios. Elas estão relacionadas na figura a seguir:

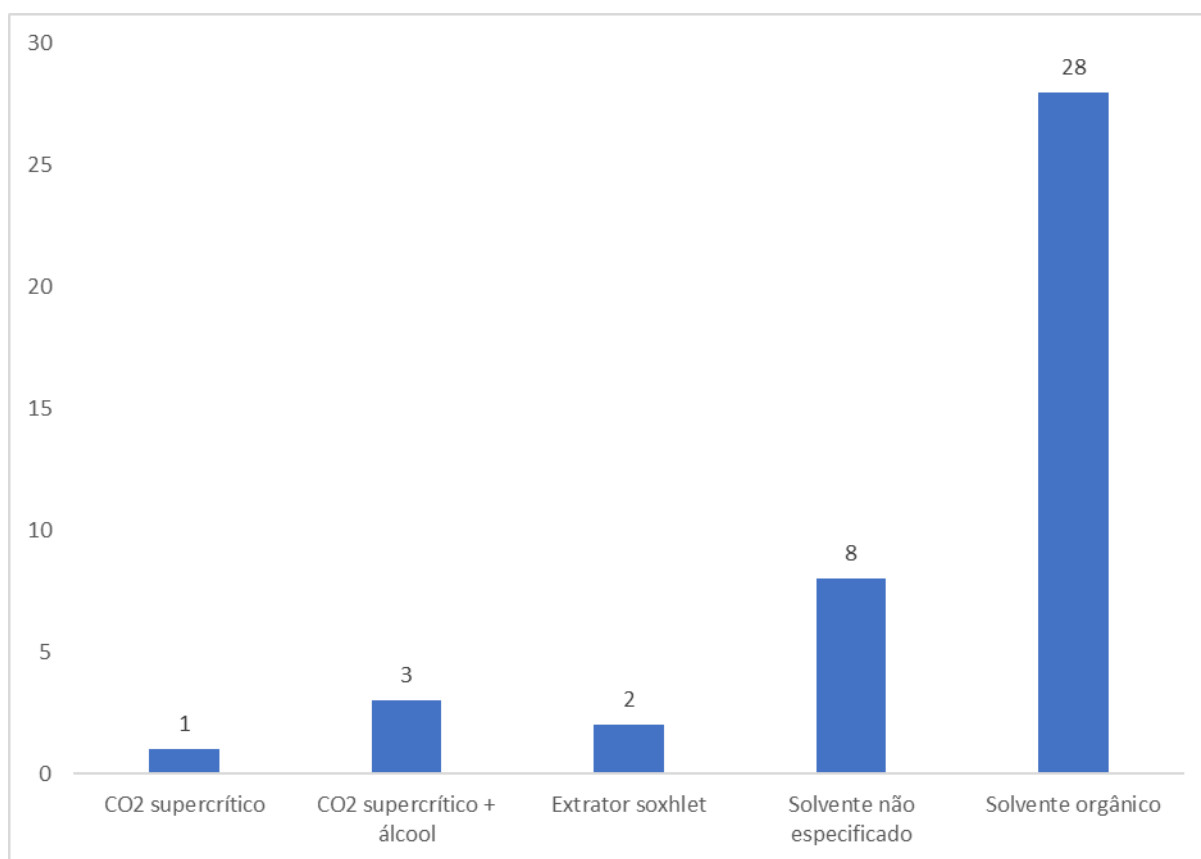


Figura 14. Quantidade de patentes que citam os métodos de extração de lipídios nas bases Derwent e INPI

Como pode ser observado, o uso de solventes orgânicos é o método mais utilizado para extrair lipídios de células microalgais. Dentre os solventes orgânicos mais utilizados podemos citar o hexano, clorofórmio, metanol, etanol, éter de petróleo, acetato de etila, e

tolueno como os mais citados. Dentre eles, o método Bligh and Dyer (clorofórmio-metanol-água) foi citado em duas patentes como o método utilizado para a extração de lipídios.

Vale explicitar que em uma das patentes que utiliza hexano como solvente orgânico, a extração é feita em reator em condições supercríticas.

O extrator de Soxhlet foi citado em duas patentes e nas duas foi utilizado um solvente orgânico para a extração. Em uma foi feita extração juntamente com o hexano e na outra o diclorometano foi o solvente escolhido para a extração.

Algumas patentes explicitavam que eram utilizados solventes na extração, mas não explicitavam qual, por isso foram contabilizados para fins estatísticos.

Além disso, foi citada em três patentes a extração com dióxido de carbono em estado supercrítico. Em duas patentes o CO₂ era usado junto com um álcool, preferencialmente o etanol.

Uma patente que citou um método de extração de lipídios que não se encaixou nas classificações feitas, foi a “*Apparatus for extracting lipid from microalgae for biodiesel production, fixes cationic polymer coated on thin film to microalgae continuous reactor for extracting lipid crushed microalgae*”, que não precisa de secagem para extração e utiliza um reator contínuo com um polímero catiônico (poli-N-(4vinilbenzil)-N,N-dimetilamina revestido com poliéster para a extração de lipídios.

Também vale mencionar a patente “*Producing biodiesel, comprises e.g. supplying microalgae culture medium into microalgae concentrator, and supplying electric energy into microalgae concentrator for concentrating microalgae culture medium to generate iron ions on anode*”, que extrai o lipídio de microalgas pela reação de oxidação de Fenton e recupera o lipídio da microalga e os íons de ferro individualmente por adição de um solvente orgânico.

IV.1.7 Produção de ésteres de interesse específico ou biodiesel

Em várias patentes observadas, além da extração de lipídios era explicitada também a produção de biodiesel ou quando o foco era para a indústria de alimentos foi explicitada a necessidade da formação de ésteres de ácidos graxos. Por isso, esses processos também foram analisados e seu resultado está explicitado na figura 15.

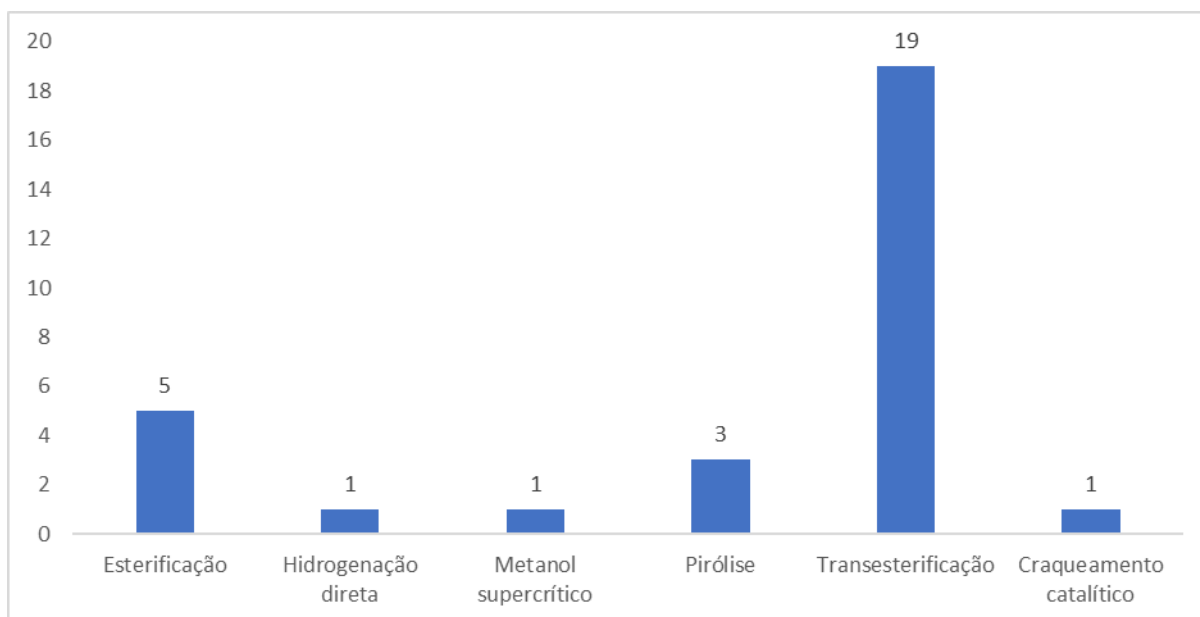


Figura 15. Processos de esterificação e produção de biodiesel prospectadas nas bases Derwent e INPI

Dentre os processos, o de transesterificação foi copiosamente utilizado, sendo citado em 19 patentes, o que já era esperado, por ser um processo muito utilizado para a produção de biodiesel. As patentes que citaram a utilização de catalisador, mostraram o uso de catalisador ácido nos processos.

Pode-se perceber que os outros processos de produção de biodiesel ainda estão em desenvolvimento e ainda não tem muitas patentes depositadas.

O processo com metanol supercrítico foi citado juntamente com um processo de extração utilizando hexano como solvente orgânico em condições supercríticas, em seguida para a transesterificação foi adicionado o metanol supercrítico para a produção do biodiesel.

IV.1.8 Aplicação específica

Na maioria das patentes prospectadas foi determinada uma aplicação específica para os lipídios extraídos, e de outros compostos extraídos paralelamente a eles. Na figura 16 é possível observar que tem algumas patentes que citam produtos específicos e outros que citam uma aplicação genérica.

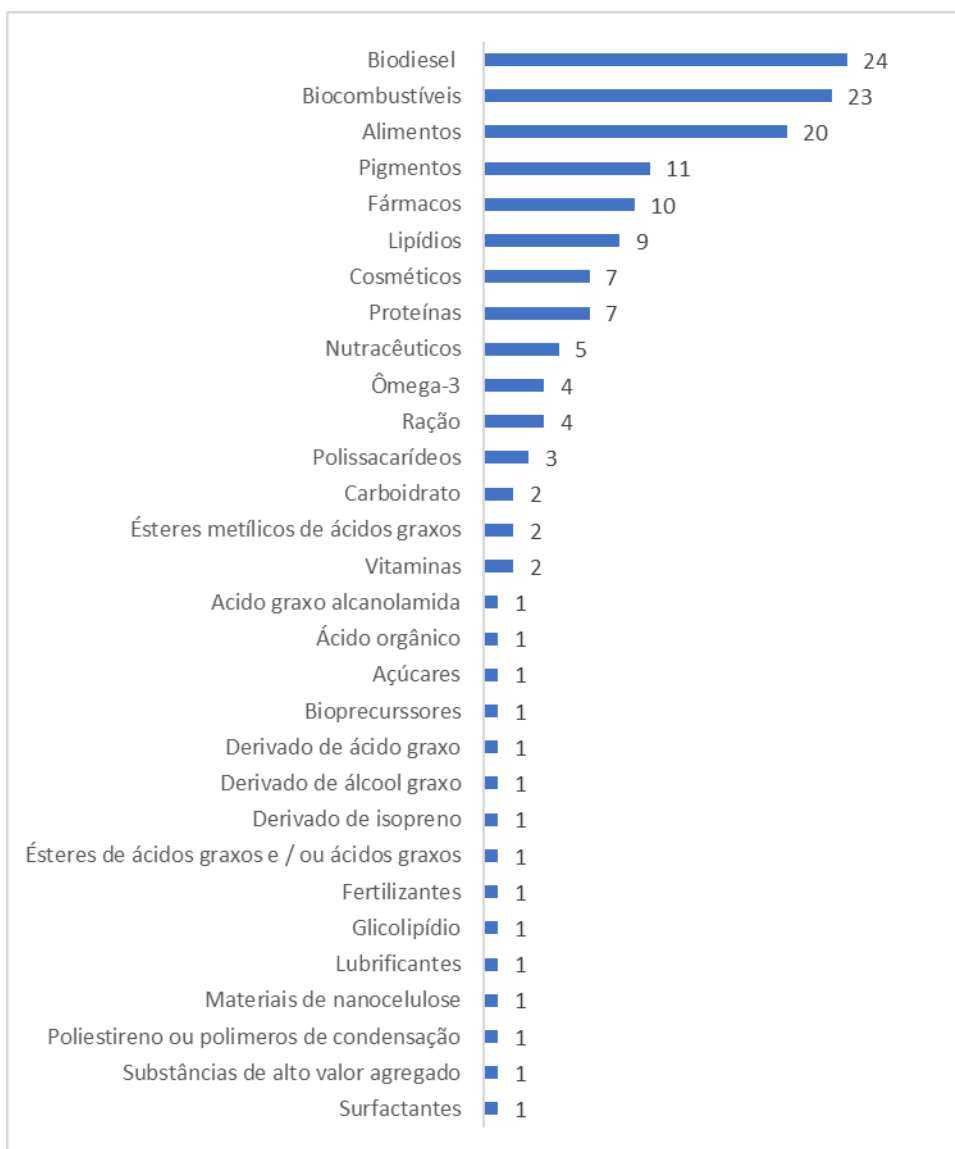


Figura 16. Produtos citados como foco de produção nas patentes prospectadas nas bases Derwent e INPI

Incluído como pigmentos na tabela estão os carotenoides e clorofila, que também foram citados especificamente nas patentes.

Na classificação alimentos estão incluídas aplicações dietéticas, uso como aditivos alimentares, fibra alimentar, suplemento alimentar, produtos nutricionais e intensificadores de sabor.

Em biocombustíveis estão contidas aplicações como biogás, etanol, gasolina, metano e combustível de aviação.

É possível observar que muitos dos processos das patentes prospectadas não extraem somente lipídios, como também outros produtos de interesse comercial para aplicações diversas.

Dentre essas aplicações, para alguns produtos específicos foi explicitado também um processo de extração, que foram esses a seguir:

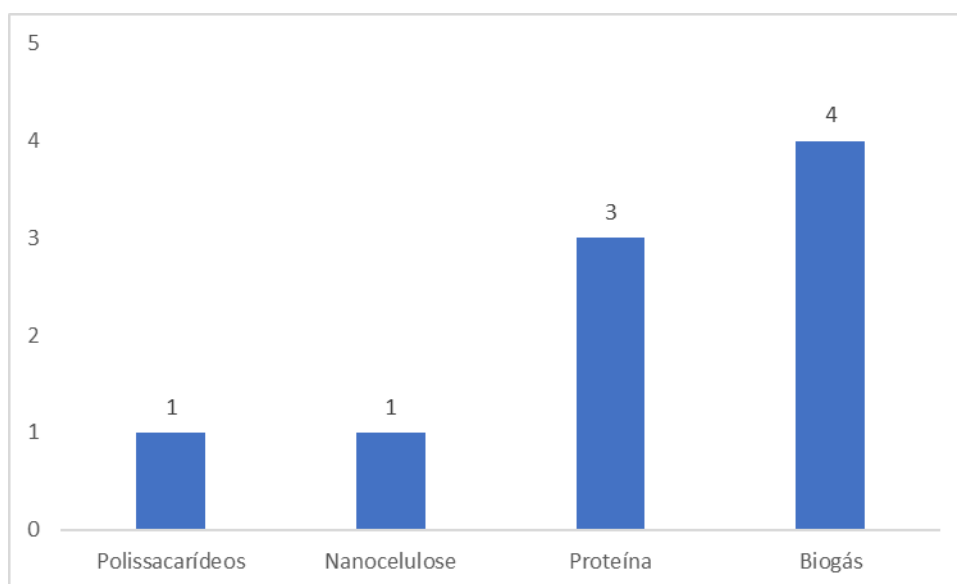


Figura 17. Patentes prospectadas que citaram processos de extração de outros compostos além da extração de lipídios nas bases Derwent e INPI

Para a obtenção de biogás, todas as patentes citaram sua produção por digestão anaeróbia para o uso da biomassa residual da extração.

Para as que citaram a extração de proteínas, o método foi realizado previamente a extração lipídica, junto com os pré-tratamentos.

Combinando esses três processos, pode-se estabelecer um conceito de biorefinaria com aproveitamento praticamente completo da biomassa microalgal e podendo fazer o uso desses produtos para diversas finalidades.

IV.1.9 Objetivos dos processos de extração de lipídios descritos nas patentes

Dentre as diversas vantagens do da extração de lipídios, é necessária uma análise dos principais objetivos, descritos nas patentes prospectadas analisadas. Os pontos avaliados foram: cultivo e, conseqüentemente, produção de biomassa de microalgas, ou alguma alteração no meio de cultivo que permita o aumento do conteúdo lipídico; um novo processo ou método de pré-tratamento, extração etc.; novo equipamento, seja um vaso resistente as

condições de extração, ou um novo equipamento que promova a ruptura celular; e preocupação ambiental, devido ao uso de solventes, aumento de CO₂ na atmosfera, poluição ambiental, entre outros fatores. O gráfico a seguir mostra os principais objetivos do processo de extração de lipídios, tratados nas patentes prospectadas avaliadas.

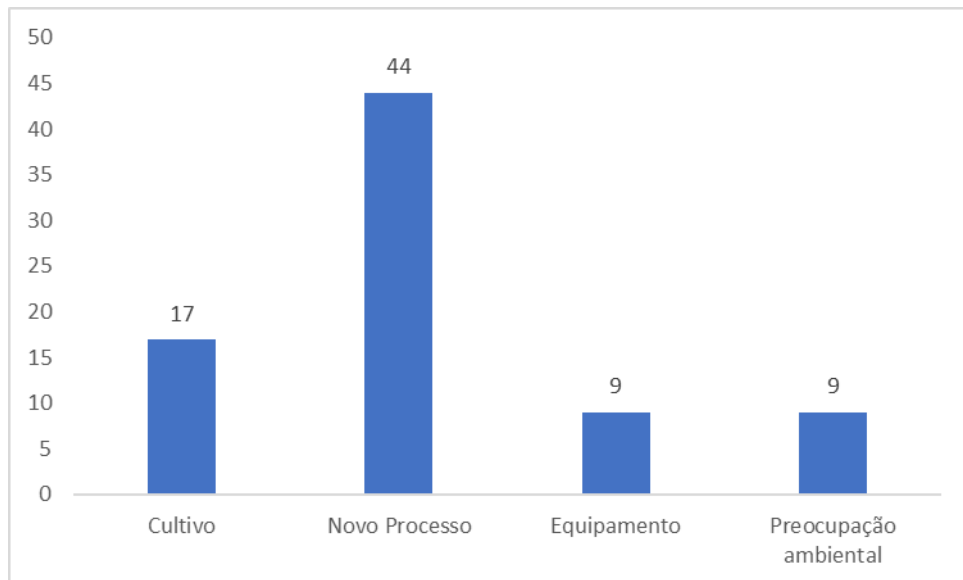


Figura 18. Avaliação dos principais objetivos do processo de extração de lipídios nas patentes prospectadas.

A partir da análise das patentes prospectadas foi possível definir que uma única patente pode ter mais de um objetivo. Do ponto de vista de inovação, observa-se que dentre as patentes avaliadas, em 67,7% tem como objetivo desenvolver um novo processo, e em 25% é cultivar microalgas.

Capítulo V – Conclusão

A extração de lipídios de microalgas é de grande interesse, do ponto de vista ambiental e econômico. A utilização de lipídios extraídos de microalgas para fins nutricionais e para produção de biocombustíveis é relevante e atual, principalmente pela tendência mundial de procurar métodos e produtos renováveis e sustentáveis.

A análise de evolução temporal de depósito de patentes, mostrou que o tema já está muito difundido e apesar de ser possível ver uma queda no depósito de patentes, esse assunto ainda pode ser intensamente explorado, principalmente focando em redução de custos de pré-tratamentos.

A análise de distribuição de patentes sobre extração de lipídios por localidade mostrou o grande interesse dos Estados Unidos nos depósitos, e potencialidade para o Brasil investir em tecnologias e processos nessa área.

O mapeamento das patentes sobre extração de lipídios permitiu identificar que as microalgas mais estudadas para extração de lipídios são a *Chlorella* e a *Nannochloropsis*.

Os objetivos principais dos processos de extração de lipídios de microalgas, nas patentes prospectadas, foram o desenvolvimento de novos processos de extração e o cultivo de microalgas para incrementar a produção lipídica.

A maioria das patentes depositadas apresentaram significativo interesse no uso dos lipídios extraídos para a produção de biocombustíveis. Pelas informações coletadas, também pode-se identificar um maior interesse no uso da microalga com vários fins, extraindo a proteína para a indústria de alimentos, os lipídios para a produção de biodiesel e a biomassa residual queimada para a produção de biogás.

Esse conceito de aproveitamento total da biomassa microalgal, combinado com a redução de custos no pré-tratamento, tem grande potencial para ser amplamente empregada no futuro.

Capítulo VI – Referências Bibliográficas

Ahmad, A.L.; Yasin, N.H.M; Derek, C.J.C.; Lim, J.K. Microalgae as a sustainable energy source for biodiesel production: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 15, p. 584-593, 2011.

Alberts, B.; Johnson, A.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K.; Walter, P. *Biologia molecular da célula*. Ed. Artmed, Porto Alegre, RS, 5ª ed. 1396 p., 2010.

Amaro, H.M.; Guedes, A.C.; Malcata, F.X. Advances and perspectives in using microalgae to produce biodiesel. *Applied Energy*, v. 88, p. 3402-3410, 2011.

Archanaa, S., Moise, S., Suraishkumar, G.K., Chlorophyll interference in microalgal lipid quantification through the Bligh and Dyer method, *Biomass and Bioenergy*, Volume 46, Pages 805-808, 2012.

Bold, H.C. The Morphology of *Chlamydomonas Chlamydogama* Sp. Nov Bull. Torrey Bot. Club., V. 76, P. 101-108, 1949.

Bouillaud, D., Drouin, D., Charrier, B., Jacquemmoz, C., Farjon, J., Giraudeau, P., Gonçalves, O., Using benchtop NMR spectroscopy as an online non-invasive in vivo lipid sensor for microalgae cultivated in photobioreactors, *Process Biochemistry*, Volume 93, Pages 63-68, 2020.

Chen, Y., Ho, S., Nagarajan, D., Ren, N. Chang, J. Waste biorefineries — integrating anaerobic digestion and microalgae cultivation for bioenergy production, *Current Opinion in Biotechnology*, Volume 50, Pages 101-110, 2018.

Chiaramonti, D., Prussi, M., Buffi, M., Rizzo, A.M., Pari, L., Review and experimental study on pyrolysis and hydrothermal liquefaction of microalgae for biofuel production, *Applied Energy*, Volume 185, Part 2, Pages 963-972, 2017.

Chies, V. (2017). Pesquisa encontra microalgas que crescem em resíduos e geram biocombustíveis - Portal Embrapa. [online] Embrapa.br. Available at: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/20361833/pesquisa-encontra-microalgas-que-crescem-em-residuos-e-geram-biocombustiveis> [Accessed 20 Dez. 2020].

Classificação de Patentes. INPI, Governo do Brasil, 2015. Disponível em: <https://www.gov.br/inpi/pt-br/servicos/patentes/classificacao-de-patentes>. Acesso em 20/01/2021

Coelho, G. M. Prospecção Tecnológica: metodologias e experiências nacionais e internacionais: tendências tecnológicas: nota técnica 14. Rio de Janeiro: Instituto Nacional de Tecnologia, 2003. Projeto CTPETRO.

Di Caprio, F., Altamari, P., Pagnanelli, F., Integrated microalgae biomass production and olive mill wastewater biodegradation: Optimization of the wastewater supply strategy, Chemical Engineering Journal, Volume 349, 2018.

Pages 539-546, Facciotti, M.C.R. & Schmidell, W. The new concept of minimum cell viability and its consequences on bioprocess design and operation. Brazilian Journal of Chemical Engineering, v. 12, n. 1, p. 22-31, 1995

Feng, Y.; Li, C.; Zhang, D. Lipid production of *Chlorella vulgaris* cultured in artificial wastewater medium. Bioresource Technology, v. 102, p. 101-105, 2011.

Ferreira, G.F., Pinto, L.F. R., Maciel Filho, R., Fregolente, L.V., A review on lipid production from microalgae: Association between cultivation using waste streams and fatty acid profiles, Renewable and Sustainable Energy Reviews, Volume 109, Pages 448-466, 2019.

Hajar, A., Riefler, H.A., Stuart, R.G. & B.J. Cultivation of the microalga *Neochloris oleoabundans* for biofuels production and other industrial applications (a review). Appl Biochem Microbiol 53, 640–653, 2017

Hakalin, N. L. S. Otimização das condições de cultivo da microalga *Scenedesmus* sp. para a produção de biodiesel. Instituto de Ciências Biológicas. Universidade de Brasília, 2014.

Huang, G.; Chen, F.; Wei, D. Zhang, X.; Chen, G. Biodiesel production by microalgal biotechnology. Applied Energy. v. 87, n. 1, p. 38-46, 2010.

Huerlimann, R.; Nys, R.; Heimann, K. Growth, Lipid Content, Productivity, And Fatty Acid Composition Of Tropical Microalgae For Scale-Up Production. Biotechnology and Bioengineering, V. 107, P. 245-257, 2010.

Irvine, J., Martin, B.M., Foresight in Science, 1984.

Ishida, Y.; Hiragushi, N.; Kitaguchi, H.; Mitsutani, A.; Nagai, S.; Yoshimura, M. A Highly Co₂-Tolerant Diatom *Thalassiosira weissflogii* H1 Enriched from Coastal Sea And Its Fatty Acid Composition. *Fish. Science*, V. 66, P. 655-659, 2000.

Katiyar, R., Arora, A. Health promoting functional lipids from microalgae pool: A review, *Algal Research*, Volume 46, 2020

Kirrolia, A., Bishnoi, N. R., Singh, R., Microalgae as a boon for sustainable energy production and its future research & development aspects, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Volume 20, Pages 642-656, 2013.

Kupper, D., Tigre, P. B. Prospecção Tecnológica. In: Caruso, L. A.; Tigre, P. B. (Org.). *Modelo SENAI de prospecção: documento metodológico*. Montevideo: OIT/cinterfor, 2004

Lee, S.Y., Khoiroh, I., Vo, D.V.N. et al. Techniques of lipid extraction from microalgae for biofuel production: a review. *Environ Chem Lett* (2020).

Liang, Y. Production Liquid Transportation Fuels from Heterotrophic Microalgae. *Applied Energy*, V. 104, P. 860-868, 2013.

Lourenço, S. O. *Cultivo de microalgas marinhas: princípios e aplicações*. Ed. Roma, 1ª ed., São Paulo, p. 606, 2006.

Manual de Oslo: diretrizes para coleta e interpretação de dados sobre inovação. 3. Ed. Paris: OCDE; Rio de Janeiro: FINEP, 2005.

Mata, T., Martins, A. and Caetano, N. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(1), pp.217-232, 2010.

Menegazzo, M.L., Fonseca, G. G., Biomass recovery and lipid extraction processes for microalgae biofuels production: A review, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Volume 107, Pages 87-107, 2019.

Muhammad, G., Alam, M. A., Mofijur, M., Jahirul M.I., Yongkun Lv, Xiong, W., Ong, H. C., Xu J., Modern developmental aspects in the field of economical harvesting and biodiesel

production from microalgae biomass, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Volume 135, 2021

Muradyan, E. A.; Klyachko-Gurvich, G. L.; Tsoglin, L. N.; Sergeyenko, T. V.; Pronina, N. A. Changes in lipid metabolism during adaptation of the *Dunaliella salina* photosynthetic apparatus to high CO₂ concentration. *Russian Journal Plant Physiology*, v. 51, p. 53-62, 2004.

Nagappan, S., Devendran, S., Tsai, P., Dinakaran, S. Hans-Uwe Dahms, Vinoth Kumar Ponnusamy, Passive cell disruption lipid extraction methods of microalgae for biofuel production – A review, *Fuel*, Volume 252, Pages 699-709, 2019.

Oliver, I. T., Mapeamento tecnológico de microalgas do gênero *Arthrospira* para fins alimentícios, Rio de Janeiro, Fevereiro de 2020.

Perez-Garcia O., Escalante F.M., de-Bashan L.E., Bashan Y., Heterotrophic cultures of microalgae: metabolism and potential products, *Water Res.* 45, 11-36, 2011.

Pietrobelli, C.; Puppato, F. Technology foresight and industrial strategy, *Technological forecasting & social change*, Vol.110, pp.117-125, September, 2016

Piorreck, M.; Baasch, K. H.; Pohl, P. Biomass production, total protein, chlorophylls, lipids and fatty acids of freshwater green and blue-green algae under different nitrogen regimes. *Phytochemistry*, v. 23, n. 2 ,p. 207-216, 1984.

Pires Teixeira, L., Prospecção Tecnológica: importância, métodos e experiências da Embrapa em Cerrados. Embrapa Cerrados. Planaltina, DF, pp.9-22, 2013.

Pohndorf, R.S, Camara, A.S., Larrosa, A.P.Q., Cláudio P. Pinheiro, Monique M. Strieder, Luiz A.A. Pinto, Production of lipids from microalgae *Spirulina* sp.: Influence of drying, cell disruption and extraction methods, *Biomass and Bioenergy*, Volume 93, Pages 25-32, 2016.

Quinn J., deWinter L., Bradley T., Microalgae bulk growth model with application to industrial scale systems, *Bioresour. Technol.* 102, 5083-5092, 2011.

Radmann, M.E. & Costa, J.A.U. Conteúdo Lipídico E Composição De Ácidos Graxos De Microalgas Expostas Aos Gases Co₂, So₂ E No. *Química Nova*, V. 31, N. 7, P. 1609-1612, 2008.

Reynolds C. S. Ecology Of Phytoplankton - Ecology, Biodiversity And Conservation. Ed. Cambridge, Isbn: 9780521605199, 2006.

Ribeiro, M.N. Coleção PROFNIT: Série PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA. Vol I. Salvador (BA): IFBA, 2018

Rippka, R., Deruelles, J., Waterbury, J.B., Herdman, M. And Stanier, R.Y. Generic Assignments, Strain Histories And Properties Of Pure Cultures Of Cyanobacteria. J. Gen. Microb., 111, 1-61, 1979.

Rodolfi L, Chini Zittelli G, Bassi N, Padovani G, Biondi N, Bonini G, Tredici MR Microalgae for oil: strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor. Biotechnol Bioeng 102(1):100–112, 2009

Round, F.E. Biology of the algae. Publishers Ltd, London, 263 p., 1973.

Salazar, I. A.S. Avaliação da produtividade de biomassa e do conteúdo de óleo da microalga *Desmodesmus* sp. em diferentes condições de cultivo para aplicações industriais. Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2015.

Santos, T.W.; Vairo, M.L.R.; Hiss, H.; Borzani, W. Semicontinuous alcoholic fermentation of sugar cane blackstrap molasses by preces yeast. Biotechnology Letters, v. 14, p. 971-981., 1992.

Schmidell, W.; Lima, U.A.; Aquarone, E.; Borzani, W. Biotecnologia Industrial - Engenharia Bioquímica. Ed. Blucher, São Paulo, SP, 1ª edição, v. 2, 559 p., 2001.

Sectes/Cedeplar. Metodologia de Prospecção Tecnológica – Projeto Oportunidades ao Desenvolvimento Sócio-Econômico e Desafios da Ciência, Tecnologia e da Inovação em Minas Gerais, Belo Horizonte-MG: junho de 2009.

Skorupskaite, V., Makareviciene, V., Gumbyte, M., Opportunities for simultaneous oil extraction and transesterification during biodiesel fuel production from microalgae: A review, Fuel Processing Technology, Volume 150, Pages 78-87, 2016.

Steriti, A., Rossi, R., Concas, A., Cao, G., A novel cell disruption technique to enhance lipid extraction from microalgae, Bioresource Technology, Volume 164, Pages 70-77, 2014.

Suali, E., Sarbatly, R. Conversion of microalgae to biofuel, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Volume 16, Issue 6, Pages 4316-4342, ISSN 1364-0321, 2012.

Tigre, P. *Gestão da Inovação*. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006.

Vanthoor-Koopmans, M., Wijffels, R. H., Barbosa, M. J. , Eppink, M.H.M., *Biorefinery of microalgae for food and fuel*, *Bioresource Technology*, Volume 135, Pages 142-149, 2013

Vasistha, S., Khanra, A., Clifford, M., Rai, M.P., *Current advances in microalgae harvesting and lipid extraction processes for improved biodiesel production: A review*, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Volume 137, 2021.

Viêgas, C. V., *Extração e caracterização dos lipídeos da microalga *Chlorella pyrenoidosa* visando à produção de ésteres graxos*, Rio Grande, Maio de 2010

Xiong, W.; Li, X.; Xiang, J.; Wu, Q. High-Density Fermentation Of Microalga *Chlorella Protothecoides* In Bioreactor For Microbiodiesel Production. *Applied Microbiology Biotechnology*, V. 78, P. 29-36, 2008.

Xu, H.; Miao, X.; Wu, Q. High Quality Biodiesel Production From A Microalga *Chlorella Protothecoides* By Heterotrophic Growth In Fermenters. *Journal Biotechnology*, V. 126, P. 499-507, 2006.

Yamane, T. & Shimizu, S. Fed-batch techniques in microbial processes. *Advances in Biochemical Engineering Biotechnology*, v. 30, p.148-1984., 1984.

Yoo, C.; Jun, S.Y.; Lee, J.Y.; Ahn, C.Y.; Oh, H.M. Selection Of Microalgae For Lipid Production Under High Levels Carbon Dioxide. *Bioresource Technology*, V. 101, P. 71-74, 2010.

Zheng, Y.; Chi, Z.; Lucker, B.; Chen, S. Two-stage heterotrophic and phototrophic culture strategy for algal biomass and lipid production. *Bioresource Technology*, v. 103, p. 484-4889, 2012.