



**Prospecção tecnológica de microalgas do  
gênero *Arthrospira* na produção de  
ficocianina para a indústria**

Isabella Bastos João Vitor França

Projeto Final em Engenharia de Bioprocessos

Orientadores:

Anita Ferreira do Valle, *D.Sc.*

Élcio Ribeiro Borges, *D. Sc.*

Junho de 2021

# PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA DE MICROALGAS DO GÊNERO ARTHROSPIRA NA PRODUÇÃO DE FICOCIANINA PARA A INDÚSTRIA

*Isabella Bastos*

*João Vitor França*

Projeto Final em Engenharia de Bioprocessos submetido ao Corpo Docente da Escola de Química, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Engenharia de Bioprocessos.

Aprovado por:

---

Prof. Daniel Tinôco Campos Neto, *M. Sc*

---

Samuel Ferreira Damaciano, *M. Sc*

Orientado por:

---

Prof. Anita Ferreira do Valle, *D. Sc.*

---

Prof. Élcio Ribeiro Borges, *D. Sc.*

Rio de Janeiro, RJ – Brasil  
Junho de 2021

Ficha Catalográfica

Torres, Isabella Bastos; França, João Vitor Florido.

Prospecção tecnológica de microalgas do gênero *Arthrospira* na produção de ficocianina para a indústria / Isabella Bastos Torres e João Vitor Florido França, Rio de Janeiro: UFRJ/EQ, 2021.

xi, 113 p.; il.

(Projeto Final) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, 2021.

Orientadores: Anita Ferreira do Valle e Élcio Ribeiro Borges.

1. Prospecção Tecnológica. 2. *Arthrospira* 3. Ficocianina

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus por me permitir chegar aonde estou; aos meus pais, Claudia e Gelson, que sempre me suportaram e me amaram; ao meu namorado Matheus, que trilha o caminho comigo desde do ensino médio e que me apoiou em todos os momentos, me dando forças para continuar; ao João que esteve comigo desde o início da faculdade e que realizou esse trabalho comigo e se tornou um amigo para vida. Também agradeço aos meus amigos, que sempre me apoiaram e estiveram comigo nesses anos. Por fim, agradeço aos meus orientadores, Prof<sup>a</sup> Anita Ferreira do Valle e Prof. Elcio Ribeiro Borges, pela atenção, disponibilidade, dedicação e ensinamento.

*Isabella Bastos Torres*

Agradeço a Deus por me dar sabedoria e oportunidade para trilhar meu caminho; à minha família, Rosane, Mauro e Rodolfo, que sempre acreditaram em mim, me apoiaram e me amaram incondicionalmente; à minha namorada, Gláucia, pelo companheirismo, por estar ao meu lado nos momentos bons e ruins; à Isabella não só pela elaboração desse trabalho, mas pela parceria e amizade desde o início da faculdade. Sou também grato aos meus amigos, que me acompanharam de perto durante toda a minha trajetória. Por fim, agradeço aos meus orientadores, Prof<sup>a</sup> Anita Ferreira do Valle e Prof. Elcio Ribeiro Borges, pela orientação, disponibilidade, paciência e ensinamentos.

*João Vitor Florido França*

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

## **PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA DE MICROALGAS DO GÊNERO ARTHROSPIRA NA PRODUÇÃO DE FICOCIANINA PARA A INDÚSTRIA**

Isabella Bastos Torres

João Vitor Florido França

Junho, 2021

Orientadores: Anita Ferreira do Valle, *D. Sc.*

Élcio Ribeiro Borges, *D. Sc.*

As microalgas são seres unicelulares microscópicos sendo as espécies do gênero *Arthrospira* frequentemente usadas para a nutrição animal e humana por apresentarem alto conteúdo de proteínas, além de vitaminas e compostos bioativos. Dentre esses, a ficocianina se destaca por ser um pigmento com diversas aplicações nas indústrias de alimentos, cosméticos, farmacêutica e biotecnológica. Dentro desse contexto, o presente trabalho teve como objetivo identificar as tendências tecnológicas para produção de ficocianina por microalgas do gênero *Arthrospira* e suas aplicações nas indústrias farmacêutica, alimentícia e cosmética, através da elaboração de um estudo de prospecção tecnológica. Para isso, realizou-se uma busca de artigos científicos e patentes referentes ao tema utilizando a base SCOPUS e LENS, respectivamente, no período de 2015 a 2020. Como resultado, foram coletados e analisados 80 artigos científicos e 53 patentes. O Brasil apresentou posição de destaque nos artigos representando 14% dos documentos relevantes publicados. Para as patentes, a China é o país com maior notoriedade com 18% dos documentos. O resultado das análises das classes níveis Macro, Meso e Micro representam um passo importante no campo da prospectiva tecnológica de uma abordagem estratégica para o desenvolvimento de trabalhos futuros acerca da temática abordada.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - A) Microscopia de espécie do gênero <i>Arthrospira</i> . B) Microscopia eletrônica de espécie do gênero <i>Arthrospira</i> .....	6
Figura 2 - Estrutura esquemática do ficobilissomo PE: ficoeritrina, PC: ficocianina, APC: aloficocianina, PSII: fotossistema 2.....	11
Figura 3 – Sistema de cultivo aberto de microalgas.....	18
Figura 4 - Fotobiorreator tubular vertical .....	19
Figura 5 - (a) e (b) representam um tambor rotatório e (c) fotos de partículas inertes .....	22
Figura 6 - Diagrama de técnicas de coleta e secagem de biomassa de microalgas .....	22
Figura 7 - Representação esquemática do processo de extração por ultrassom .....	24
Figura 8 - Diagrama esquemático de um equipamento para ultrafiltração .....	28
Figura 9 - Pó e solução de <i>LinaBlue</i> ® em água.....	29
Figura 10 - Objetivos dos estudos de prospecção .....	34
Figura 11 - Fases sequenciais da estratégia de prospecção tecnológica .....	39
Figura 12 - Filtragem de artigos para análise.....	42
Figura 13 - Filtragem de patentes para análise.....	44
Figura 14 - Gráfico de artigos relevantes e descartados gerado na base <i>Scopus</i> (2015 – julho/2020). .....	49
Figura 15 - Série histórica dos artigos relevantes gerada na base <i>Scopus</i> (2015 – julho/2020).....	50
Figura 16 - Distribuição de países para os artigos relevantes obtidos na base <i>Scopus</i> (2015 – julho/2020).....	51
Figura 17 - Matriz de aplicações por continentes considerando os artigos relevantes obtidos na base <i>Scopus</i> (2015 – julho/2020).....	53
Figura 18 - Universidades com maior número de publicações relevantes obtidos na base <i>Scopus</i> (2015 – julho/2020).....	55
Figura 19 - Distribuição dos artigos relevantes publicados de acordo com as taxonomias Classe Nível Meso definidas.....	57

Figura 20 - Quantidade de documentos presentes nas taxonomias de Nível Micro provenientes de "Condições de Cultivo" obtida na base <i>Scopus</i> (2015 – julho/2020).....	58
Figura 21 - Quantidade de documentos presentes nas taxonomias de Nível Micro provenientes de "Coleta da Biomassa" obtida na base <i>Scopus</i> (2015 – julho/2020).....	60
Figura 22 - Quantidade de documentos presentes nas taxonomias de Nível Micro provenientes de "Métodos de Extração" obtida na base <i>Scopus</i> (2015 – julho/2020).....	61
Figura 23 - Quantidade de documentos presentes nas taxonomias de Nível Micro provenientes de "Métodos de Purificação" obtida na base <i>Scopus</i> (2015 – julho/2020).....	62
Figura 24 - Quantidade de documentos presentes nas taxonomias de Nível Micro provenientes de "Formas de Aplicação" obtida na base <i>Scopus</i> (2015 – julho/2020).....	63
Figura 25 - Quantidade de documentos presentes nas taxonomias de Nível Micro provenientes de "Co-produção e caracterização da biomassa" obtida na base <i>Scopus</i> (2015 – julho/2020).....	65
Figura 26 - Quantidade de documentos presentes nas taxonomias de Nível Micro provenientes de "Estabilidade" obtida na base <i>Scopus</i> (2015 – julho/2020)....	66
Figura 27 - Quantidade de documentos presentes nas taxonomias de Nível Micro provenientes de "Modelagem e Simulação" obtida na base <i>Scopus</i> (2015 – julho/2020).....	68
Figura 28 - Proporção entre registro de patentes concedidas e solicitadas dos documentos obtidos na plataforma <i>LENS</i> (2015 – julho/2020). ....	70
Figura 29 - Série histórica das patentes relevantes gerada na base <i>LENS</i> (2015 – julho/2020).....	71
Figura 30 - Distribuição de patentes concedidas e solicitadas por jurisdição dos documentos obtidos na plataforma <i>LENS</i> (2015 – julho/2020). ....	72
Figura 32 - Distribuição de patentes totais por aplicador dos documentos obtidos na plataforma <i>LENS</i> (2015 – julho/2020). ....	74
Figura 33- Distribuição das patentes de acordo com suas taxonomias Nível Meso obtidas na plataforma <i>LENS</i> (2015 – julho/2020).....	75

Figura 34 - Quantidade de documentos presentes nas taxonomias de Nível Micro provenientes de "Condições de Cultivo" obtidas na plataforma <i>LENS</i> (2015 – julho/2020).....	76
Figura 35 - Quantidade de documentos presentes nas taxonomias de Nível Micro provenientes de "Métodos de secagem" obtidas na plataforma <i>LENS</i> (2015 – julho/2020).....	77
Figura 36 - Quantidade de documentos presentes nas taxonomias de Nível Micro provenientes de "Métodos de Extração" obtidas na plataforma <i>LENS</i> (2015 – julho/2020).....	78
Figura 37 - Quantidade de documentos presentes nas taxonomias de Nível Micro provenientes de "Métodos de purificação" obtidas na plataforma <i>LENS</i> (2015 – julho/2020).....	80
Figura 38 - Quantidade de documentos presentes nas taxonomias de Nível Micro provenientes de "Formas de aplicação" obtidas na plataforma <i>LENS</i> (2015 – julho/2020).....	81
Figura 39 - Quantidade de documentos presentes nas taxonomias de Nível Micro provenientes de "Estabilidade" obtidas na plataforma <i>LENS</i> (2015 – julho/2020). .....	82
Figura 40 - Quantidade de documentos presentes nas taxonomias de Nível Micro provenientes de "Coprodução e/ou caracterização da biomassa" obtidas na plataforma <i>LENS</i> (2015 – julho/2020). ....	83

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resultados das buscas de artigos.....	42
Tabela 2 - Resultados das buscas de patentes.....	43
Tabela 3 - Taxonomias classe Nível Meso e Micro da prospecção tecnológica para artigos .....	47
Tabela 4 - Taxonomias das classes de Níveis Meso e Micro da prospecção tecnológica para análise de patentes. ....	48
Tabela 5 - Contagem de artigos relevantes para todos os países .....	52
Tabela 6- Empresas com artigos publicados ou participação em artigos e seus respectivos países.....	54
Tabela 7 - Número de patentes por empresas e seus respectivos setores.....	74

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Compostos bioativos produzidos por cianobactérias .....	5
Quadro 2 - Análise de composição por 100g de <i>Spirulina pacifica</i> .....	7
Quadro 3 - Composição do meio de cultivo de <i>Zarrouk</i> .....	9
Quadro 4 - Dados espectrais da ficocianina.....	12

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO E OBJETIVOS</b>	<b>1</b>
1.1 CONTEXTUALIZAÇÃO	1
1.2 OBJETIVOS	2
1.3 ESTRUTURAÇÃO DO PROJETO FINAL	2
<b>CAPÍTULO 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>4</b>
<b>2.1 MICROALGAS</b>	<b>4</b>
<b>2.1.1 Microalgas do gênero <i>Arthrospira</i></b>	<b>6</b>
2.1.1.1 Descrição	6
2.1.1.2 Composição da biomassa algácea	7
2.1.1.3 Cultivo de microalgas do gênero <i>Arthrospira</i>	8
<b>2.2 FICOBILIPROTEÍNAS</b>	<b>11</b>
2.2.1 Ficocianina	12
2.2.2 Outras ficobiliproteínas	13
<b>2.3 CONDIÇÕES DE CULTIVO PARA PRODUÇÃO DE FICOCIANINA</b>	<b>14</b>
2.3.1 Exigências Nutricionais	15
2.3.2 Condições luminosas	16
2.3.3 Condições físico-químicas	17
2.3.4 Sistemas de produção	18
<b>2.4 TECNOLOGIAS DE PRODUÇÃO</b>	<b>20</b>
2.4.1 Coleta da Biomassa	20
2.4.2 Extração de ficocianina	23
2.4.3 Purificação de ficocianina	26
<b>2.5 FORMAS DE APLICAÇÃO</b>	<b>28</b>
2.5.1 Indústria de alimentos	28
2.5.2 Indústria farmacêutica	30
2.5.3 Indústria cosmética	31
<b>CAPÍTULO 3 PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA</b>	<b>32</b>
<b>3.1 O USO DE PATENTES E ARTIGOS CIENTÍFICOS COMO FERRAMENTAS DE PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA</b>	<b>38</b>

<b>CAPÍTULO 4 METODOLOGIA DE PESQUISA</b>	<b>39</b>
<b>4.1 FASE 1: ETAPA PREPATÓRIA</b>	<b>39</b>
<b>4.2 FASE 2: ETAPA PRÉ-PROSPECTIVA</b>	<b>40</b>
<b>4.3 ESTRATÉGIA DE BUSCA PARA ARTIGOS E PATENTES</b>	<b>41</b>
<b>4.3.1 Artigos científicos</b>	<b>41</b>
<b>4.3.2 Patentes</b>	<b>43</b>
<b>4.4 FASE 3 E 4: ETAPA PROSPECTIVA E PÓS-PROSPECTIVA</b>	<b>44</b>
<b>4.5 TAXONOMIAS SEGUNDO AS CLASSIFICAÇÕES NÍVEL MACRO, MESO E MICRO</b>	<b>45</b>
<b>CAPÍTULO 5 RESULTADOS</b>	<b>49</b>
<b>5.1 Resultados das análises dos artigos científicos</b>	<b>49</b>
<b>5.1.1 Análise da Classe Nível Macro</b>	<b>49</b>
<b>5.1.2 Análise Classe Nível Meso</b>	<b>56</b>
<b>5.1.3 Análise Classe Nível Micro</b>	<b>57</b>
5.1.3.1 Condições de Cultivo	57
5.1.3.2 Coleta da Biomassa	59
5.1.3.3 Métodos de Extração	60
5.1.3.4 Métodos de Purificação	61
5.1.3.5 Formas de Aplicação	63
5.1.3.6 Coprodução e/ou Caracterização da Biomassa	64
5.1.3.7 Estabilidade	65
5.1.3.8 Modelagem e Simulação	66
<b>5.1.4 Considerações finais da análise de artigos</b>	<b>68</b>
<b>5.2 RESULTADOS DA ANÁLISE DE PATENTES</b>	<b>70</b>
<b>5.2.1 Análise Macro</b>	<b>70</b>
<b>5.2.2 Análise Classe Nível Meso</b>	<b>75</b>
<b>5.2.3 Análise Classe Nível Micro</b>	<b>76</b>
5.2.3.1 Condições de Cultivo	76
5.2.3.2 Métodos de Secagem	77
5.2.3.3 Métodos de Extração	78
5.2.3.4 Métodos de Purificação	79

5.2.3.5	Formas de aplicação	80
5.2.3.6	Estabilidade	81
5.2.3.7	Coprodução e/ou caracterização da biomassa	82
<b>5.2.4</b>	<b>Considerações finais da análise de patentes</b>	<b>83</b>
<b>CAPÍTULO 6 TENDÊNCIAS TECNOLÓGICAS</b>		<b>85</b>
<b>CAPÍTULO 7 CONCLUSÕES E SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS</b>		<b>88</b>
<b>7.1</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	<b>88</b>
<b>7.2</b>	<b>SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS</b>	<b>89</b>

## CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

### 1.1 CONTEXTUALIZAÇÃO

As microalgas representam um dos grupos de organismos vivos mais antigos. São seres unicelulares microscópicos que podem existir individualmente, em cadeias ou grupos e o mercado de sua biomassa movimentada cerca de 1,25 bilhões de dólares por ano (PULZ et al., 2004). As espécies do gênero *Arthrospira* são frequentemente usadas para a nutrição animal e humana por conta do seu alto conteúdo de proteínas e outros compostos nutricionalmente relevantes como vitaminas, minerais, ácidos graxos e compostos bioativos (JIMÉNEZ et al., 2003; LUPATINI et al., 2017; TRIVEDI et al., 2015).

Dentre os componentes com atividade biológica produzidas por cianobactérias, a ficocianina se destaca por ser uma ficobiliproteína (pigmento fotossintético) com diversas aplicações nas indústrias de alimentos, cosméticos, farmacêutica e biotecnológica. A ficocianina tem sido utilizada como corante natural e alternativa a corantes artificiais. (MORAES et al., 2018).

A ficocianina é uma proteína composta por duas subunidades homólogas, solúvel em água e com fortes propriedades fluorescentes e antioxidantes. Trata-se de um pigmento responsável pela captura de luz durante a fotossíntese (tendo absorção máxima o comprimento de onda 620 nm) e apresenta uma cor azul característica (ERIKSEN et al., 2008). A biomassa produtora de ficocianina é produzida comercialmente em tanques abertos predominantemente, em locais de clima tropical e subtropical, estando principais produtores localizados nos Estados Unidos, Índia e China (COSTA et al., 2019).

Esse pigmento apresenta uma estimativa de valor de varejo de cerca de 10 milhões de dólares e um dos possíveis gargalos está relacionado ao processo de *downstream* que pode comprometer cerca de 50 a 80% dos custos totais de produção (MOLINA GRIMA et al., 2003). Apesar disso, muitos estudos relacionados a métodos de extração e purificação dessa ficobiliproteína têm sido desenvolvidos em laboratórios de pesquisa aplicada e nos últimos 10 a 15 anos o interesse sobre os usos potenciais da ficocianina para aplicações farmacêuticas, fluorescentes e nutracêuticas tem crescido (ILTER et al., 2018; SILVEIRA et al., 2007; ERIKSEN et al., 2008).

A ficocianina possui um grande potencial de aplicação industrial sendo comercializada como corante para cosméticos e alimentos no Japão (PRASANNA et al., 2007). Além de ser utilizada como suplemento nutracêutico, a ficocianina também possui atividade antioxidante, anti-inflamatória, antiviral, anticâncer e de redução do colesterol (JENSEN et al., 2001).

## **1.2 OBJETIVOS**

Concernente com o exposto, o objetivo do trabalho foi concebido com intuito de apresentar um estudo de prospecção tecnológica da aplicação de ficocianina produzida por microalgas do gênero *Arthrospira* em três principais segmentos industriais, quais sejam: alimentício, cosmético e farmacêutico. Documentos técnicos como artigos científicos, *reviews* e patentes foram analisados para a identificação de oportunidades, tendências e conhecimentos consolidados referentes à produção, tecnologia e aplicações.

## **1.3 ESTRUTURAÇÃO DO PROJETO FINAL**

Para atender aos objetivos propostos, este trabalho está estruturado conforme descrito a seguir.

Neste Capítulo 1, é apresentada uma breve introdução do assunto objeto de estudo, bem como dos principais objetivos do trabalho.

No Capítulo 2, é apresentada uma visão geral acerca do tema, abordando fundamentação teórica sobre a microalga do gênero *Arthrospira*, seu cultivo, a produção de ficocianina, assim como o processo de *downstream* e sua aplicação nas indústrias estudadas.

O Capítulo 3, apresenta a fundamentação teórica dos conceitos sobre prospecção tecnológica.

No Capítulo 4, são descritas as estratégias utilizadas para a pesquisa de artigos científicos e patentes e seus métodos de seleção.

O Capítulo 5 aborda o os resultados do mapeamento tecnológico.

No Capítulo 6, são apresentadas as discussões dos resultados obtidos.

No Capítulo 7, são expostas as principais conclusões deste trabalho e as sugestões a serem implementadas em trabalhos futuros.

## CAPÍTULO 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 MICROALGAS

As microalgas são seres eucarióticos ou procarióticos com capacidade fotossintetizante. São organismos que podem ser encontrados principalmente em meio líquido e que possuem a capacidade de se multiplicar rapidamente mesmo em condições adversas. As cianobactérias representam as microalgas procarióticas e como exemplo tem-se microrganismos dos gêneros *Arthrospira*. Já dentro do grupo das eucarióticas, as algas verdes (*Chlorophyta*) e as diatomáceas (*Bacillariophyta*) podem ser citadas como exemplos (MATA, 2010; TOMASELLI, 2004; OLAIZOLA, 2003).

Estima-se que há no planeta cerca de 50 mil espécies de microalgas, porém o número de espécies estudadas limita-se, no momento, a aproximadamente 30 mil espécies e esse grupo de organismos é responsável por cerca de metade de todo oxigênio lançado na atmosfera (MATA, 2010; FOX, 1996).

As microalgas podem ser utilizadas como fonte de matéria-prima para a produção de biocombustíveis, suplementação alimentar, aplicações farmacêuticas e cosméticas. Além disso, elas são fonte de inúmeros bioprodutos de alto valor agregado, incluindo polissacarídeos, lipídeos, compostos bioativos e pigmentos (KHAN, 2018).

Dentro das microalgas, as cianobactérias podem ser classificadas morfológicamente como unicelulares ou filamentosas e são capazes de crescer rapidamente apenas na presença de componentes inorgânicos, água e luz (ASHBY; HOUMARD, 2006; CHRONAKIS et al., 2000). Devido a esse rápido crescimento e à capacidade de acumular metabólitos com relevância em diversas aplicações, esses organismos vêm ganhando destaque nos últimos anos na indústria biotecnológica (ZAHRA, 2020). A diversidade de biocompostos que podem ser obtidos pelas mais diversas espécies de cianobactérias é exemplificada no Quadro 1.

Quadro 1 - Compostos bioativos produzidos por cianobactérias

<b>Espécie da cianobactéria</b>	<b>Compostos bioativos</b>	<b>Atividade biológica</b>	<b>Referência</b>
<i>Phormidium tenue</i>	Galactosildiacylgliceróis	Atividade anti-HIV	MARAKUMI et al. (1991)
<i>Phormidium spp.</i>	Enzimas termoestáveis	Catálise de reações	PIECHULA et al. (2001)
<i>Hyella caespitose</i>	Carazostatina	Antifúngico	BURJA et al. (2001)
<i>Nostoc sp</i>	Nostociclamida	Antifúngico	MOORE et al. (1998)
<i>N.sphaericum</i>	Indolocarbazoles	Antiviral	COHEN (1999)
<i>Synechocystis sp.</i>	Naienones A-C	Antitumoral	NAGLE E GERWICK (1995)
<i>Spirulina platensis</i>	Vitamina B e Vitamina E	Antioxidante e co-enzimas	PLAVSIC et al. (2014)

Fonte: ABED et al. (2009)

## 2.1.1 Microalgas do gênero *Arthrospira*

### 2.1.1.1 Descrição

O gênero *Arthrospira* é um gênero pertencente ao filo *Cyanobacteria* que é caracterizado por organismos em sua maioria extremófilos que crescem principalmente em regiões tropicais e subtropicais (FURMANIAK et al., 2017). São microrganismos que habitam uma variedade de ambientes como: solo, areia, pântanos e em ambientes aquáticos como rios, mares e águas salobras (CHARPY et al., 2012).

Os organismos desse gênero são multicelulares e possuem uma morfologia de tricomas helicoidais abertos de tamanho médio de 50 a 500 micrômetros de comprimento e de 2 a 4 micrômetros de largura como mostra a Figura 1. Esse gênero, que também possui nome comercial de *Spirulina*, é constituído de seres autotróficos, fotossintetizantes que possuem, além da clorofila e carotenoides, um pigmento principal de cor azul: a ficocianina (SHAO et al., 2018).

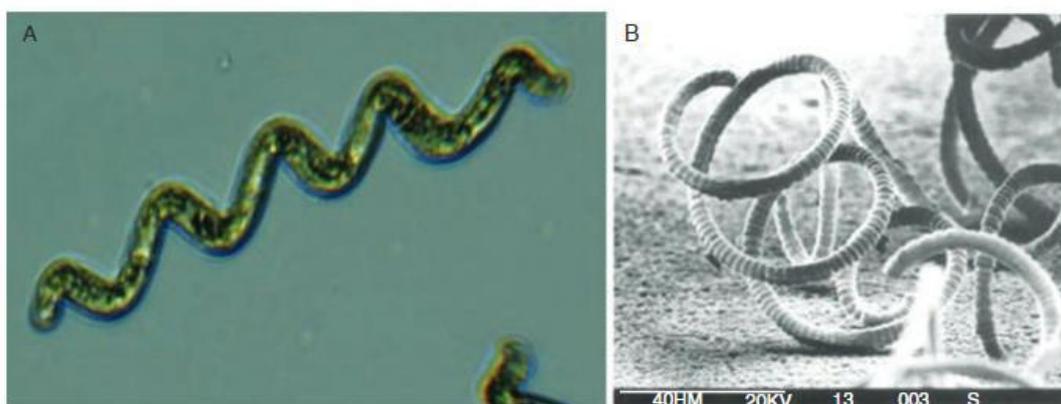


Figura 1 - A) Microscopia de espécie do gênero *Arthrospira*. B) Microscopia eletrônica de espécie do gênero *Arthrospira*

Fonte: EBAID et al. (2017); CIFERRI (1984)

As espécies do gênero *Arthrospira* têm sido utilizadas como suplemento alimentar animal e humano devido a sua rica composição nutricional. Além disso, por conta de seu alto conteúdo de fitonutrientes e pigmentos, vêm ganhando atenção também no cenário médico (FARAG et al., 2015).

As espécies mais investigadas do gênero *Arthrospira* por conta das suas características nutricionais e possíveis aplicações terapêuticas são: *Arthrospira platensis*, *Arthrospira maxima* e *Arthrospira fusiformis* (KARKOS et al., 2011).

#### 2.1.1.2 Composição da biomassa algácea

As espécies do gênero *Arthrospira* são principalmente conhecidas por conta do seu alto teor proteico, podendo chegar a até 60% de seu peso seco para algumas espécies (ROSA; MORAES; CARDIAS; SOUZA; COSTA, 2015).

Elas possuem todos os aminoácidos essenciais, sendo uma grande fonte de betacaroteno, ácido gamalinolênico, minerais, vitaminas e pigmentos como mostra no Quadro 2.

Quadro 2 - Análise de composição por 100g de *Spirulina pacifica*

<b>Componente</b>	<b>Quantidade</b>
<b>Geral</b>	
Total de calorias	333 Kcal
Total de gordura	5 g
Gordura saturada	2,2 g
Colesterol	0 mg
Total de carboidratos	16 g
Total de fibras alimentares	7 g
Açúcares	0 g
Proteínas	67 g
<b>Vitaminas</b>	
Betacaroteno (Vitamina A)	375.000 UI
Vitamina E	7 UI
Riboflavina (Vitamina B2)	4667 µg
Vitamina B6	1000 µg
Vitamina B12	300 µg
<b>Minerais</b>	
Cálcio	333 mg
Ferro	217 mg
Fósforo	1100 mg
Iodo	500 µg
Magnésio	500 mg
Zinco	3 mg
Selênio	30 µg
Sódio	1000 mg

Potássio	2000 mg
<b>Fitonutrientes e carotenoides</b>	
Ácido gamalinolênico	1067 mg
Zeaxantina	300 mg
Total de carotenoides	500 mg
Clorofila	1000 mg
C-ficocianina	8000 mg

Fonte: CAPELLI E CYSEWSKI (2010)

Por conta da rica composição da biomassa, as espécies do gênero *Arthrospira* foram consideradas como fonte de alimento para o futuro pelo *International Association of Applied Microbiology* e possui potencial de se tornar um importante ingrediente funcional (COSTA et al. 2019; LAFARGA et al., 2020).

Resultados indicam que a biomassa das espécies do gênero *Arthrospira* e seus extratos possuem capacidade de combater infecções virais como as causadas pelo SARS, MERS e SARS-2 (JOSEPH et al., 2020), apresentam, ainda, atividade antitumoral e prevenção de doenças cardiovasculares (KIM e LEE, 2013). Além da aplicação farmacêutica, produtos da indústria cosmética contendo extratos de *Spirulina* estão crescendo devido a sua ação antienvhecimento, hidratação, ação antiacne e antimicrobiana (FURMANIAK et al., 2017).

#### 2.1.1.3 Cultivo de microalgas do gênero *Arthrospira*

O gênero *Arthrospira* é o mais cultivado no mundo, representando cerca de 30% de toda a biomassa de microalga produzida no planeta (COSTA et al., 2019). Os custos com meio de cultivo podem representar até 35% do custo total de produção de biomassa das espécies do gênero *Arthrospira* (MOLINA GRIMA et al., 2003).

A produção de biomassa das espécies do gênero *Arthrospira* são influenciadas principalmente pelos fatores: temperatura, disponibilidade de nutrientes e luz (CARVALHO et al., 2019) (COLLA et al., 2007).

A temperatura ótima de cultivo para crescimento de biomassa de *Arthrospira* varia entre 30 e 35 °C, temperatura frequentemente observada durante o ano inteiro nas regiões Norte e Nordeste do Brasil (JESUS; UEBEL; COSTA; MIRANDA; MORAIS; MORAIS;

COSTA; NUNES; FERREIRA; DRUZIAN, 2018). Além disso, o pH ótimo de cultivo é em torno de 9,5 (BINAGHI et al., 2003).

Um dos meios de cultivos mais populares de *Arthrospira* é o meio de *Zarrouk* que vem sendo utilizado como meio padrão para o cultivo das espécies desse gênero por muitos anos (ZARROUK, 1966). A sua composição é apresentada no Quadro 3.

A fonte de carbono mais usual é o bicarbonato de sódio, porém o uso de dióxido de carbono dissolvido no meio vem sendo utilizado, pois também atua no controle de pH durante a fotossíntese (GROBBELAAR, 2004). Adicionalmente, a disponibilidade de nitrogênio é extremamente relevante por ser precursora de constituintes celulares estruturais, como proteínas, ácidos nucleicos e pigmentos fotossintetizantes (ficobiliproteínas e clorofila) (LOURENÇO, 2006). Para a produção de ficocianina, a melhor razão de nitrogênio e fósforo é de 10:1 (CARVALHO et al., 2019)

Nestes termos, as fontes de nitrogênio mais utilizadas para o cultivo de *Arthrospira* são sais inorgânicos como nitrato de sódio e potássio (RODRIGUES, 2008).

Quadro 3 - Composição do meio de cultivo de *Zarrouk*

Componente	Concentração (g.L <sup>-1</sup> )
NaHCO <sub>3</sub>	16,8
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,5
NaNO <sub>3</sub>	2,5
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1,0
NaCl	1,0
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,2
CaCl <sub>2</sub>	0,04
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,01
EDTA	0,08
<b>Solução A<sub>5</sub></b>	1 mL.L <sup>-1</sup>
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	2,86
MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	1,81
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,222

CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0,079
NaMnO <sub>4</sub>	0,015
<b>Solução B<sub>6</sub></b>	1 mL.L <sup>-1</sup>
NH <sub>4</sub> VO <sub>3</sub>	22,96
K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>4</sub> .24H <sub>2</sub> O	96
NiSO <sub>4</sub> .76H <sub>2</sub> O	47,85
Na <sub>2</sub> WO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	17,94
TiOSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .8H <sub>2</sub> O	61,1
Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	43,98

Fonte: ZARROUK (1966)

Zarrouk (1966) determinou que a faixa de fluxo de fótons fotossintéticos ótima é compreendida entre 480 a 550  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . Entretanto, estudos apontam que intensidades de luz menores podem obter maiores valores de produção de biomassa, uma vez que valores de fluxos muito elevados podem causar fotoinibição e perda da capacidade fotossintética (VONSHAK, 1997). A melhor irradiância para a produção de biomassa de microalgas *Spirulina maxima* foi de 120  $\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (CARVALHO et al., 2019).

Os valores ótimos de condição de luz dependem da espécie a ser cultivada e da fonte de luz. Apesar de laboratorialmente as fontes de luz mais comuns serem as lâmpadas fluorescentes, diferentes tipos de luzes coloridas podem impactar a composição celular. Um exemplo deste fenômeno é a obtenção de uma maior quantidade, não só, clorofila e ficocianina, mas também carboidratos e lipídeos quando as células de *Arthrospira* foram cultivadas sob luz azul de LED (MARKOU, 2014).

## 2.2 FICOBILIPROTEÍNAS

As ficobiliproteínas são um pequeno grupo de proteínas com estrutura altamente conservada que constituem o ficobilissoma, um complexo macromolecular proteico, cuja principal função é captar luz para o aparato fotossintético de cianobactérias (ROMAY, 2003).

As ficobiliproteínas são formadas por subunidades alfa e beta e se ligam em diferentes números de distintas moléculas de ficobilinas. As moléculas de ficobilinas estruturalmente são tetrapirrrois de cadeia aberta que atuam como pigmentos acessórios presentes em cianobactérias para a absorção de diferentes comprimentos de luz da radiação visível. Existem três principais tipos diferentes de ficobiliproteínas: ficocianina, aloficocianina e ficoeritrina; e cada uma possui uma combinação distinta de moléculas de ficobilinas (MYSLIWA-KURDZIEL, 2017).

As ficobiliproteínas são solúveis em água e absorvem energia em faixas do espectro luminoso nas quais a clorofila não é capaz de absorver de forma eficiente, participando, portanto, do processo de transporte de elétrons fotossintético (KIRILOVSKY, 2015).

As ficobiliproteínas formam uma estrutura complexa ligada ao fotossistema 2 (PSII), localizada na membrana do tilacóide, chamada de ficobilissoma como mostra Figura 2 (MYSLIWA-KURDZIEL, 2017).

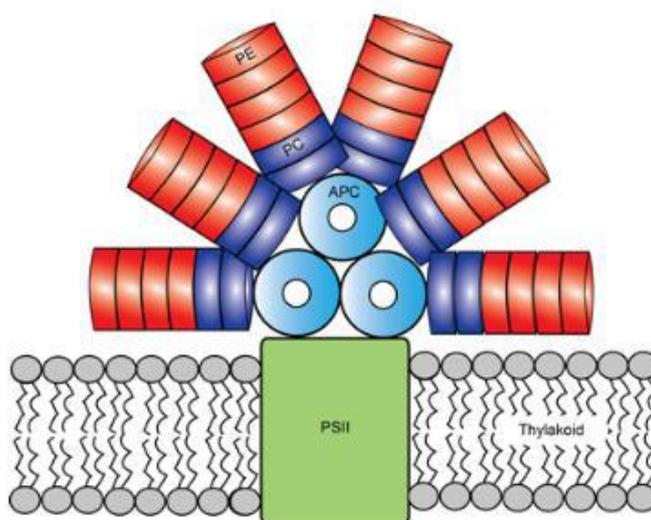


Figura 2 - Estrutura esquemática do ficobilissoma PE: ficoeritrina, PC: ficocianina, APC: aloficocianina, PSII: fotossistema 2

Fonte: MYSLIWA-KURDZIEL (2017)

As ficobiliproteínas, por conta da presença das ficobilinas, tem ganhado importância como corantes naturais na indústria de alimentos e biotecnológica, além de possuírem diversas atividades biológicas como antioxidante, anti-carcinogênica e anti-inflamatória (AMCHOVA et al., 2015; DASGUPTA, 2015; ROMAY et al., 2003).

### 2.2.1 Ficocianina

A ficocianina é caracterizada por ser uma ficobiliproteína que é utilizada como corante natural azul e é considerada um dos principais pigmentos das espécies do gênero *Arthrospira* (KUDDUS et al., 2013).

Sua estrutura é composta por subunidades alfa de aproximadamente 17 kDa e subunidades beta de 19,5 kDa que são ligadas a cromóforos de ficocianobilina por meio de ligações tioéter em resíduos específicos de cisteína (ROMAY et al., 2003).

A ficocianina pode representar de 10 a 20% do conteúdo de biomassa em *Arthrospira platensis* (LIU et al., 2016), possuindo ponto isoelétrico entre 4,5 e 5,0, peso molecular de aproximadamente 220 kDa e propriedades espectrais conforme o Quadro 4.

Quadro 4 - Dados espectrais da ficocianina

<b>Pigmento</b>	<b>Absorvância máxima (nm)</b>	<b>Emissão fluorescência (nm)</b>	<b>Absortividade (L.g<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>)</b>
Ficocianina	615	647	7,0

Fonte: LIU et al. (2016)

A ficocianina é uma proteína insolúvel em soluções com pH abaixo de 3, soluções alcoólicas e ésteres. É sensível a estresses térmicos e de pH: temperaturas acima de 40 °C e pH compreendido fora da faixa de 4,0 a 8,5 faz com que a ficocianina sofra alterações de coloração e densidade ótica (LIU et al. 2016).

A estabilidade térmica dessa proteína pode ser melhorada por meio de soluções de açúcares, como o sorbitol, prevenindo assim a sua degradação e descoloração (ANTELO, 2008).

Propriedades particulares da ficocianina garantem uma série de funcionalidades, podendo ser aplicada na indústria cosmética, de alimentos e farmacêutica. A aplicação da ficocianina em produtos cosméticos está relacionada principalmente ao aumento da importância do uso de corantes naturais em produtos como: maquiagens, batons e lápis de olho. A ficocianina ganha destaque por ser uma matéria-prima de fonte renovável, sem toxicidade e sem impactos negativos ao meio ambiente (MELLOU, 2019).

Já na indústria de alimentos, a ficocianina também é utilizada como corante natural em bebidas, goma de mascar, geleias, sorvetes, sobremesas e doces (SANTIAGO-SANTOS et al. 2004; ERIKSEN, 2008). Além disso, a ficocianina vem ganhando destaque no ramo de alimentos funcionais: alimentos que possuem um ou mais bioativos isolados ou purificados de fontes de alimento capazes de promover uma melhora na saúde do indivíduo (FERNÁNDEZ-ROJAS et al., 2014)

No campo farmacêutico, estudos recentes indicam que a ficocianina é capaz de reduzir o crescimento de células cancerígenas por meio de múltiplos mecanismos, incluindo a indução de apoptose, inibição da replicação do DNA e geração de espécies reativas de oxigênio (ERO) (SAFAEI, 2019). Outro ponto positivo é a sua baixa toxicidade a células saudáveis, sendo uma possível candidata a futuros tratamentos quimioterápicos (CATASSI et al., 2006).

Além da ampla quantidade aplicações terapêuticas, no campo farmacêutico e médico, a ficocianina pode ser aplicada também para a realização de diagnósticos, devido as suas propriedades particulares de fluorescência (RAJA et al., 2016).

### **2.2.2 Outras ficobiliproteínas**

Para a espécie *Arthrospira platensis*, apesar da ficocianina ser o pigmento principal, outros pigmentos como aloficocianina e ficoeritrina também são produzidos (WALTER et al., 2011; SILVA, 2008; AJAYAN et al., 2012). A aloficocianina possui faixa de absorção entre 650 e 660 nm, o que caracteriza uma cor azul clara, enquanto a ficoeritrina possui uma faixa de absorção entre 490 e 570 nm, caracterizando uma coloração avermelhada (KUDDUS et al. 2013; MANIRAFASHA et al. 2016).

Assim como a ficocianina, a aloficocianina também possui como bilina a ficocianobilina ligada as suas subunidades alfa e beta. Já a ficoeritrina se liga principalmente a ficoeritrobilina, mas podendo também se ligar a ficourobilina. Essas ficobiliproteínas também fazem parte do ficobilissoma como mostra a Figura 2, participando do processo de transferência de elétrons (MYSLIWA-KURDZIEL, 2017).

A aloficocianina, assim como a ficocianina, também pode ser utilizada como marcador fluorescente, corante natural para as indústrias cosmética e de alimentos. Possui também atividade antioxidante, sendo capaz de sequestrar espécies reativas de oxigênio (GLAZER, 1994; YOSHIDA et al., 1996; BHAT e MADHYASTHA, 2001).

Já a ficoeritrina possui resultados positivos em alguns modelos para tratamento do Mal de *Alzheimer*, além de atividade de indução de apoptose de células cancerígenas em modelos *in vitro* e uma forte atividade sequestradora de espécies reativas de oxigênio como superóxidos (SONANI et al., 2014).

BASHEVA et al. (2018) conduziram um experimento para determinar o conteúdo de ficobiliproteínas em diferentes cepas de cianobactérias e concluíram que 15 das 18 cianobactérias estudadas – que não incluía nenhuma espécie do gênero *Arthrospira* – possuíam um conteúdo de aloficocianina menor que o de ficocianina. Os autores observaram também que nas espécies do gênero *Nostoc*, a ficoeritrina era o pigmento em maior quantidade. Por outro lado, diversos trabalhos discutidos por AOUIR et al. (2017) indicaram que para as espécies do gênero *Arthrospira*, a ficocianina é o pigmento principal, sendo responsável por até 50% do conteúdo de ficobiliproteínas do ficobilissoma.

### **2.3 CONDIÇÕES DE CULTIVO PARA PRODUÇÃO DE FICOCIANINA**

As condições de cultivo podem influenciar decisivamente as fases de crescimento dos microrganismos do gênero *Arthrospira*, causando mudanças na composição celular, incluindo um aumento ou diminuição na concentração das ficobiliproteínas, como a ficocianina (COLLA et al., 2007).

De modo geral, a produtividade e rendimento de ficocianina depende dos efeitos de crescimento da biomassa e do conteúdo de ficocianina em si, sendo esses os maiores indicadores de uma produção eficiente (XIE et al., 2015).

### 2.3.1 Exigências Nutricionais

A fonte de nitrogênio é um dos fatores mais importantes no crescimento celular e, conseqüentemente, para produtividade de pigmentos, como a ficocianina. Algumas das fontes de nitrogênio utilizadas para o cultivo de *Arthrospira* e produção de ficocianina são os sais de nitrato e sais de amônio (COLLA et al., 2007).

A adoção por sais de amônio apresenta uma vantagem em relação aos sais de nitrato por serem economicamente mais viáveis. São facilmente assimilados pelos microrganismos, mas possuem uma toxicidade maior que os sais de nitrato. Entretanto, essa problemática pode ser contornada utilizando diferentes formas de operação envolvendo os cultivos, a fim de garantir a integridade celular. (KAEWDAM et al., 2019).

A amônia é a fonte de nitrogênio que é utilizada preferencialmente pelas espécies do gênero *Arthrospira* em seu metabolismo (RODRIGUES, 2008). Além disso, a concentração de ficocianina aumenta simultaneamente ao consumo de nitrogênio, atingindo seu máximo no início da escassez dessa fonte de nutriente (CHEN et al., 2013). Essa observação sugere que a ficocianina possui um papel secundário de reserva de fonte de nitrogênio para períodos de esgotamento, sendo seletivamente degradada (SLOTH et al. 2006).

Em relação à fonte de carbono, espécies do gênero *Arthrospira* são capazes de crescer na ausência de luz, heterotroficamente, na presença de glicose e frutose. Porém, esse tipo de cultivo não apresenta resultados expressivos para a produção de ficocianina (MÜHLING et al. 2005; MARQUEZ et al. 1993). Já autotroficamente, estudos apontam que a adição de fontes de carbono orgânico, como glicose e glicerol, pode influenciar positivamente na produção de ficobiliproteínas (KOVAČ, 2017).

O cultivo de biomassa de *Arthrospira* de forma autotrófica é preferencialmente utilizado em relação aos demais pelas vantagens de não necessitarem substrato orgânico (e assim evitarem eventuais contaminações) além de mitigarem emissões de dióxido de carbono (XIE et al., 2015).

O preparo do meio nutritivo para o cultivo das cianobactérias ainda representa uma grande fonte de custo para a produção de biomassa e ficocianina, principalmente devido às grandes quantidades de água demandadas (ZHAI et al., 2017). Para contornar esse

problema, o uso de efluentes que possuem nutrientes tem sido proposto como uma solução para tornar o cultivo desses microrganismos economicamente viável (NUR et al., 2019).

Os custos com o meio de cultivo podem ser reduzidos por meio de mudanças como a diluição ou substituição pelas seguintes alternativas: efluentes, fertilizantes, água do mar com ou sem enriquecimento de outros nutrientes, como bicarbonato de sódio e nitrato de sódio (GAMI et al., 2011).

### **2.3.2 Condições luminosas**

Alguns genes responsáveis pela síntese de ficocianina e outros pigmentos são regulados pela luz (LU e ZHANG, 2005). Baixas intensidades de luz podem estimular a síntese de ficocianina, enquanto há o resultado contrário para condições de alta intensidade de luz (CHANEVA, 2007). Intensidades altas de luz podem ocasionar em uma redução do número de proteínas cromóforas e, portanto, reduzir a quantidade de ficobilissomas por células (PORTER, 1978).

Em relação à distribuição de luz, uma oferta de luz contínua pode acarretar um maior acúmulo de conteúdo de ficocianina e outros pigmentos, como a aloficocianina (KOVAČ, 2017).

Ademais, as células de cianobactéria podem sofrer um fenômeno chamado aclimatação cromática, no qual as características de absorção de luz podem ser alteradas em resposta à disponibilidade de luz do ambiente de forma a regular o processo de fotossíntese. Uma das consequências desse processo é o aumento dos níveis do pigmento com absorção correspondente ao comprimento de luz com maior intensidade do meio (BENNETT e BOGORAD, 1973; GUALTIERI e BARSANTI, 2006; WANG et al., 2007).

Ao utilizar filtros para manipular a qualidade da luz, selecionando determinados comprimentos de onda de modo a transmitir luz vermelha, obteve-se um conteúdo de ficocianina aproximadamente 30% mais pura, porém com um conteúdo 16% menor quando comparado a um cultivo sem filtros (WALTER et al., 2011).

Além do uso de filtros, o uso da iluminação LED de diferentes cores também pode influenciar nos níveis de ficocianina produzida. Utilizando LED de luz vermelha, foi observado um maior acúmulo de ficocianina em comparação com a luz branca para uma

intensidade de luz de 750  $\mu\text{moles de f\u00f3tons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . Entretanto, para outras condi\u00e7\u00f5es de intensidade de luz, outras cores tamb\u00e9m podem apresentar maiores produtividades de ficocianina (CHEN et al. 2010).

Uma outra abordagem para poder obter maiores produtividades volum\u00e9tricas de ficocianina \u00e9 a utiliza\u00e7\u00e3o da combina\u00e7\u00e3o de cores de luz. Uma combina\u00e7\u00e3o de 70% de luz vermelha e 30% de luz azul (de LED) apresentou n\u00e3o s\u00f3 maior quantidade de ficocianina em compara\u00e7\u00e3o com as condi\u00e7\u00f5es de 100% luz azul e 100% luz vermelha, mas tamb\u00e9m uma maior quantidade de clorofila e carotenoides (LIMA et al., 2018).

### 2.3.3 Condi\u00e7\u00f5es f\u00edsico-qu\u00edmicas

Estresses ambientais, como temperatura, pH e salinidade podem afetar tanto o crescimento de biomassa quanto o ac\u00famulo de pigmentos nas esp\u00e9cies do g\u00eanero *Arthrospira* (PANDEY et al., 2011). Temperatura e pH podem influenciar as atividades metab\u00f3licas das microalgas (OGBONDA et al., 2007).

Em rela\u00e7\u00e3o \u00e0 salinidade, um cultivo com a condi\u00e7\u00e3o de 0,4 M de concentra\u00e7\u00e3o de \u00edons no meio contribuiu para uma produ\u00e7\u00e3o maior no conte\u00fado de ficocianina quando comparado a um meio padr\u00e3o de *Zarrouk* com 0,017 M de salinidade (SHARMA et al., 2014).

Em termos de pH, para um cultivo de *Arthrospira platensis* com condi\u00e7\u00e3o de pH 7,0, obteve-se maior conte\u00fado de ficocianina que para o pH padr\u00e3o utilizado no meio de cultivo de *Zarrouk* (pH 9,0). Entretanto, cabe ressaltar que a condi\u00e7\u00e3o na qual se obt\u00eam a maior concentra\u00e7\u00e3o de biomassa e conte\u00fado de prote\u00ednas absoluto \u00e9 a de pH 9,0 (SHARMA et al., 2014; OGBONDA et al., 2007).

No que diz respeito \u00e0 temperatura, o valor de 35  $^{\circ}\text{C}$ , para *Arthrospira platensis*, \u00e9 o valor \u00f3timo tanto para uma maior produ\u00e7\u00e3o de biomassa quanto para o ac\u00famulo de ficocianina e outros pigmentos quando cultivada em condi\u00e7\u00f5es laboratoriais (KUMAR et al., 2011).

### 2.3.4 Sistemas de produção

Comercialmente, a produção de biomassa produtora de ficocianina é realizada predominantemente em sistemas de produção do tipo tanque aberto em regiões de clima tropical e subtropical (ERIKSEN et al., 2008).

Em tanques abertos, a produtividade volumétrica de ficocianina para culturas de *Arthrospira platensis* atinge valores próximos entre 3 e 24 mg.L<sup>-1</sup>.dia<sup>-1</sup> (JIMÉNEZ et al., 2003; PUSHPARAJ et al.1997; MORENO et al., 2003). Esse tipo de sistema produção é o mais viável em relação ao custo-benefício devido à disponibilidade natural da luz do sol como fonte de energia (BHOWMICK et al., 2014).

Os tanques abertos são operados com uma altura de coluna de líquido entre 10 e 30 cm e a agitação do tanque é efetuada geralmente por meio de pás giratórias. As células que passam maior parte do tempo na superfície do tanque experimentam maiores intensidades de luz de modo que sua eficiência fotossintética pode ser comprometida, além de sofrerem mais danos e serem propensas ao efeito de fotoinibição (GROBBELAAR, 2007).

Uma das maiores complicações em cultivos do tipo tanque aberto para as espécies do gênero *Arthrospira* é a possibilidade de contaminação, podendo levar a mortes massivas das células e, conseqüentemente, afetar a produção de ficocianina (MOOIJ et al., 2015). A Figura 3 mostra exemplos de tanques abertos que podem ser utilizados no cultivo de biomassa do gênero *Arthrospira*.



Figura 3 – Sistema de cultivo aberto de microalgas

Fonte: BARROS (2010)

Por outro lado, sistemas de produção do tipo fotobiorreatores, como mostra a Figura 4, fechados possuem produtividades volumétricas maiores, com cerca de  $1,3 \text{ g.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$ , o que pode representar até 20 vezes a produtividade volumétrica de cultivos em tanques abertos. Porém, a produtividade por área obtida em fotobiorreatores é bem menor (ERIKSEN, 2008).

Uma das vantagens do cultivo em fotobiorreatores fechados é a possibilidade de controlar adequadamente parâmetros como luz e temperatura. Porém, até o momento, não foi possível construir modelos escalonáveis para produção em larga escala de maneira economicamente viável (ERIKSEN, 2008).

Em relação ao modo de cultivo em fotobiorreatores, a batelada alimentada mostra-se uma estratégia para controlar a disponibilidade de nutrientes e evitar possíveis efeitos inibitórios e, assim, garantir maiores produções de biomassa e acumulação de ficocianina (KAEWDAM et al., 2019).



Figura 4 - Fotobiorreator tubular vertical

Fonte: ACIÉN et al. (2017)

Já o cultivo contínuo não é facilmente aplicável, principalmente em sistemas em larga-escala, porque sua operação requer equipamentos especiais para manutenção do cultivo além do custo de construção ser mais elevado (RADMANN et al., 2007).

Uma alternativa pode ser o emprego do cultivo semicontínuo, no qual consiste em 2 fases de produção. Na primeira delas, as microalgas são cultivadas no modo batelada até

atingir o crescimento ideal durante a fase exponencial de crescimento. Já durante a segunda fase, uma fração do meio é substituída por meio de cultivo novo em intervalos de tempo e volume constantes. Esse modo de cultivo permite a prevenção da limitação de nutrientes e impede que o fenômeno de *self-shading* (processo no qual células mais próximas da fonte de luz geram sombra para as mais distantes) ocorra (RADMANN et al., 2007; MOREIRA et al., 2016).

## 2.4 TECNOLOGIAS DE PRODUÇÃO

### 2.4.1 Coleta da Biomassa

O processo de desidratação da biomassa de *Arthrospira* é um passo essencial para a sua utilização de maneira adequada, uma vez que, após o cultivo da biomassa, a mesma pode apresentar até 90% de umidade (peso úmido). A secagem é provavelmente a técnica mais antiga e importante para a preservação de alimentos e prevenção do crescimento e reprodução de microrganismos (SILVA et al., 2020; MUJUMDAR e HUANG, 2007).

A escolha dos equipamentos e técnicas utilizadas é crítica para a qualidade do produto, podendo afetar significativamente as propriedades nutricionais e funcionais da biomassa (SILVA et al., 2020).

O processo de secagem de *Arthrospira platensis* pode representar até 30% do custo total de produção. Os métodos tradicionais utilizados para a secagem de biomassa das espécies do gênero *Arthorspira* são *tray drying*, *spray drying* e *freeze-drying* (liofilização) (DESMORIEUX e DECAEN 2006; TELLO-IRELAND et al. 2011).

A técnica de *tray dryer* é uma das mais utilizadas por conta da sua simplicidade e viabilidade econômica. Ela consiste em utilizar a velocidade do ar para remover o conteúdo de água livre da biomassa. Porém, o longo tempo de secagem em altas temperaturas podem levar à perda de compostos termossensíveis como a ficocianina (ANYANWU et al. 2018; COSTA et al., 2015).

A técnica de *spray drying* utiliza atomização de um alimento úmido para criar gotas que são secadas como partículas individuais enquanto se movem através de um gás aquecido (ar quente). Devido à alta área de superfície por volume, o processo de secagem

é veloz e induz uma exposição a altas temperaturas em um curto intervalo de tempo, podendo causar degradação e perda de qualidade do produto (NEVES et al., 2020).

SARADA et al. determinaram que o processo de *spray drying* à 150 °C pode levar a uma perda de até 45% do conteúdo de ficocianina em relação à biomassa fresca, além de haver uma mudança do pico de absorção máxima de 615 nm para 652 nm entre amostras frescas e secas. Os autores atribuem essa mudança principalmente a sensibilidade térmica dos ficobilissomas (SARADA et al, 1999).

Técnicas que envolvem aplicações de baixas temperaturas, como a liofilização, podem ter impactos mais positivos na produção de materiais termosensíveis e, por este motivo, é recomendada para a obtenção de maiores conteúdos de ficocianina (GÜROY et al., 2017).

A liofilização consiste em um processo no qual o produto é congelado e transferido para uma câmara de vácuo na qual o conteúdo de água do produto é sublimado por meio de calor latente por radiação ou condução (NEVES et al., 2020).

A liofilização apresenta alto custo de instalação e de operação, especialmente para larga escala, além de requerer longos tempos de secagem. Ademais, os baixos níveis de conteúdo de água atingidos por essa técnica somados a porosidade do material podem promover a oxidação de lipídeos e pigmentos. Por este motivo, é altamente recomendado a utilização de embalagens à vácuo para a estocagem da biomassa seca (NEVES et al., 2020).

Outros dois processos de secagem para biomassa de microalgas que vem ganhando força nos últimos anos são as técnicas de *heat pump* e tambor rotatório. A técnica de *heat pump* permite operar a temperaturas mais baixas quando comparada a técnicas que utilizam convecção de ar quente, apresentando uma perda menor do conteúdo de ficocianina quando comparada à técnica de *tray drying* (COSTA et al., 2015).

A técnica de tambor rotatório (Figura 5) é classicamente utilizada para a secagem de materiais granulares e, uma vez que a biomassa úmida de *Arthrospira* é pastosa, algumas modificações para o funcionamento adequado do procedimento são necessárias. Uma das possibilidades é a utilização de partículas inertes dentro do tambor para aumentar a área de contato com o ar quente e a biomassa, além de impedir que haja uma perda de biomassa nas paredes do tambor. A melhor temperatura de operação para uma secagem efetiva e

para evitar a degradação do conteúdo de ficocianina foi de 50 °C. Temperaturas acima deste valor mostraram uma perda significativa do conteúdo dessa ficobiliproteína (SILVA et al., 2020).

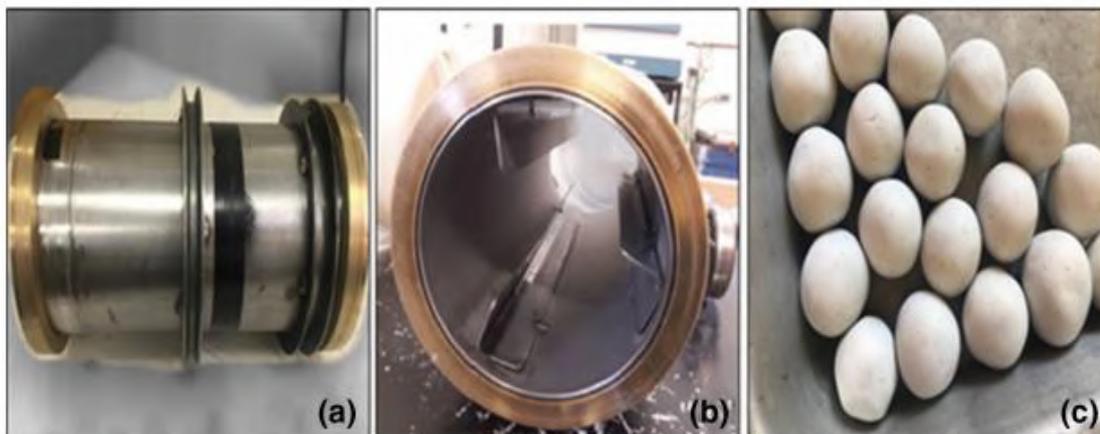


Figura 5 - (a) e (b) representam um tambor rotatório e (c) fotos de partículas inertes

Fonte: SILVA (2020)

A Figura 6 apresenta um diagrama esquemático das principais técnicas de coleta e secagem de biomassa de microalgas que podem ser aplicadas para as espécies do gênero *Arthrospira*.

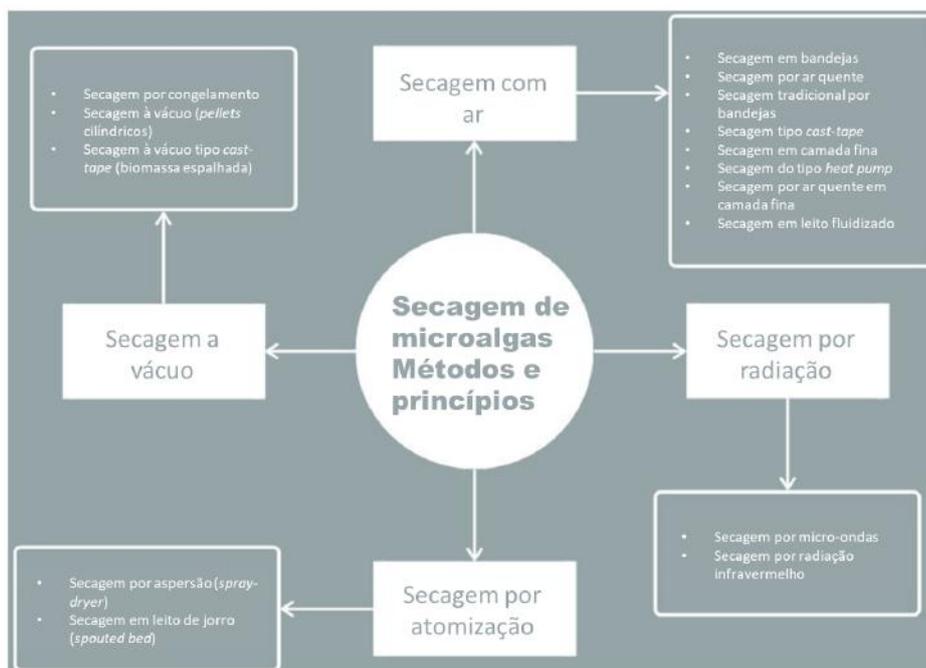


Figura 6 - Diagrama de técnicas de coleta e secagem de biomassa de microalgas

Adaptado de: NEVES (2019)

Em escala industrial, o método de secagem depende principalmente das especificações e qualidade demandadas por cada aplicação. As técnicas de *spray-dryer* e tambor rotatório possuem equipamentos e processos já conhecidos pela indústria produtora de biomassa, sendo a capacidade de evaporação de água do *spray-dryer* maior que a do tambor rotatório. A técnica de tambor rotatório exige um custo de capital e manutenção maior em comparação com a técnica de *spray-dryer*. Entretanto, o tambor rotatório compensa com um menor custo energético (COSTA et al., 2019). A análise econômica para os dois sistemas de secagem realizada por FASAEI et al. (2018) revelou que ambas são economicamente viáveis e operam a um custo menor que U\$ 0,59.kg<sup>-1</sup> de biomassa seca.

#### 2.4.2 Extração de ficocianina

Existem várias técnicas reportadas para extrair ficocianina, principalmente de biomassa de *Arthrospira platensis* em várias formas físicas distintas (biomassa seca, úmida e até mesmo congelada) (SEKAR e CHANDRAMOHAN, 2008).

Muitos processos vêm sendo estudados para a extração de ficocianina, principalmente em espécies do gênero *Arthrospira*. Infelizmente, apesar de muitas técnicas utilizarem equipamentos robustos e maiores tempos de extração, não mostram bons resultados em termos de rendimento, estabilidade e eficácia da extração. Em geral, os procedimentos de extração para as células do gênero *Arthrospira* requerem uma etapa de quebra da parede celular das células e necessitam temperaturas abaixo da temperatura ambiente para apresentarem bons resultados para extração de ficocianina (CHOI et al., 2018).

Existem diversos métodos reportados para realizar a ruptura da parede celular, incluindo a homogeneização, micro-ondas, ultrassom e desintegração por enzimas (DENIZ et al., 2016; DUANGSEE et al., 2009; MARTINEZ et al., 2016). Alguns pesquisadores reportaram que a técnica mais eficaz para a extração são ciclos de congelamento e descongelamento em soluções tampões de fosfato ou acetato, água destilada ou em nitrogênio líquido (RANJITHA e KAUSHIK 2005; SONI et al. 2006).

A homogeneização clássica é geralmente aplicada utilizando equipamentos que possuem poder de cisalhamento, como o *Ultra Turrax*, para extrair componentes alvos da

célula em contato com o solvente. Entretanto, esse método possui baixa especificidade à medida que *debris* celulares e outras impurezas indesejadas também são liberadas (İLTER et al., 2018).

A extração por micro-ondas consiste no aquecimento de amostras em uma solução polar como líquidos iônicos, alguns solventes orgânicos e água ultrapura, que são submetidas a um campo elétrico alternado. As moléculas do solvente se alinham de acordo com o campo elétrico aplicado e rapidamente aumentam a temperatura das amostras como resultado de uma fricção entre as interações intermoleculares e intramoleculares. Esse aumento repentino de temperatura resulta no rompimento da parede celular e, conseqüentemente, causa a liberação de seu conteúdo (SOSA-HERNÁNDEZ et al., 2019).

As extrações assistidas por micro-ondas podem ser completadas em minutos ao invés de horas, com altas reprodutibilidades, redução do consumo de solventes, com aquecimentos mais efetivos e equipamentos menores (CHEMAT et al., 2006).

A técnica de extração assistida por ultrassom utiliza ondas de som de alta frequência para romper a parede celular e liberar seu conteúdo. O processo é guiado por um fenômeno de cavitação, no qual pequenas bolhas são geradas e, à medida que são implodidas pela força de cavitação acústica, há a formação de correntes de jato que perfuram a parede celular como mostra a Figura 7. A extração pode ser feita direta ou indiretamente, de acordo com a localização do transdutor que gera as ondas sonoras (SOSA-HERNÁNDEZ et al., 2019).

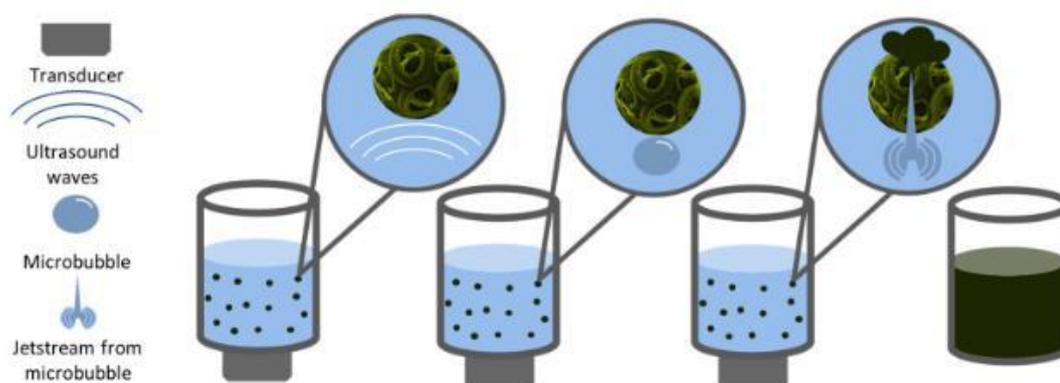


Figura 7 - Representação esquemática do processo de extração por ultrassom

Fonte: SOSA-HERNÁNDEZ (2019)

Uma das vantagens da técnica de ultrassom é o seu baixo custo de operação e facilidade de utilização, não exigindo treinamentos extensos (FAIRBANKS, 1984).

AFTARI et al. (2015) mostraram que a técnica de extração por micro-ondas apresentou resultados de concentração e pureza de ficocianina melhores em comparação com a técnica de ultrassom. A extração por micro-ondas obteve uma concentração de 4,54 mg/mL e um grau de pureza de 1,27 na sua melhor condição: um pH 7,0 e tempo de extração de 25 minutos. Enquanto para extração por ultrassom obteve uma concentração de 2,84 mg/mL e um grau de pureza de 0,65 na condição de pH 6,0 e tempo de extração de 7 minutos.

Outro método para a extração utilizado é o processo de rompimento da parede celular por ciclos de congelamento e descongelamento (*freezing-thawing*). Esse método envolve o processo de absorção de água e formação de cristais durante a fase de congelamento, seguido de um descongelamento que resulta em uma contração e lise celular por conta dos cristais de gelo formados (CHIA et al., 2019).

O método de congelamento e descongelamento apresentou bons resultados para a extração de ficocianina comparado ao método de ultrassom. JULIANTI et al. relataram uma pureza de 1,172, além de um rendimento para ficocianina de 37,309 mg/g por célula seca para o procedimento de congelamento e descongelamento. Já para a técnica de ultrassom, obteve-se uma pureza de 0,736 e rendimento de ficocianina de 13,139 mg/g por célula seca.

Os métodos de extração, principalmente os físicos, podem ser combinados entre si para atingir uma sinergia. Os métodos físicos usualmente garantem alto rendimento, porém com baixa pureza. Por este motivo, os métodos químicos, como o emprego de surfactantes, e enzimáticos, como o uso de lisozimas, são preferíveis por sua maior seletividade (TAVANANDI et al., 2019).

A ficocianina possui um alto valor agregado e sua produção é potencialmente atrativa. Entretanto, poucas pesquisas focam em sua obtenção utilizando métodos que podem ser escalonáveis e que sejam economicamente viáveis. Os estudos geralmente se referem a métodos de extração e purificação apenas para a caracterização da ficocianina em bancada, etapa na qual o escalonamento não é necessário (MORAES et al., 2010).

O método de extração é a etapa chave para a recuperação máxima de ficobiliproteínas em sua forma nativa (WACHDA et al., 2019). Métodos de desintegração mecânica das células são preferencialmente selecionados para operações em larga escala e a completa desintegração da biomassa é desejada para a obtenção de altos rendimentos de produto e atividade (GACESA et al., 1990; KULA et al., 1987).

### 2.4.3 Purificação de ficocianina

A pureza da ficocianina é determinada pela proporção entre o pico de absorção máxima desta ficobiliproteína (em torno de 620 nm) e o valor de absorção relacionado as proteínas totais (280 nm) conforme Equação 1. Proporções maiores que 0,7 são requeridas para a utilização em alimentos. Para a utilização cosmética é necessário purezas maiores que 1,5. Para aplicações analíticas, esse valor deve ser maior que 4,0 (LAUCERI et al., 2018; FIGUEIRA et al., 2018).

$$P = \frac{A_{620nm}}{A_{280nm}}$$

Equação 1 - Cálculo da pureza da ficocianina

O custo comercial da ficocianina está relacionado com o aumento de sua pureza. Purezas para a utilização em alimentos e cosméticos, como pigmento, custam em torno de U\$ 0,35 g<sup>-1</sup>, enquanto para purezas analíticas, o preço pode chegar a custar até mais de U\$ 4500 g<sup>-1</sup> (FIGUEIRA et al., 2018). Uma outra estimativa realizada por BOROWITZKA et al. (2013) indicam que o valor da ficocianina pode variar entre U\$ 500 até U\$ 100.000 por quilograma dependendo do grau de pureza e possui um valor de mercado, junto com as demais ficobiliproteínas, avaliado acima de U\$ 60.000.000.

A purificação da ficocianina é complexa e não estável. Por este motivo, há uma limitação na sua produção e aplicação em larga escala. Nesse sentido, tecnologias de purificação vêm sendo estudadas e melhoradas nos últimos 20 anos (YU et al., 2016).

Uma das técnicas possíveis é a utilização de sais, como sais de amônio, para induzir a precipitação de proteínas e separá-las de acordo com suas diferentes solubilidades em soluções com distintas concentrações de sal (ZHENG et al., 2019). Essa técnica muitas

vezes é utilizada como primeiro passo para a purificação de ficocianina, na qual muitas das vezes se empregam soluções saturadas de sulfato de amônio (WALTER et al., 2011).

Outra técnica clássica para processos de purificação de proteínas utilizadas nas etapas de purificação da ficocianina é a diálise. Esse procedimento é comumente utilizado em escala laboratorial para remover ou reduzir concentrações de sais por meio de uma membrana semipermeável, que retêm a proteína-alvo. O procedimento envolve o fenômeno de difusão passiva e, quando utilizado de maneira contínua, recebe o nome de diafiltração (HARCUM, 2008).

Usualmente, para se alcançar maiores purezas, são necessárias várias etapas de purificação, frequentemente envolvendo processos cromatográficos por colunas empacotadas. Apesar das técnicas cromatográficas terem um escalonamento mais fácil, à medida que a quantidade de etapas de purificação aumenta, o rendimento de produto diminui, dificultando a exploração industrial da ficocianina (YU et al., 2016; LAUCERI et al., 2018).

A cromatografia de troca iônica para a separação de um soluto é baseada na diferença de interações eletroestáticas entre o soluto carregado a ser purificado e o solvente. Devido à carga negativa apresentada pela ficocianina em condições levemente ácidas, ela é amplamente purificada por colunas de troca aniônica. Uma outra técnica de cromatografia é a cromatografia de gelfiltração ou exclusão molecular, que é baseada na diferença de peso molecular das proteínas. Geralmente, essas duas técnicas são combinadas para a obtenção de maiores purezas (YU, et al., 2016).

Uma outra técnica que pode ser utilizada para purificação da ficocianina é a separação por membranas. Esse tipo de purificação é popular devido a sua baixa complexidade e por não utilizar fonte térmica. O seu sucesso depende do fluxo permeado e da seletividade da membrana (BRIÃO et al., 2017). Uma barreira significativa para a utilização dessa técnica é a obstrução (*fouling*) da membrana, uma vez que aumenta a resistência à filtração e reduz o fluxo de permeado, podendo comprometer a viabilidade comercial e a vida útil da membrana (NOURBAKHSI et al., 2014).

Quanto aos tipos de membranas utilizadas para a purificação de ficocianina, JAOUEN et al. (1997) fizeram uso de uma combinação de membranas tubulares inorgânicas e orgânicas; HERRERA et al. (1989) realizaram a técnica de ultrafiltração com

membranas de polisulfona; enquanto BRIÃO et al. (2019) utilizaram membranas de folha plana compostas de fluoreto de polivinilideno para a microfiltração. Já para a ultrafiltração, membranas de poli(éter sulfona). Um possível esquema para a realização da técnica de ultrafiltração proposto por BRIÃO et al. (2017) é apresentado na Figura 8.

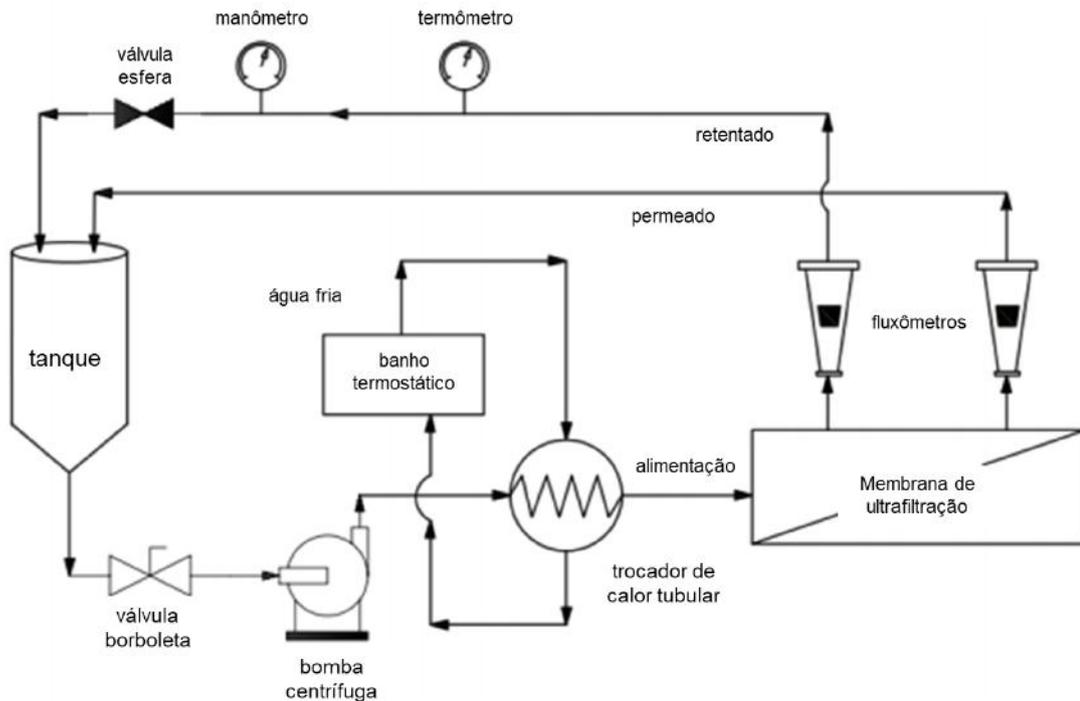


Figura 8 - Diagrama esquemático de um equipamento para ultrafiltração

Adaptado de: BRIÃO (2017)

Para aumentar o entendimento sobre o fenômeno de *fouling* e fornecer conhecimento de como preveni-lo, é preciso realizar modelagens que ajudam a elucidar seus mecanismos e prever o fluxo de permeado ao longo do tempo (BRIÃO et al., 2019).

## 2.5 FORMAS DE APLICAÇÃO

### 2.5.1 Indústria de alimentos

A ficocianina apresenta em sua composição todos os aminoácidos essenciais e, por esse motivo, possui grande aplicação alimentícia, principalmente no ramo de suplementação nutricional. Além desse potencial benefício para a saúde humana, na

indústria de alimentos, ela também é aplicada como corante alimentício por conta da sua coloração azul característica (WU et al., 2016).

A ficocianina possui uma coloração azulada com um tom que não é facilmente reproduzido por outros agentes naturais de coloração. A ficocianina é considerada não-tóxica e não-carcinogênica, sendo utilizada como corante azul em alguns países como Japão, Austrália, Tailândia, China, em alimentos como leite fermentado, sorvetes, picolés, sobremesas, doces, bebidas e chicletes (MYSLIWA-KURDZIEL et al., 2017).

A ficocianina isolada de *Arthrospira* foi pela primeira vez comercializada com o nome de *LinaBlue*® (Figura 9) pela empresa *Dainippon Ink & Chemicals Inc.* (Japão, nome atual: *DIC Corporation*) entre os anos de 1977 e 1980 (MYSLIWA-KURDZIEL et al., 2017).

Devido à demanda de substituição de corantes azuis artificiais em alimentos, a ficocianina – que muitas vezes é chamada de “extrato de *Spirulina*” ou simplesmente “*Spirulina*” – obtida através da biomassa seca de *Arthrospira platensis*, foi aprovada como um pigmento seguro para doces (por exemplo, *M&M’s* azuis) e gomas de mascar pela *Food and Drug Administration (FDA)* em 2014.



Figura 9 - Pó e solução de *LinaBlue*® em água.

Fonte: MYSLIWA-KURDZIEL (2017)

Na União Europeia, o extrato de *Spirulina* também é regulamentado para uso como ingrediente alimentício e flavorizante, sendo reconhecido como seguro quando usado entre 0,3 g a 3 g em alimentos (HABIB et al., 2008).

## 2.5.2 Indústria farmacêutica

A ficocianina é considerada uma droga potencialmente segura. A sua administração oral em doses variando de 25 a 300 mg.kg<sup>-1</sup> em modelos animais de ratos não apresentou toxicidade, efeitos adversos ou mortalidade. É facilmente degradada pelo trato gastrointestinal, sendo capaz de ser transportada pelas membranas celulares e membrana da mitocôndria (ROMAY et al., 2003; BERMEJO-BESCÓS et al., 2008; SUBHASHINI et al., 2004).

Muitas doenças (como doenças inflamatórias, neurodegenerativas, cânceres e diabetes) são induzidas ou acompanhadas por estresses oxidativos. Em muitos dos casos, o sistema de defesa do organismo não é capaz por si só combater a formação dessas espécies reativas e radicais livres, sendo necessário o uso de terapias que envolve a utilização de substâncias antioxidantes (MYSLIWA-KURDZIEL et al., 2017).

Diversos estudos *in vitro* e *in vivo* indicam que a ficocianina é uma proteína com forte capacidade sequestrante de espécies reativas de oxigênio (ERO) e outros radicais livres. Essa forte capacidade antioxidante pode explicar em parte, os efeitos bioativos anticâncer, anti-inflamatório e, até mesmo, hepatoprotetor (MYSLIWA-KURDZIEL et al., 2017).

LIU et al. (2000) constataram que 160 mg.L<sup>-1</sup> de ficocianina induzem a inibição *in vitro* do crescimento de células de leucemia humana (célula K562), em que o número de colônias teve uma redução em um tratamento durante 12 dias de incubação. LI et al. (2009) combinaram a utilização da ficocianina com um método de terapia fotodinâmica (TFD) e conseguiram induzir a apoptose e inibir a proliferação de um modelo de tumor de adenocarcinoma de mama (MCF-7) em ratos.

A ficocianina também apresentou efeitos anti-inflamatórios em modelos de artrite induzidos por *zymosan* e colite induzida por ácido acético, ambos em ratos (GONZÁLEZ et al., 1999). Além disso, outra potencial aplicação farmacêutica demonstrada por RIMBAU et al. (2000) foi a prevenção do fenômeno de apoptose em células granulares do cerebelo e, sendo talvez um potencial tratamento, para doença de *Parkinson* e *Alzheimer*.

### **2.5.3 Indústria cosmética**

A coloração é um dos principais atributos que geram atratividade em um produto cosmético. O uso da ficocianina na indústria cosmética está associado principalmente a sua utilização como pigmento para produtos de maquiagem, como batons. Além disso uma propriedade importante dessa proteína é que a sua coloração permanece constante sob a luz (CHANDRA et al., 2017).

Geralmente, a concentração requerida de pigmentos em produtos cosméticos é aproximadamente de 0,1% e suas estabilidade ao calor, luz e pH, além da compatibilidade com os outros componentes da fórmula, deve ser estudada (ARAD et al., 1992).

Além disso, devido a sua atividade antioxidante, a ficocianina vem ganhando destaque em produtos cosméticos para a prevenção dos efeitos de envelhecimento da pele. Ela é capaz de reduzir a atividade de radicais livres, que causam danos celulares e ao colágeno, prevenindo, assim, a formação de rugas e linhas de expressão (TUNDIS, et al. 2015).

### **CAPÍTULO 3 PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA**

Inovação é a introdução de novidade ou aperfeiçoamento no ambiente produtivo e social que resulte em novos produtos, serviços ou processos, ou que compreenda a agregação de novas funcionalidades ou características a um produto, serviço ou processo já existente, que possa resultar em melhorias e em efetivo ganho de qualidade ou desempenho (BRASIL, 2004). O processo de inovação é dinâmico e requer planejamento estratégico para garantir a eficiência e alocação de tempo e recursos, além de ações acertadas na orientação das pesquisas científicas (TEIXEIRA, 2013).

A economia mundial já viveu vários ciclos marcados pelas revoluções Agrícola e Industrial e, mais recentemente, pela Revolução da Informação. Na Revolução Agrícola, o poder político e econômico baseava-se na posse da terra. Já na Revolução Industrial, o determinante era o capital financeiro. Nela, passamos pelas eras das produções em massa, da eficiência, da qualidade, da competitividade. Agora, em plena Era da Informação, o que pesa é o conhecimento (BORSCHIVER & DA SILVA, 2016).

No mundo industrializado e globalizado, o conhecimento e o desenvolvimento tecnológico avançam em ritmo acelerado. A tecnologia tem como característica intrínseca o dinamismo, logo, a organização tem que estar preparada para as mudanças que o mercado e a sociedade em geral constantemente demandam. Cada vez mais, as mudanças tecnológicas encontram-se sujeitas a forças competitivas de mercado e associadas a sistemas sociais, econômicos, políticos e ambientais complexos e desafiadores. O rápido avanço do conhecimento e o processo de globalização têm implicações sobre a forma de se fazer ciência, tecnologia e inovação atualmente (TEIXEIRA, 2013).

Segundo AMPARO et al. (2012), a visão orientada para o futuro é o caminho rumo à uma melhor sustentabilidade e fortalecimento da capacidade do país para aproveitar as oportunidades futuras em uma economia globalizada. No mundo atual, a possibilidade de ter ao menos uma ideia aproximada do que pode ocorrer, ou de que maneira determinado evento ocorrerá, constitui não apenas um desejo, mas um requisito essencial para conferir uma vantagem competitiva a uma organização ou país (COELHO, 2003).

Assim, a necessidade de estudos sistemáticos capazes de prever mudanças, bem como suas forças propulsoras, torna-se evidente. A ideia de prospectar ou explorar o futuro

é antiga, sendo, no entanto, o uso e aplicação nos âmbitos acadêmicos e empresariais algo bem mais recente. A análise prospectiva é o conjunto de conceitos e técnicas utilizadas para se antever o comportamento das variáveis socioeconômicas, políticas, culturais e tecnológicas, bem como o efeito de suas interações, sendo vistos como a primeira etapa do planejamento em diferentes pontos de espaços temporais. Nesses moldes, os estudos prospectivos tentam criar imagens do futuro, diminuindo a consideração do passado, porém nunca o eliminando (BORSCHIVER & DA SILVA, 2016).

Para COELHO (2003), o termo prospecção tecnológica designa atividades de prospecção centradas nas mudanças tecnológicas, em mudanças na capacidade funcional ou no tempo e significado de uma inovação. Visa incorporar informação ao processo de gestão tecnológica, tentando predizer possíveis estados futuros da tecnologia ou condições que afetam sua contribuição para as metas estabelecidas.

AMPARO et al. (2012) afirmam que estudos de prospecção tecnológica são de fundamental importância, e constituem a ferramenta básica para orientar os esforços empreendidos para o desenvolvimento de tecnologias, atuando como subsídios para ampliar a capacidade de antecipação e estimulando a organização dos sistemas de inovação. Ainda segundo os autores, o objetivo dos estudos de prospecção não é desvendar o futuro e, sim, delinear e testar visões possíveis e desejáveis para que, hoje, sejam feitas escolhas que contribuirão, de forma mais significativa, na construção do futuro.

Os estudos de prospecção tecnológica, também chamados de estudos de futuro, *ou forecast(ing), foresight(ing) ou future studies*, fornecem as principais tendências no contexto mundial, sendo possível segmentar estas tecnologias por setor da economia. Estes estudos auxiliam a identificação de tecnologias promissoras, úteis para uma determinada organização, bem como apontam para possibilidades de negócios e parcerias. A sistematização da prática de monitoramento tecnológico, a ser coberta pela prospecção tecnológica e de inovação, visa congrega a busca de soluções adequadas para a identificação e priorização de uma agenda de Pesquisa e Desenvolvimento (P&D), articulada com instituições de pesquisa, que possam inclusive influenciar a agenda de P&D nacional e criar demandas para a cadeia inovativa do setor (BORSCHIVER & DA SILVA, 2016).

Para TEIXEIRA (2013), os objetivos gerais e específicos de estudos de prospecção tecnológica podem ser resumidos conforme Figura 10.

### Objetivo Geral

- Identificar áreas de pesquisa estratégica e as tecnologias genéricas emergentes que têm a propensão de gerar os maiores benefícios econômicos e sociais.

### Objetivos específicos

- 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.
- Prospeccionar os impactos das pesquisas atuais e da política tecnológica.
- Descobrir novas demandas sociais, novas possibilidades e novas ideias.
- Monitorar seletivamente as áreas econômica, tecnológica, social e ambiental.

Figura 10 - Objetivos dos estudos de prospecção

Fonte: TEIXEIRA (2013).

SKUMANICH E SILBERNAGEL (1997) citados por COELHO (2003), afirmam que “embora tanto *foresighting* quanto *forecasting* envolvam a tentativa de tentar estimar as condições futuras baseadas no presente, o segundo termo inclui, também, a conotação de previsibilidade; à medida que os métodos se aprimoram, *forecasting* deve se tornar cada vez mais preciso na estimativa de estados futuros. Em contraste, um tema recorrente em *foresighting* é que muitos aspectos relacionados ao futuro não são previsíveis e, portanto, a “precisão” torna-se um conceito menos relevante”.

De acordo com CANONGIA (2004), até a década de 1980, as técnicas e métodos de *technology forecasting* procuravam determinar, com a melhor precisão possível, o futuro do desenvolvimento tecnológico e o aparecimento de novas tecnologias. Sendo este conceito alterado gradativamente, uma vez que o mais importante seria dotar as decisões presentes de conhecimento sobre as possibilidades de futuro, ao invés de determinar o futuro precisamente, para só então decidir. Nesta perspectiva, o termo *technology foresight* ou simplesmente *foresight* passou a ser utilizado para denominar a nova abordagem.

COELHO (2003) destaca que a prospecção tecnológica é um processo e não somente um conjunto de técnicas, cujo foco concentra-se em criar e melhorar o entendimento dos possíveis desenvolvimentos futuros e das forças que parecem moldá-

los. Ainda segundo o autor, deve-se assumir que o futuro não pode ser cientificamente demonstrado a partir de certas premissas, sendo o ponto central dos estudos prospectivos tratar quais as chances de desenvolvimento e quais as opções para a ação no presente, destacando um comportamento ativo frente ao futuro, uma vez que ele será criado pelas escolhas que forem feitas hoje.

Na prospecção, normalmente se utiliza uma combinação de estratégias formais e informais, gerando informações qualitativas e quantitativas. O uso simultâneo e combinado de diferentes métodos ou técnicas faz com que uma abordagem complementa a outra, ajuda a diminuir as dificuldades inerentes às atividades prospectivas e as desvantagens associadas a cada um deles isoladamente (COELHO, 2003; TEIXEIRA, 2013).

Segundo COELHO (2003), alguns métodos formais são: entrevistas estruturadas, análises morfológicas, discussões organizadas sobre questões pré-determinadas, *Delphi*, construção e análise de cenários. Como exemplos de métodos informais: comitês de especialistas em discussões desestruturadas (*workshops*). Ainda segundo o autor, os métodos também podem ser classificados em quantitativos, geralmente emergindo de técnicas estatísticas (por exemplo, extrapolação de tendências) ou qualitativos, na maioria das vezes envolvendo a opinião de especialistas (*Delphi* e painel de especialistas).

A literatura cita inúmeros métodos de prospecção tecnológica. A seguir são listados alguns que, segundo BORSCHIVER E DA SILVA (2016), são empregados em trabalhos de prospecção com o foco industrial. Para maiores detalhes, bem como descrição detalhada destes e de outros métodos de prospecção tecnológica, consultar os trabalhos publicados por BORSCHIVER E DA SILVA (2016) e COELHO (2003).

- **Cenários:** representam uma descrição de uma situação futura e do conjunto de eventos que permitirão que se passe da situação original para a situação futura. BORSCHIVER E DA SILVA (2016), classificam os cenários como sendo: a) exploratórios, quando consideram tendências do passado e do presente, que por sua vez levam à criação de futuros factíveis; b) normativos ou de antecipação, que são construídos tendo como base imagens alternativas de futuro, podendo ser dividido em desejados e temidos; e c) tendencial, em que o futuro é determinado por

meio da interpretação das tendências atuais das variáveis que afetam os fatores social, tecnológico, econômico, político e cultural.

- **Método *Delphi*:** o método *Delphi* desenvolvido por Olaf Helmes, na década de 1960, consiste em perguntar, de forma individual e por meio de questionários pré-elaborados, a um conjunto de peritos, sobre a tendência de futuro de um determinado fator crítico, sistema ou parte desse (BORSCHIVER & DA SILVA, 2016). A base do método envolve um questionário que é elaborado por uma equipe de coordenação (monitores ou facilitadores) e enviado a um grupo de especialistas participantes previamente selecionados. As perguntas são feitas em várias rodadas. São ainda analisadas e refeitas para que os especialistas possam reavaliar suas primeiras posições e tentar chegar a um consenso. Assim que esses retornam, a equipe coordenadora contabiliza as respostas, elabora um novo questionário e envia os resultados e as questões revisadas aos mesmos participantes para uma nova interação. A técnica *Delphi* pode ser caracterizada, portanto, por quatro pontos básicos: anonimato, interação, troca de informações e controle estatístico das respostas dadas. Métodos como este, que usam a opinião de especialistas, são considerados métodos qualitativos, e devem ser usados sempre que a informação não puder ser quantificada ou quando os dados históricos não estão disponíveis ou não são aplicáveis (COELHO, 2003).
- **Matriz *SWOT*:** a *Strength, Weakness, Opportunity, Threaten* (análise *SWOT*) consiste no exame dos pontos fortes e fracos de uma organização, suas oportunidades de crescimento e melhoria, e as ameaças do ambiente externo perante sua sobrevivência. Os fatores internos são denominados de forças e fraquezas, sendo força um recurso ou capacidade da organização e fraqueza suas limitações, falhas ou defeitos que dificultam a busca de seus objetivos. Já os fatores externos são classificados como oportunidades ou ameaças (BORSCHIVER & DA SILVA, 2016). Uma vez identificados os fatores internos e externos, estes

são agrupados em uma matriz, buscando-se verificar a existência de relação entre eles e, principalmente, para identificar as áreas críticas e que demandam atenção na atuação de uma organização.

- **Roadmap Tecnológico:** o *Technology Roadmapping* (TRM) fornece um método gráfico para se estabelecer uma relação entre as necessidades futuras do mercado, a tecnologia atual da empresa, a tendência da tecnologia no mundo, programas de pesquisa e desenvolvimento. Desta maneira, a empresa poderá tomar decisões que otimizam os investimentos de capital e P&D e que, ao mesmo tempo, estão alinhados com a estratégia da empresa. Pode-se pensar no TRM como um mapa da evolução de tecnologias e produtos que não foram ainda desenvolvidos (OLIVEIRA, 2013). Em linhas gerais, pode-se entender o *roadmap* como uma representação, de maneira organizada, que estabelece inter-relações das informações oriundas do estudo de um tema específico.

O acesso às informações em uma prospecção tecnológica pode se dar por meio do uso de artigos científicos a partir da busca em bases de dados como o *Scopus*, que foi utilizada na construção do presente trabalho, e por meio do uso de base de patentes como o *United States Patent and Trademark Office's (USPTO)*, dos Estados Unidos, o Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI), do Brasil, e ferramentas como o *LENS* que reúne, categoriza e sistematiza patentes do mundo todo.

Os artigos científicos constituem um veículo de transmissão do conhecimento produzido por pesquisadores e representam uma fonte de informação com resultados qualificados e originais. Já as patentes representam uma outra forma de verificar o desenvolvimento tecnológico e indicam inovação, pois podem servir para medir os resultados P&D, produtividade, estrutura e desenvolvimento de uma indústria específica/tecnologia. As estatísticas por trás das quantidades de patentes concedidas e solicitadas permitem o monitoramento de uma nova temática ou setor, além de serem um bom indicador de inovação e refletirem o vigor tecnológico de um país ou empresa. Um exame nas tecnologias patenteadas pode produzir indicações da direção de mudanças tecnológicas (ALENCAR et al., 2007).

### **3.1 O USO DE PATENTES E ARTIGOS CIENTÍFICOS COMO FERRAMENTAS DE PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA**

A prospecção tecnológica, no seu processo inicial, identifica um tema que necessita de monitoramento. A estratégia é estabelecida pelo profissional da informação em parceria com o pesquisador. As fontes de informação, preferencialmente de natureza técnica e científica, são identificadas, coletadas, analisadas e estruturadas (AMPARO et al., 2012).

Pode-se localizar informação em um conjunto vasto de fontes disponíveis por meio da *Web*: em bases de dados de artigos científicos, em repositórios de documentos digitais (institucionais ou temáticos) ou em sistemas agregadores de bases de dados e repositórios (UNIVERSIDADE DE AVEIRO, 2013).

As bases de dados são coleções de referências bibliográficas de artigos científicos que reúnem revistas de diferentes editores e constituem-se como um ponto de acesso global a grande parte da literatura científica publicada. Devido a sua abrangência, são as ferramentas mais adequadas para a realização de uma revisão bibliográfica em um determinado assunto (UNIVERSIDADE AVEIRO, 2013). Além disso, têm por características o caráter internacional, o controle de qualidade dos conteúdos incluídos, informações sobre estes conteúdos e dados estatísticos sobre recorrência de citações, fator de impacto da publicação e outros aspectos relevantes em estudos prospectivos.

Em suma, após a coleta dos dados, a avaliação crítica da relevância das informações é uma etapa imprescindível de forma a realizar uma interpretação adequada e extrair valor agregado das informações. Dessa forma, a metodologia pautada na prospecção tecnológica, quando realizada para gerar um monitoramento das informações e sua gestão, permite ter uma visão do estado da arte de um setor, constituindo sua trajetória passada, o seu presente e tendências futuras para seu mercado (BORSCHIVER e SILVA, 2016).

## CAPÍTULO 4 METODOLOGIA DE PESQUISA

Ao considerar as diferentes estratégias de prospecção tecnológica descritas na literatura, o Monitoramento e Sistemas de Inteligência foi adotado como a ferramenta mais adequada para a realização do presente trabalho. Nesses termos, a metodologia escolhida teve base no método prospectivo descrito por BHRUTH et al. (2006).



Figura 11 - Fases sequenciais da estratégia de prospecção tecnológica

Fonte: Bahruth, Antunes e Bomtempo (2006)

De acordo com a Figura 11, são quatro fases distintas para o processo de Prospecção Tecnológica, considerando a execução, organização e conclusão dos estudos prospectivos. A descrição detalhada de cada etapa é apresentada a seguir.

### 4.1 FASE 1: ETAPA PREPATÓRIA

A Fase 1, Etapa Preparatória, consistiu na definição da metodologia de prospecção tecnológica e da busca das fontes de informação a serem empregadas para as análises e fases posteriores.

Para que pudesse dar início ao trabalho sobre microalgas do gênero *Arthrospira* na produção de ficocianina para a indústria, foi realizada uma busca geral sobre o assunto

objeto de estudo, para identificar os principais aspectos conceituais, definir a abordagem do estudo e a estratégia de busca de documentos para a próxima etapa. Foi executada uma revisão bibliográfica acerca do tema e após levantamento de um vasto número de dados a âmbito mundial, a estrutura de prospecção tecnológica foi elaborada.

## 4.2 FASE 2: ETAPA PRÉ-PROSPECTIVA

A Fase 2, “Etapa Pré-Prospectiva”, é baseada em uma metodologia definida com base nas informações da fase anterior, utilizando palavras-chave específicas (busca mais direcionada) e buscas de documentos técnicos (artigos científicos e patentes).

A metodologia de pesquisa, empregada na fase de mapeamento de artigos científicos dentro do contexto de microalgas do gênero *Arthrospira* na produção de ficocianina para a indústria, consistiu em busca por palavras-chave na base de dados *Scopus* (<http://www.scopus.com/>).

A base de dados *Scopus* foi selecionada pela sua grande abrangência e facilidade de download de uma grande quantidade de documentos. O *Scopus* é a base referencial da Editora *Elsevier*, sendo a maior fonte referencial de literatura técnica e científica revisada por pares, que permite uma visão ampla de tudo que está sendo publicado cientificamente sobre um tema. Mediante o uso dos mecanismos de busca, podem ser encontradas as informações publicadas por uma determinada instituição, ou um determinado autor.

O levantamento de informações, dentro do escopo do trabalho, oriundas de documentos de patentes consistiu em busca por palavras-chave na plataforma *LENS* – <https://www.lens.org> que reúne patentes de banco de dados como o *USPTO*, *European Patent Office (EP)* e *World Intellectual Property Organization (WIPO)*.

Essa plataforma foi escolhida pois reúne patentes concedidas e solicitadas das três maiores entidades de patentes do mundo citadas anteriormente, nos quais a maior parte das instituições publicadoras utilizam para depositar seus pedidos, permitindo assim, uma ampla diversidade de resultados com abrangência mundial. Além disso, a plataforma *LENS* possui diversas ferramentas que permitem uma análise macro dos dados de maneira intuitiva e assertiva.

A combinação de palavras-chave e sua busca na plataforma ocorreu através da seleção de combinações que possuem maior relevância com o tema e objetivos do presente trabalho. Pretendeu-se mapear os desenvolvimentos científicos na área estudada e identificar inovações tecnológicas capazes de promover possíveis influências na indústria e mercado que utilizam a ficocianina.

No presente trabalho foi apresentada a prospecção tecnológica relacionada a artigos, patentes concedidas e patentes depositadas/solicitadas, por meio das taxonomias (*drivers*) identificadas e que serão alocadas aos conceitos de Mercado, Produto e Tecnologia, ao longo do tempo.

### **4.3 ESTRATÉGIA DE BUSCA PARA ARTIGOS E PATENTES**

#### **4.3.1 Artigos científicos**

Foram realizadas buscas de artigos científicos na base de dados *Scopus* através do uso das seguintes palavras-chaves (limitadas a *title*, *abstract* e *keyword*) combinadas e devidamente associadas. O período de busca escolhido foi nos últimos 5 anos (de 2015 a 2020) de modo que inovações e esforços de pesquisa recentes pudessem ser analisados. A seguir, são descritas as combinações das palavras-chaves utilizadas e a quantidade de documentos obtida. Vale ressaltar que para toda a busca, utilizou-se a seguinte combinação de filtros para direcionar o foco da pesquisa e os resultados estão apresentados na Tabela 1.

- Tipo de documento: *Article & Review*
- Idioma: Inglês, Português
- Intervalo de tempo: 2015 até 2020
- Critério de busca: *abstract, title & keywords*

Tabela 1 - Resultados das buscas de artigos

Palavras-chaves	Resultados das buscas sem filtros	Resultados das buscas com filtros
<i>Arthrospira</i> AND phycocyanin AND pharmaceutical	24	16
<i>Spirulina</i> AND phycocyanin AND pharmaceutical	43	20
<i>Spirulina</i> AND phycocyanin AND cosmetics	34	14
<i>Arthrospira</i> AND phycocyanin AND cosmetics	17	11
<i>Spirulina</i> AND phycocyanin AND food	179	82
<i>Arthrospira</i> AND phycocyanin AND food	75	49

Artigos que não foram considerados relevantes (não havia relação direta com o tema: produção de ficocianina) foram desconsiderados, assim como os repetidos, totalizando 80 artigos analisados (42% do total) como mostra a Figura 12.

O uso dessas palavras-chaves se deu devido à priorização dos temas escolhidos para a construção do projeto e em muitas combinações, os documentos se repetiram.

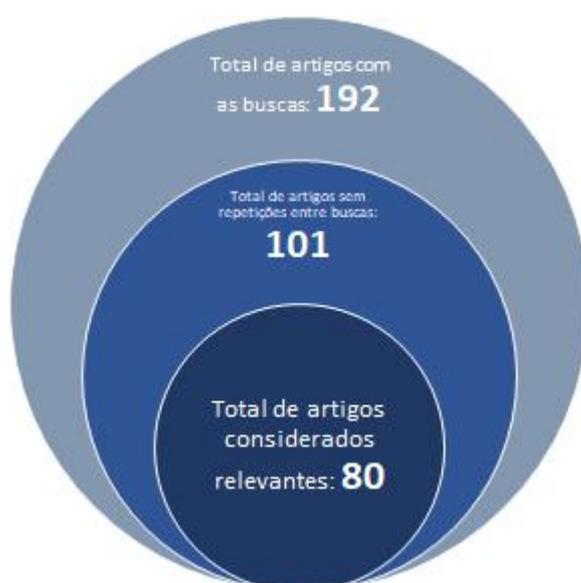


Figura 12 - Filtragem de artigos para análise

### 4.3.2 Patentes

Foram realizadas buscas de patentes concedidas e solicitadas na plataforma LENS através do uso das seguintes palavras-chave (limitadas a *title*, *abstract* ou *claims*) combinadas e devidamente associadas. O período de busca escolhido foi nos últimos 5 anos (de 2015 a 2020). A seguir, são descritas as combinações das palavras-chaves utilizadas e a quantidade de documentos obtidas. Vale ressaltar que para toda a busca, utilizou-se a seguinte combinação de filtros para direcionar o foco da pesquisa:

- Intervalo de tempo: 2015 até 2020
- Critério de busca: *abstract, title or claims*

Os resultados da busca direcionada estão apresentados na Tabela 2. Vale ressaltar que uma mesma patente pode ser depositada/solicitada em diferentes países e entidades e por isso foi feita uma análise de resultados únicos desconsiderando documentos repetidos.

Tabela 2 - Resultados das buscas de patentes

<b>Palavras-chaves</b>	<b>Resultados das buscas com filtros</b>	<b>Resultados das buscas sem duplicações</b>
<i>Phycocyanin AND pharmaceutical</i>	87	50
<i>Phycocyanin AND cosmetics</i>	45	32
Phycocyanin AND food	105	64

Patentes que não foram considerados relevantes (não havia relação direta com o tema: produção de ficocianina) foram desconsideradas, assim como as patentes repetidas entre as três buscas, totalizando 53 patentes analisadas (51% do total) como mostra a Figura 13.



Figura 13 - Filtragem de patentes para análise

#### 4.4 FASE 3 E 4: ETAPA PROSPECTIVA E PÓS-PROSPECTIVA

Por meio da análise de artigos e patentes é possível definir o estado da arte disponível no seu conteúdo permitindo a identificação de tecnologias relevantes, parceiros, concorrentes no mercado, rotas tecnológicas, inovações, investimentos, processos, produtos, PD&I, fusões e aquisições, dentre outras.

A fase 3 da prospecção tem como objetivo analisar, discutir e explicitar graficamente os resultados do estudo prospectivo, tendo como base uma coleta e tratamento de dados das fases anteriores.

A fase 4, etapa pós-prospectiva, é a comunicação dos resultados analíticos obtidos pelo mapeamento realizado durante a fase 3, em que a finalidade é implementar ações e monitoramento baseado na evolução temporal e em tendências históricas apresentadas pelo produto de interesse. Todas essas etapas serão detalhadas em cada capítulo específico e ao longo do desenvolvimento do trabalho.

## 4.5 TAXONOMIAS SEGUNDO AS CLASSIFICAÇÕES NÍVEL MACRO, MESO E MICRO

Após a análise do conteúdo dos artigos e patentes selecionados descritos nas metodologias de prospecção tecnológica, as informações extraídas foram analisadas em três níveis diferentes especificados a seguir: Macro, Meso e Micro.

**Classe Nível Macro:** os documentos são analisados de acordo com informações objetivas, como a distribuição histórica de publicações, a distribuição por países, por universidades, centros de pesquisa e empresas ligadas ao conhecimento científico e desenvolvimento da tecnologia.

**Classe Nível Meso:** os documentos são categorizados de acordo com os aspectos mais relevantes em torno do tema. Após a análise dos documentos, foram identificadas as principais tendências e com base nelas foram criadas taxonomias/classificações para a melhor organização das informações.

Foram definidas as seguintes classificações nível Meso para patentes e artigos. A taxonomia de “Modelagem e simulação” é presente apenas na análise de artigos, essa tendência não foi identificada na análise de patentes. Além disso, para patentes a classificação nível Meso de “Coleta da Biomassa” foi substituída por uma classificação classe Nível Meso mais específica de “Métodos de secagem”.

- **“Condições de cultivo”:** documentos em que são citadas e possuem relevância para o objetivo do artigo as condições de cultivo usadas para produção de ficocianina. Entre elas estão: meio de cultura, aeração, temperatura, intensidade de luz, agitação e volume.
- **“Coleta da Biomassa”:** documentos em que são citados e possuem relevância para o objetivo do artigo métodos de coleta da biomassa, como técnicas de secagem, usadas para produção de ficocianina.
- **“Método de Extração”:** documentos em que são citadas e possuem relevância para o objetivo do artigo técnicas para separação da ficocianina

da biomassa como extração por ultrassom e congelamento/descongelamento.

- **“Métodos de purificação”**: documentos em que são citadas e possuem relevância para o objetivo do artigo técnicas para obtenção de ficocianina com grau de pureza maior como cromatografias e filtração por membranas.
- **“Formas de aplicação”**: documentos em que são citados e possuem relevância para o objetivo do artigo os tipos de emprego da ficocianina em três indústrias de escolha: alimentícia, farmacêutica e cosmética.
- **“Modelagem e Simulação”**: documentos em que são citadas e possuem relevância para o objetivo do artigo a utilização de programas de predição e construção de modelos para a avaliação de parâmetros físico-químicos e/ou econômicos.
- **“Estabilidade”**: documentos em que são citadas e possuem relevância para o objetivo do artigo técnicas para o melhoramento ou a avaliação da estabilidade termodinâmica da ficocianina.
- **“Co-produção e caracterização da biomassa”**: documentos em que são citadas e possuem relevância para o objetivo do artigo a produção simultânea de outros compostos de valor agregado ou a caracterização da biomassa produtora de ficocianina.

**Classe Nível Micro**: nesta fase do trabalho são identificadas e analisadas as particularidades de cada taxonomia da análise Meso, visando melhor compreensão e análise do tema.

As taxonomias da classe Nível Micro são explicitadas a seguir de acordo com a taxonomia de classe Meso originária. Vale ressaltar que um mesmo documento, seja artigo ou patente, pode apresentar mais de uma classificação tanto em classe Nível Meso quanto em classe Nível Micro.

Tabela 3 - Taxonomias classe Nível Meso e Micro da prospecção tecnológica para artigos

<b>NÍVEIS TAXONOMICOS</b>			
<b>Meso</b>	<b>Micro</b>	<b>Meso</b>	<b>Micro</b>
<b>Condições de Cultivo</b>	Luz	<b>Métodos de purificação</b>	Cromatografia
	Nutrientes		Filtração por membranas
	Uso de efluentes		Purificação por precipitação
	Tipo de reator		Diálise
	Modo de cultivo	<b>Formas de aplicação</b>	Alimentícia
	Parâmetros físico-químicos		Farmacêutica
<b>Coleta da Biomassa</b>	<i>Spray-dryer</i>	<b>Modelagem e Simulação</b>	Cosmético
	Filtração		Têxtil
	<i>Heat-pump</i>		Modelagem cinética
	Tambor rotatório		Modelagem e simulação econômica
	Outros tipos de coleta	Modelagem de equipamentos	
<b>Métodos de extração</b>	Extração química/bioquímica	<b>Estabilidade</b>	Otimização de parâmetros
	Congelamento-descongelamento		Encapsulamento
	Homogeneização		Presença de estabilizantes
	Ultrassom		Estabilidade em diferentes temperaturas e pH
	Micro-ondas	<b>Co-produção e caracterização da biomassa</b>	Modificação estrutural
			Clorofila
			Ficoeritrina
	Aloficocianina		
	Carotenóides		
	Vitaminas		
Lipídeos			
Terpenos			
Extração física	Fenólicos/flavonóides		
	Polissacarídeos/biopolímeros		
			Cepa mutante

Tabela 4 - Taxonomias das classes de Níveis Meso e Micro da prospecção tecnológica para análise de patentes.

<b>NÍVEIS TAXONOMICOS</b>			
<b>Meso</b>	<b>Micro</b>	<b>Meso</b>	<b>Micro</b>
<b>Condições de Cultivo</b>	Luz	<b>Métodos de purificação</b>	Cromatografia
	Nutrientes		Filtração por membranas
	Tipo de reator		Purificação por precipitação
	Modo de cultivo		Diálise
<b>Métodos de secagem</b>	<i>Spray-dryer</i>	<b>Formas de aplicação</b>	Alimentícia
	Liofilização		Farmacêutica
			Cosmética
<b>Métodos de extração</b>	Extração química/bioquímica	<b>Co-produção e caracterização da biomassa</b>	Outros microrganismos
	Congelamento-descongelamento		<i>Spirulina maxima</i>
	Homogeneização		Outros pigmentos
	Ultrassom		Ficoeritrina
	Rompimento celular	<b>Estabilidade</b>	Encapsulamento
	Micro-ondas		Presença de estabilizantes
	Maceração		Modificação estrutural
		Estabilidade em diferentes temperaturas e pH	

## CAPÍTULO 5 RESULTADOS

### 5.1 Resultados das análises dos artigos científicos

#### 5.1.1 Análise da Classe Nível Macro

A Figura 14 mostra o percentual de artigos classificados como relevantes e irrelevantes, desconsiderando os artigos repetidos, em relação ao total de documentos encontrados, após a pré-seleção baseada nos critérios do método de pesquisa. Os artigos descartados são aqueles que não possuíam foco na área de interesse.

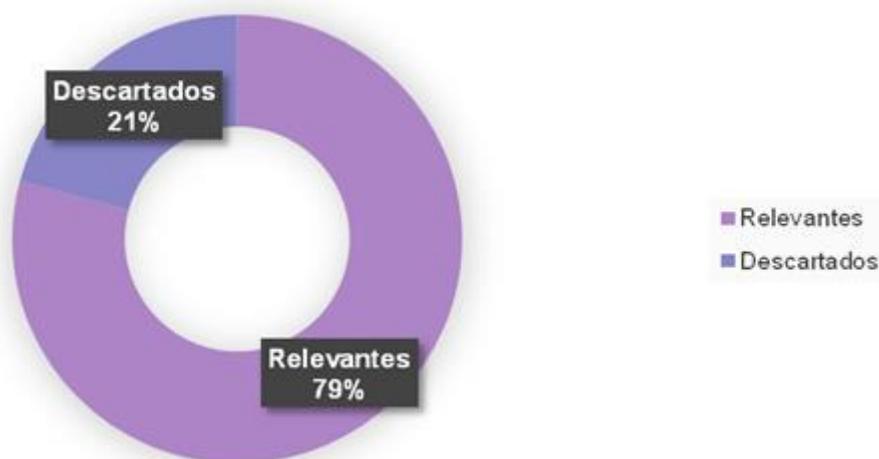


Figura 14 - Gráfico de artigos relevantes e descartados gerado na base *Scopus* (2015 – julho/2020).

É possível observar que 79% dos artigos selecionados foram relevantes para o mapeamento e que 21% foram descartados por não apresentarem relevância ao tema do trabalho.

Como artigos descartados, tem-se principalmente aqueles que apenas citavam a ficocianina sem interesse em suas propriedades ou aplicações e tinham como foco principal a produção de biomassa de *Arthrospira*, como por exemplo “*Evaluation of Physicochemical, Microbiological and Sensory Properties of Croissants Fortified with Arthrospira platensis (Spirulina)*” (MASSOUD et al. 2016).

Além disso, foram descartados artigos que somente citam a ficocianina (sem produzi-la ou estudá-la) comparativamente a outros pigmentos e corantes utilizados na indústria de alimentos como por exemplo, “*Jagua blue derived from Genipa americana L. fruit: A natural alternative to commonly used blue food colorants?*” (BRAUCH et al. 2016).

A Figura 15, mostra como ficaram distribuídos os artigos relevantes publicados de acordo com os anos. É possível notar que o ano com maior publicação foi o de 2019, com 22 artigos, seguido do ano de 2018 e 2016, com 19 e 13 publicações, respectivamente. A menor quantidade de publicações é encontrada no ano de 2015, com apenas 6 artigos. Como a pesquisa e coleta de dados para este trabalho aconteceu no mês de julho de 2020, o valor de 7 publicações não corresponde a um valor completo que contemple a realidade anual.

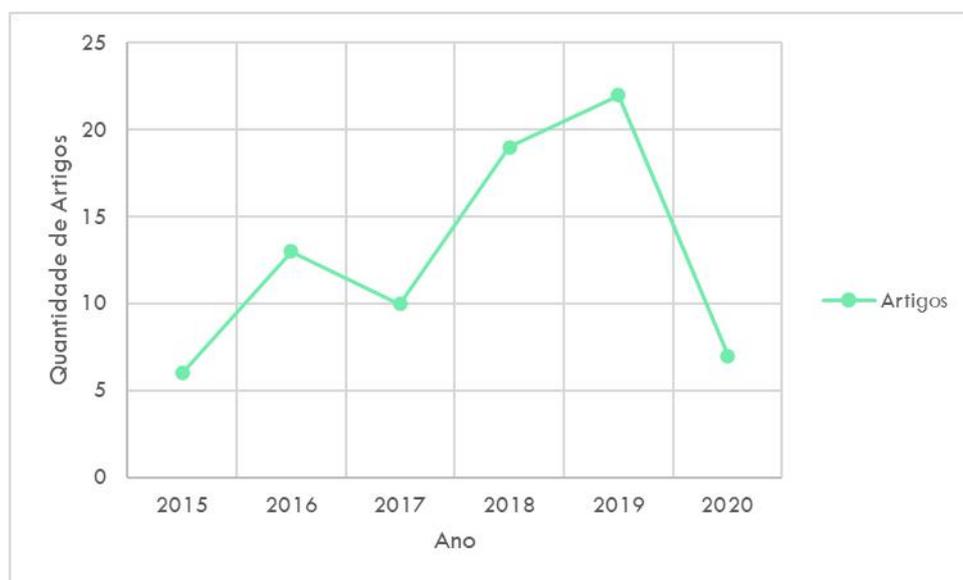


Figura 15 - Série histórica dos artigos relevantes gerada na base *Scopus* (2015 – julho/2020).

A Figura 16 mostra a distribuição de artigos relevantes publicados pelo mundo. Nesta figura, os países destacados são os que apresentam 7 publicações ou mais. É possível notar que o Brasil é apontado na primeira colocação com 14% das publicações, o que representa 15 publicações relevantes, seguido pela China com 11% (12 publicações relevantes) e por último Estados Unidos e Índia com 7%, sendo 7 artigos cada. Na Tabela 5 é possível observar a contagem de artigos relevantes encontrados para todos os países.

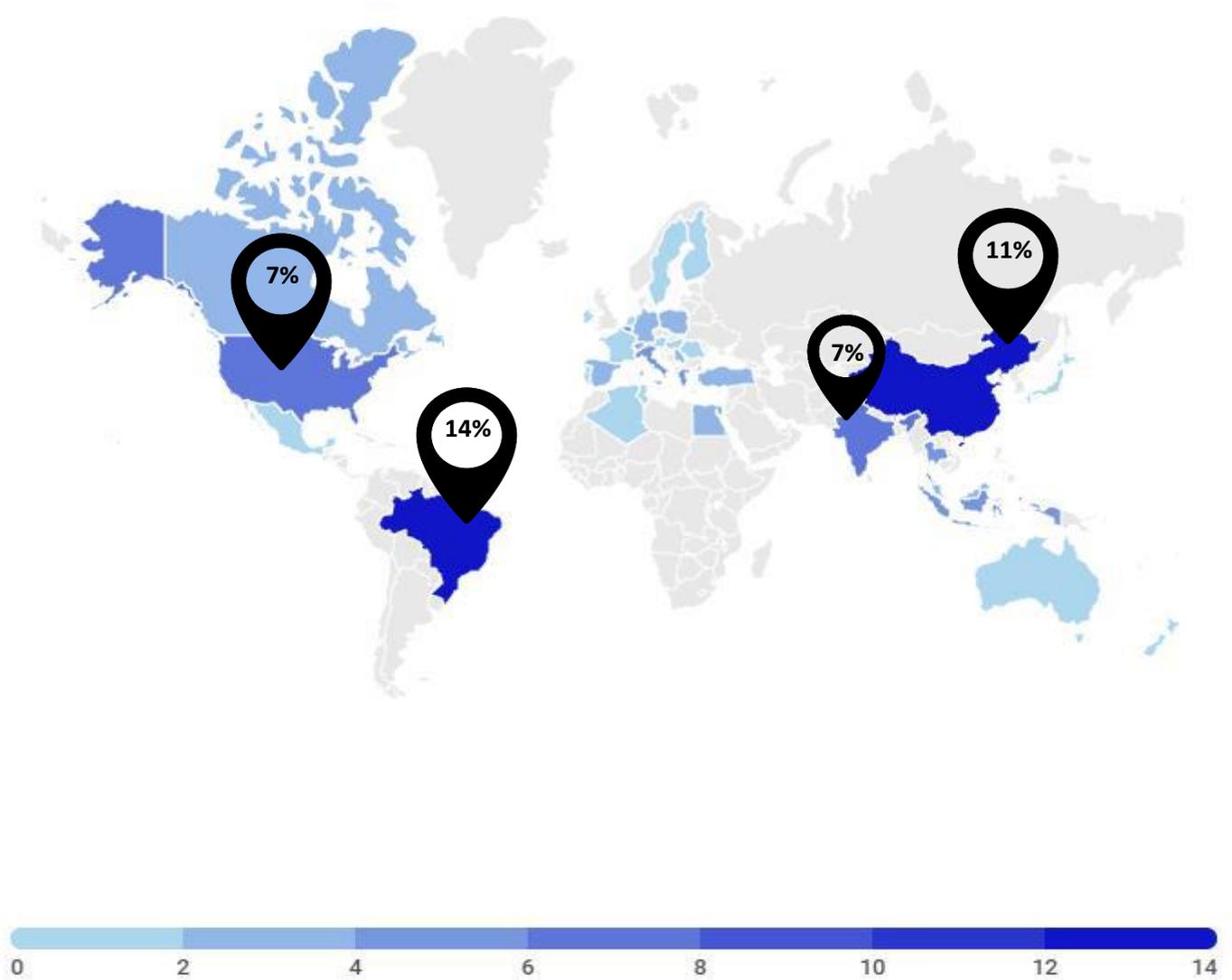


Figura 16 - Distribuição de países para os artigos relevantes obtidos na base *Scopus* (2015 – julho/2020).

Tabela 5 - Contagem de artigos relevantes para todos os países

<b>País</b>	<b>Contagem</b>
Brasil	15
China	12
Estados Unidos	7
Índia	7
Indonésia	5
Bélgica	4
Grécia	4
Itália	4
Alemanha	3
Argélia	2
Canadá	2
Egito	2
Espanha	2
Irã	2
Malásia	2
Argélia	1
Austrália	1
Áustria	1
Coréia do Sul	1
Finlândia	1
França	1
Hungria	1
Irlanda	1
Japão	1
México	1

A Figura 17 mostra a distribuição entre continentes de artigos com foco em aplicações de ficocianina para as indústrias de interesse deste trabalho. É possível observar que a Ásia é o continente com maior número de publicações relevantes para a indústria farmacêutica, com 11 artigos. Para a indústria de alimentos, a Europa é o continente que se destaca com 8 artigos no total. Para as indústrias cosmética e têxtil, o número publicações é baixo e não é possível afirmar qual continente se sobressai em termos de publicações.

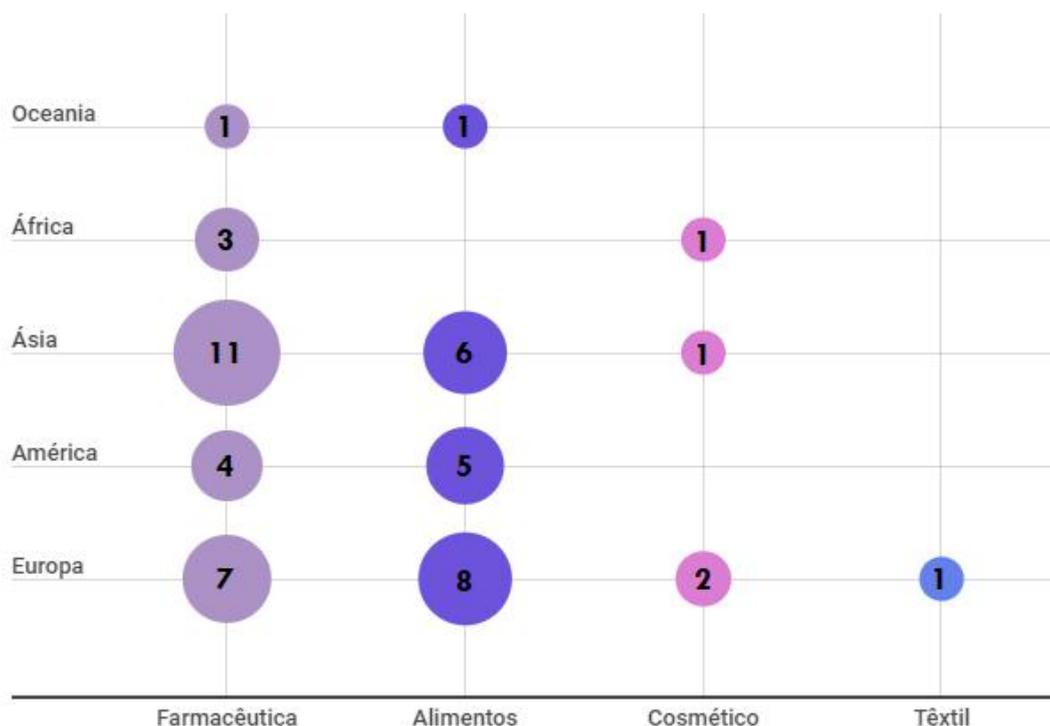


Figura 17 - Matriz de aplicações por continentes considerando os artigos relevantes obtidos na base Scopus (2015 – julho/2020).

Nos 80 artigos relevantes analisados, a maioria foi oriunda exclusivamente de Universidades/Centro de pesquisas, com 71 artigos. Três artigos foram desenvolvidos apenas por empresas, como exemplo pode-se citar o estudo desenvolvido pela *Earthrise Nutrionals LLC* com o título “*Diurnal variation of various culture and biochemical parameters of Arthrospira platensis in large-scale outdoor raceway ponds*” (HIDASI E BELAY 2017) no qual possui foco na avaliação ao longo do dia da composição de biomassa, principalmente do conteúdo de ficocianina, de *Arthrospira platensis* cultivada em tanques abertos. Além disso, 6 artigos foram desenvolvidos por meio de parcerias entre universidades e empresas.

A Tabela 6 destaca as empresas que publicaram artigos ou participaram através de parcerias e seus respectivos países de origem. Além disso, a Figura 18 destaca as principais Universidades (2 publicações ou mais) com artigos relevantes.

Tabela 6- Empresas com artigos publicados ou participação em artigos e seus respectivos países

Nome da empresa	País
 NIS Labs	Estados Unidos
 GNT	Alemanha
 Osun Solutions	Itália
 Vos Group	Itália
 Cerule LLC	Estados Unidos
 Elea	Alemanha
 Algae Holland	Holanda
 Berger S2B	Alemanha
 Earthrise Nutritionals LLC	Estados Unidos
 Hellenic Agricultural Organization-Demeter (ELGO-Demeter)	Grécia
 Center of Excellence on Agricultural Biotechnology: (AG-BIO/PERDO-CHE)	Tailândia

Cabe destacar que tais empresas possuem em sua maioria atuação no mercado de alimentos, como por exemplo o grupo GNT que fornece soluções de corantes naturais há mais de 40 anos. Em sua produção científica de 2018 “*Biphasic short time heat degradation of the blue microalgae protein phycocyanin from Arthrospira platensis*” (BÖCKER et al., 2019), a estabilidade de cor da ficocianina como corante é estudada, uma vez que esse problema técnico é um fator limitante de sua aplicação como corante.

A GNT possui em seu portfólio de soluções a opção de corantes baseados em ficocianina para aplicação em alimentos. O EXBERRY®, marca registrada do grupo,

fornece opções e cores que variam do verde ao azul baseadas em biomassa de *Arthrospira* e ficocianina.

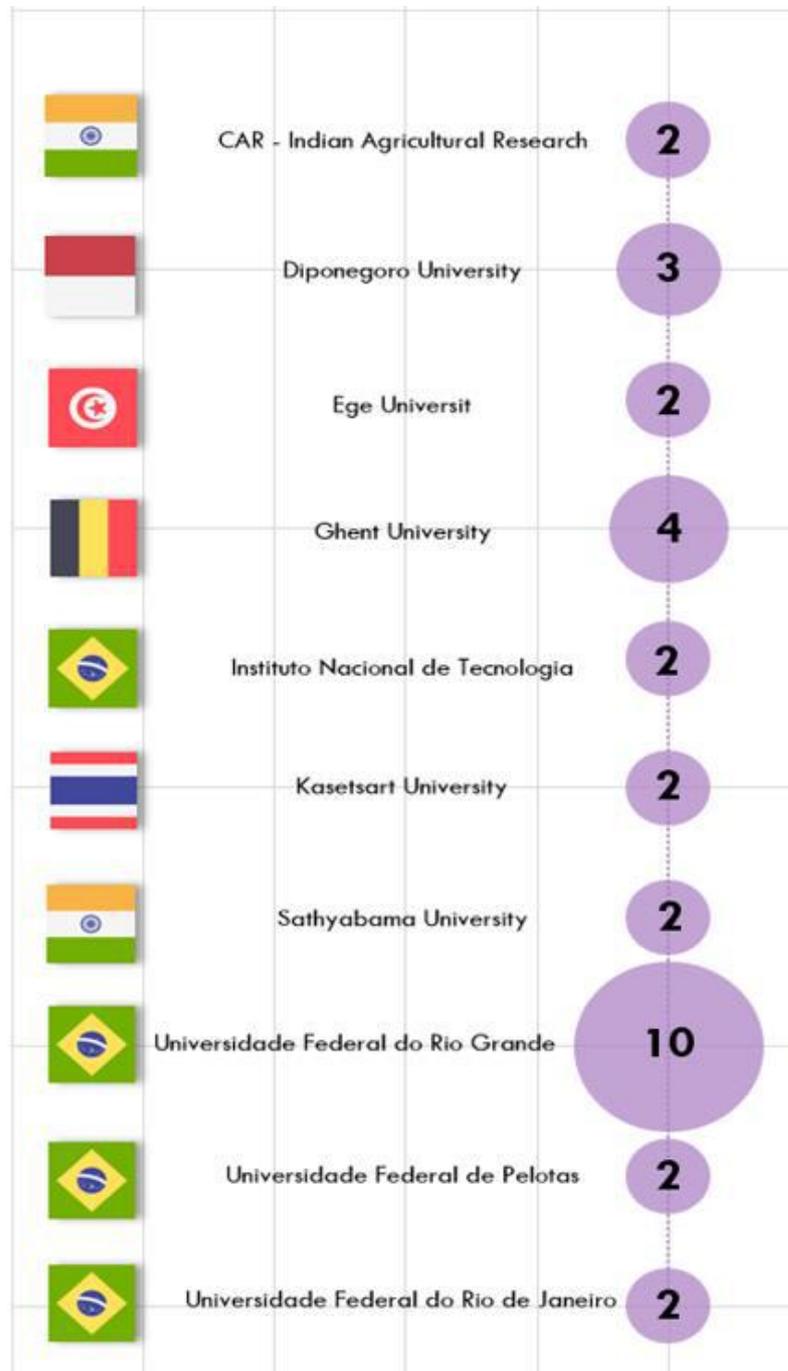


Figura 18 - Universidades com maior número de publicações relevantes obtidos na base *Scopus* (2015 – julho/2020).

É possível notar que há uma concentração de artigos publicados no Brasil. As 14 publicações que o Brasil possui sobre o tema no intervalo analisado estão distribuídas em apenas quatro Universidades/Centro de pesquisa, sendo a Universidade Federal do Rio Grande uma referência com 10 publicações. A Universidade localizada na Bélgica, *Ghent University* e a Universidade localizada na Indonésia, *Diponegoro University*, ficaram em segundo e terceiro lugar respectivamente, com 4 e 3 publicações cada.

Apesar do destaque das universidades brasileiras no número de publicações relacionadas ao tema, é possível notar que pela Tabela 6 o Brasil não possui empresas com produções científicas ou parcerias com setor privado para o desenvolvimento tecnológico da área. Portanto, pela relevância brasileira no campo acadêmico há uma oportunidade para no futuro buscar por mais estratégias de inovação que envolvam colaborações entre o meio acadêmico e industrial.

### 5.1.2 Análise Classe Nível Meso

Por meio da Figura 19, pode-se notar que referências sobre a “Formas de Aplicação” da ficocianina produzida por microalgas do gênero *Arthrospira* nas indústrias de escolha é o tópico mais presente nos artigos. Dos 80 documentos analisados, em 32 deles há informações sobre “Formas de Aplicação” como por exemplo o trabalho de LI et al. (2016) “*C-phycoyanin protects against low fertility by inhibiting reactive oxygen species in aging mice*” com aplicação farmacêutica.

Em seguida, a classificação nível Meso “Métodos de Extração”, possui 21 citações. Dentre essas, se destaca o trabalho de JULIANTI et al. (2019) “*Optimization of Extraction Method and Characterization of Phycocyanin Pigment from Spirulina platensis*”.

A taxonomia “Coleta da Biomassa” é mencionada em 8 artigos e é o tópico menos comum. Nessa classificação se destaca o trabalho de SILVA et al. (2020) “*Analysis of the use of a non-conventional rotary drum for dehydration of microalga Spirulina platensis*”.

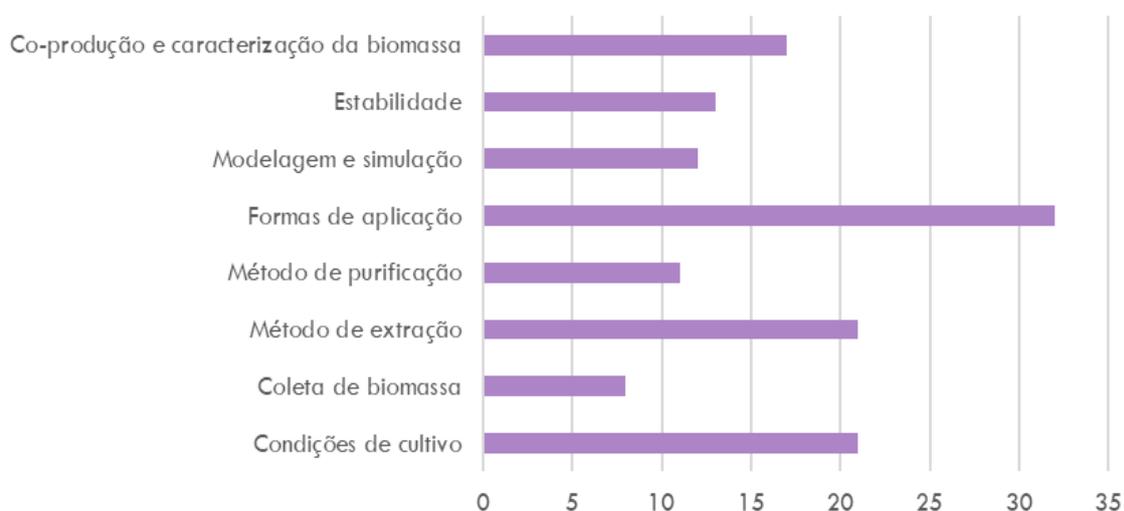


Figura 19 - Distribuição dos artigos relevantes publicados de acordo com as taxonomias Classe Nível Meso definidas.

### 5.1.3 Análise Classe Nível Micro

#### 5.1.3.1 Condições de Cultivo

Para Meso de “Condições de Cultivo” é possível notar que “Luz” e “Nutrientes” foram as condições com maior interesse de estudo para produção de ficocianina por biomassa de *Arthrospira*, sendo citadas em 24% dos artigos classificados nessa classe nível Meso, como mostra a Figura 20. Um artigo que se enquadra nessas duas classificações nível Micro é o trabalho de KOVAČ et al. (2017) “*The Production of Biomass and Phycobiliprotein Pigments in Filamentous Cyanobacteria: the Impact of Light and Carbon Sources*”.

Outra condição bastante estudada são os “Parâmetros físico-químicos” por exemplo temperatura e pH com 17% dos artigos classificados nessa Meso. Nessa classificação o trabalho de WU et al. (2016) “*Stability and Antioxidant Activity of Food-Grade Phycocyanin Isolated from Spirulina platensis*” se destaca por estudar condições ideais de temperatura, pH, luz e outros parâmetros para melhorar a estabilidade da ficocianina.

Uma tendência interessante identificada é o “Uso de efluentes” como fonte de nutriente que apesar de menos citado (9% dos artigos), pode representar uma alternativa sustentável e econômica para produção de biomassa e conseqüentemente ficocianina. Como por exemplo, os trabalhos de NUR et al. (2019) “*Enhancement of C-phycocyanin*

*productivity by Arthrospira platensis when growing on palm oil mill effluent in a two-stage semi-continuous cultivation mode*” e de HULTBERG et al. (2016) “*Use of the effluent from biogas production for cultivation of Spirulina*”.

Além disso, as classificações Micro “Tipo de reator” e “Modo de Cultivo” apresentam 13% de citações em artigos relevantes ao tema estudado. Essas Micros estão relacionadas com o tipo de configuração do reator utilizado para produção de ficocianina, por exemplo uso de tanques abertos ou fotobiorreatores e o modo de cultivo como por exemplo, batelada ou contínuo. Um artigo que exemplifica a classificação “Tipo de reator” é o trabalho de JESUS et al. (2018) “*Outdoor pilot-scale cultivation of Spirulina sp. LEB-18 in different geographic locations for evaluating its growth and chemical composition*”. Para a classificação “Modo de Cultivo” se destaca o trabalho de KAEWDAM et al. (2019) “*Kinetic models for phycocyanin production by fed-batch cultivation of the Spirulina platensis*” que investiga a produção de ficocianina sob as operações de batelada e batelada alimentada.

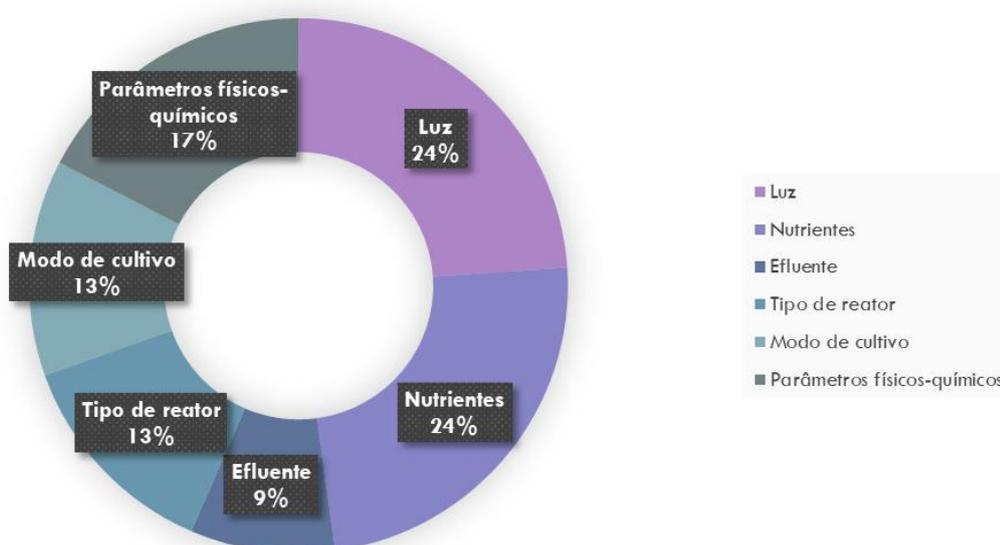


Figura 20 - Quantidade de documentos presentes nas taxonomias de Nível Micro provenientes de "Condições de Cultivo" obtida na base Scopus (2015 – julho/2020).

### 5.1.3.2 Coleta da Biomassa

Para Meso de “Coleta da Biomassa” foi possível notar que “Filtração” é o método preferível de coleta da biomassa de *Arthrospira* para produção de ficocianina, sendo citada em 31% dos artigos como mostra Figura 21. Essa tendência pode estar relacionada com a facilidade envolvida nessa técnica. O trabalho de COSTA et al. (2019) “*Operational and economic aspects of Spirulina-based biorefinery*” exemplifica diversos aspectos que contribuem para tomada de decisão para exploração econômica dos produtos da *Arthrospira*, sendo um deles, a coleta da biomassa por meio da filtração.

A classificação nível Micro “Outros” com 23% dos artigos analisados reúne técnicas de secagem e obtenção de biomassa que tiveram poucas citações como “*Tray dryer*”, “Secagem natural” e “Secagem em estufa” por exemplo. O trabalho de LARROSA et al. (2017) “*Physicochemical, biochemical, and thermal properties of Arthrospira (Spirulina) biomass dried in spouted bed at different conditions*” que avalia diversos métodos de secagem dentre eles o *tray dryer* e *spray dryer*.

Outras quatro técnicas dividem praticamente de maneira igualitária as citações para essa classificação Meso, são elas “*Spray dryer*”, “*Heat pump*” e “Tambor Rotatório” com aproximadamente 15% dos artigos. Essas técnicas, apesar de apresentarem maior complexidade, podem ser uma alternativa interessante para secagem da biomassa. O trabalho de COSTA et al. (2015) “*Optimization of Spirulina sp. drying in heat pump: effects on the physicochemical properties and color parameters*” se enquadra na classificação Micro “*Heat pump*”.

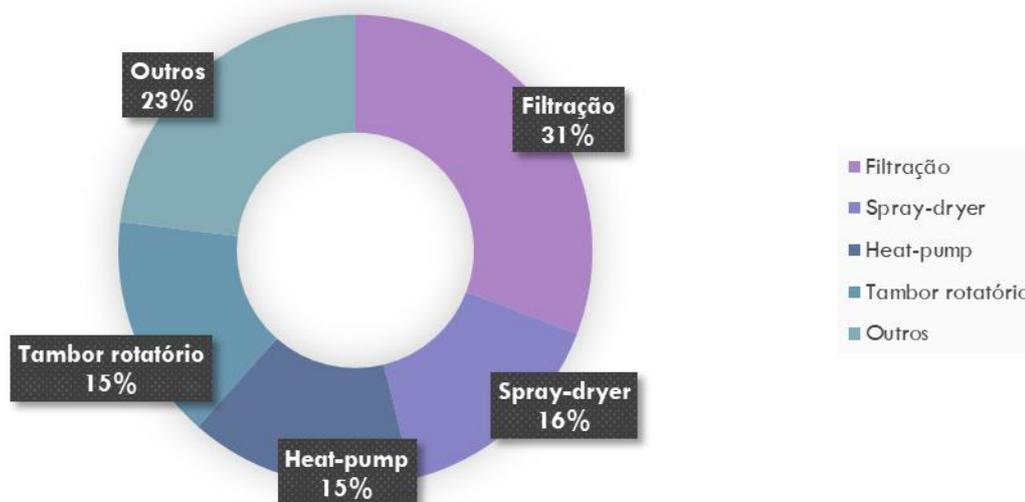


Figura 21 - Quantidade de documentos presentes nas taxonomias de Nível Micro provenientes de "Coleta da Biomassa" obtida na base Scopus (2015 – julho/2020).

### 5.1.3.3 Métodos de Extração

Para classificação Classe Nível Meso de “Métodos de Extração” é possível notar que “Ultrassom” foi o método preferível de extração de ficocianina dentre os artigos, sendo citada em 31% dos artigos como mostra a Figura 22. Como exemplo, pode-se citar o trabalho de 2016 de HADIYANTO et al. *“Response surface optimization of ultrasound assisted extraction (UAE) of phycocyanin from microalgae Spirulina platensis”* que propõe uma otimização do método de extração assistida por ultrassom para a obtenção de ficocianina proveniente de biomassa de *Arthrospira*.

Em seguida, encontram-se as técnicas de “Congelamento e Descongelamento” e “Extração Física” sendo citadas em 17% dos artigos. A extração física representa um conjunto de técnicas que foram agrupadas por explorarem propriedades físicas para extração da ficocianina, são elas: moinho de bola, campo elétrico, aquecimento ôhmico e extração bifásica, como por exemplo o trabalho desenvolvido por CHETHANA de 2014 *“Single step aqueous two-phase extraction for downstream processing of C-phycocyanin from Spirulina platensis”* que utiliza polietilenoglicol (PEG) e solução de fosfato de potássio como solventes para obtenção de ficocianina por meio da aplicação da técnica de extração bifásica

A “Extração química/bioquímica” consiste em técnicas que utilizam solventes, surfactantes, sais ou enzimas para realização da separação da ficocianina dos demais componentes celulares. Essa Classe Nível Micro é citada em 14% dos artigos.

Por fim, as técnicas de “Micro-ondas” e “Homogeneização”, que respectivamente utilizam radiação eletromagnética e força mecânica para extrair a ficocianina apresentam a menor quantidade de artigos com 12% e 9%.

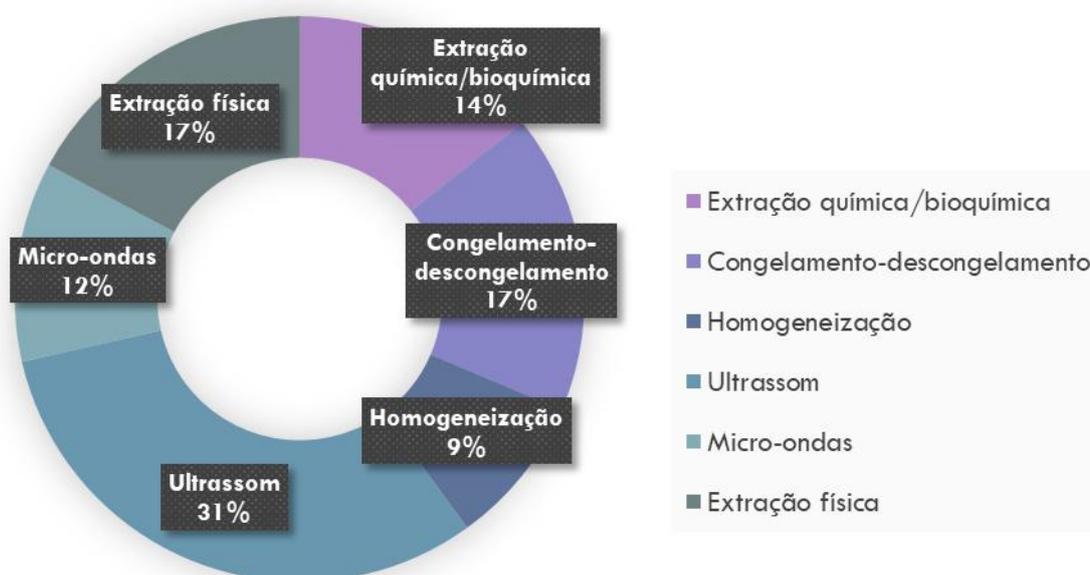


Figura 22 - Quantidade de documentos presentes nas taxonomias de Nível Micro provenientes de "Métodos de Extração" obtida na base *Scopus* (2015 – julho/2020).

#### 5.1.3.4 Métodos de Purificação

Para Meso de “Métodos de Purificação” é possível notar que houve predominância de apenas quatro técnicas para purificar a ficocianina, sendo elas “Purificação por Precipitação”, “Diálise”, “Cromatografia” e “Filtração por membranas”.

A técnica de “Purificação por Precipitação”, também conhecida como *salting out*, foi o método preferível de purificação de ficocianina, sendo citada em 33% dos artigos como mostra a Figura 23. Um exemplo de trabalho representativo desse grupo é “*Ammonium chloride: a novel effective and inexpensive salt solution for phycocyanin extraction from Arthrospira (Spirulina) platensis*” realizado por MANIRAFASHA et al. de 2017 no qual

propõe um método de purificação economicamente viável baseado na utilização de cloreto de amônio em substituição ao sulfato de amônio – tradicionalmente utilizado.

Em seguida, as técnicas de “Diálise” e “Cromatografia” são citadas em 28% e 22%, respectivamente, dos artigos. A primeira técnica pode estar relacionada diretamente com a micro anteriormente citada de “Purificação por Precipitação” uma vez que é necessária a retirada do excesso de sal do meio. Já a Micro de “Cromatografia” engloba desde cromatografia de troca iônica até técnicas mais sofisticadas como cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

Por fim, têm-se a técnica de “Filtração por Membranas” com 17% dos artigos classificados nessa Classe Nível Meso. Essa Classe Nível Micro abrange técnicas de micro e ultra filtrações que são reconhecidas por terem uma alta eficiência de purificação, por exemplo, o artigo de 2018 “*Purification of phycocyanin from Arthrospira platensis by hydrophobic interaction membrane chromatography*” de LAUCERI et al. que apresentou uma pureza 4,20 maior que o extrato bruto utilizando filtração por membranas.

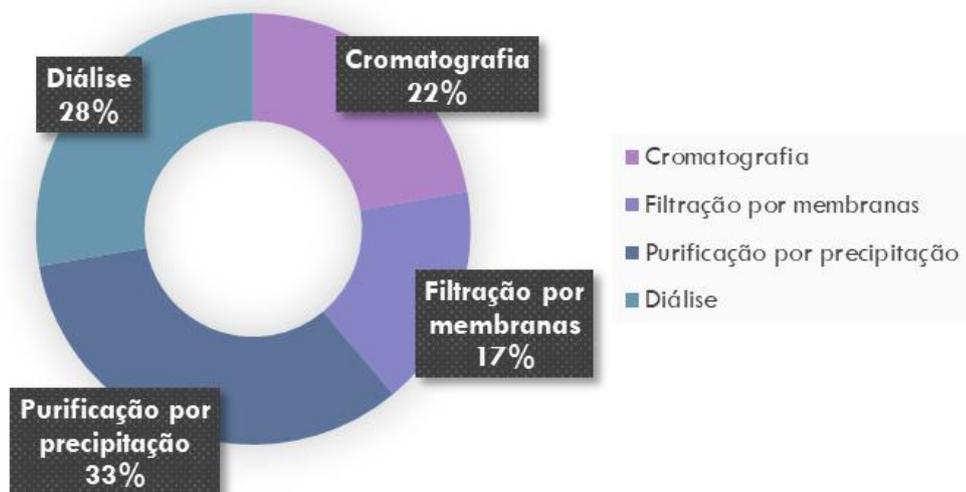


Figura 23 - Quantidade de documentos presentes nas taxonomias de Nível Micro provenientes de "Métodos de Purificação" obtida na base *Scopus* (2015 – julho/2020).

### 5.1.3.5 Formas de Aplicação

Para Meso de “Formas de Aplicação” é observável que o emprego da ficocianina foi predominante para aplicações nas indústrias farmacêutica e alimentícia com 50% e 41% dos artigos, respectivamente como pode ser visto na Figura 24.

A exploração farmacêutica tem relação com a capacidade antioxidante da ficocianina como por exemplo o artigo “*C-phycoerythrin protects against low fertility by inhibiting reactive oxygen species in aging mice*” (LI et al. 2016) que tem como objetivo investigar o uso de antioxidantes como a ficocianina para tratamento de infertilidade em camundongos.

A aplicação na indústria alimentícia pode estar relacionada diretamente com o uso dessa proteína como corante natural. Concernente a esse panorama, o review “*Phycobilins and Phycobiliproteins Used in Food Industry and Medicine*” (MYSLIWA-KURDZIEL et al. 2017) destaca o uso da ficocianina como corante natural azul e como suplemento para o desenvolvimento de alimentos funcionais.

É possível notar que as aplicações cosmética e têxtil são ainda pouco expressivas tendo somadas menos de 10% da quantidade de documentos.

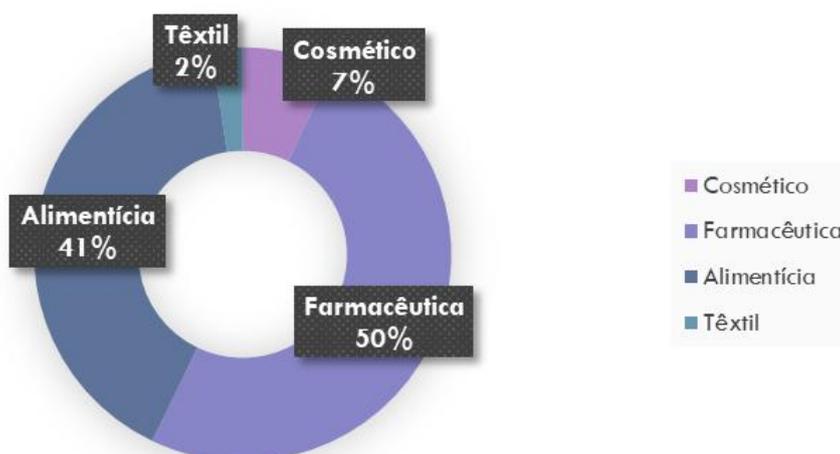


Figura 24 - Quantidade de documentos presentes nas taxonomias de Nível Micro provenientes de "Formas de Aplicação" obtida na base *Scopus* (2015 – julho/2020).

#### 5.1.3.6 Coprodução e/ou Caracterização da Biomassa

Para a classificação Classe Nível Meso de “Co-produção e caracterização da biomassa” é possível notar que o cultivo de *Arthrospira* e produção de ficocianina também envolve a produção e caracterização de inúmeros outros compostos biológicos concomitantemente. Os compostos que foram mais citados junto à ficocianina foram “Carotenoides” com 25% dos artigos, seguido da “Clorofila” com 23%, como mostra a Figura 25.

Além disso é possível notar que além de pigmentos houve também o interesse em compostos fenólicos e flavonoides. O artigo de 2015 “*Antioxidant and Anti-Inflammatory Properties of an Aqueous Cyanophyta Extract Derived from Arthrospira platensis: Contribution to Bioactivities by the Non-Phycocyanin Aqueous Fraction*” publicado por JENSEN et al. explora a combinação de um extrato rico em ficocianina e flavonoides para aplicações anti-inflamatória e anticoagulante, exemplificando essa tendência notada.

A classificação Classe Nível Micro “Outros” representa 13% das de artigos desse grupo e engloba compostos que foram citados uma única vez, como por exemplo a “Ficoeritrina”, “Vitaminas”, “Terpenos” e outros “Micronutrientes”.

Por fim, também se definiu uma taxonomia nível Micro para “Cepas mutantes” na qual pode ser observado poucos trabalhos, apenas 4%, que focam na produção de variações genéticas das espécies dos gêneros *Arthrospira* para a obtenção de melhores rendimentos de produção de ficocianina e/ou biomassa. O trabalho de SHIRNALLI et al. de 2017 “*Isolation and characterization of high protein and phycocyan in producing mutants of Arthrospira platensis*” aborda esse campo ainda pouco explorado, fazendo uso de mutagênese química para obter cepas mutantes de *Arthrospira*, nas quais duas variantes dentre as selecionadas apresentaram maior conteúdo em massa de ficocianina em comparação com a cepa selvagem.

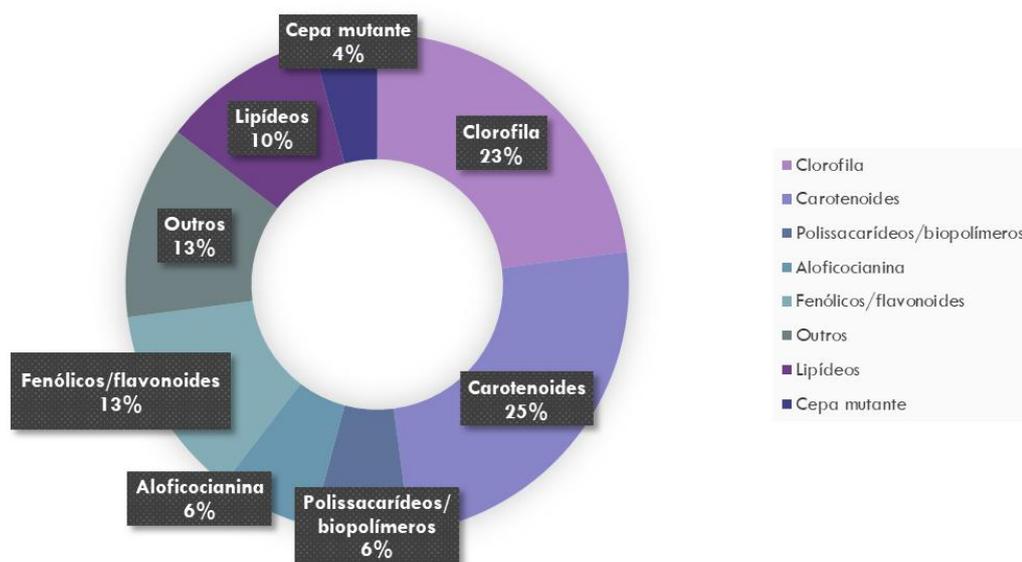


Figura 25 - Quantidade de documentos presentes nas taxonomias de Nível Micro provenientes de "Co-produção e caracterização da biomassa" obtida na base Scopus (2015 – julho/2020).

### 5.1.3.7 Estabilidade

A classificação Nível Meso de “Estabilidade” diz respeito a trabalhos que se referem a melhorias da estabilidade da molécula de ficocianina, uma vez que ela é sensível a condições extremas de temperatura, luz e pH; podendo perder sua atividade e coloração característica.

Foi possível observar que os esforços em Classe Nível Micro dentro desse tema majoritariamente estão relacionados com o estudo da presença de estabilizantes e caracterização da ficocianina e sua estabilidade em diferentes temperaturas e pH, representados pela classificação Micro “Otimização da estabilidade da ficocianina” com 40% dos artigos como mostra a Figura 26. O artigo de 2018 “*Kinetic Study on the Effects of Sugar Addition on the Thermal Degradation of Phycocyanin from Spirulina sp*” de HADIYANTO et al. é um exemplo dessa tendência, utilizando açúcares simples como glicose, sacarose e frutose como estabilizantes térmicos para ficocianina.

Além disso, há também outros esforços que envolvem técnicas mais complexas para alterar a estabilidade da ficocianina como os representados pelas classificações Nível Micro “Encapsulamento” e “Modificação estrutural” com 30% dos artigos cada. As técnicas de encapsulamento envolvem a utilização de polímeros para revestir a ficocianina, como

exemplo no artigo *“Effects of Carrageenan and Chitosan as Coating Materials on the Thermal Degradation of Microencapsulated Phycocyanin from Spirulina sp.”* de HADIYANTO et al. 2019. Já as técnicas de modificação estrutural visam realizar modificações covalentes na molécula de ficocianina para torná-la mais estável, conforme o trabalho de 2019 de ZHENG et al. *“Functional and structural properties of spirulina phycocyanin modified by ultra-high-pressure composite glycation”*.



Figura 26 - Quantidade de documentos presentes nas taxonomias de Nível Micro provenientes de "Estabilidade" obtida na base Scopus (2015 – julho/2020).

#### 5.1.3.8 Modelagem e Simulação

A classificação nível Meso de “Modelagem e Simulação” se refere a artigos que se dedicaram a construir modelos matemáticos para estudar diversos parâmetros envolvidos na produção de ficocianina. Em nível de classificação Micro a modelagem “Cinética” foi a mais abundante, presente com 28% como mostra a Figura 27. Tem relação com a construção de modelos para velocidade de crescimento da biomassa e consequentemente produção de ficocianina, como encontrado no trabalho de KAEHDAM et al. de 2019 *“Kinetic models for phycocyanin production by fed-batch cultivation of the Spirulina platensis”* que particularmente cria modelos para descrever o crescimento celular, consumo de nitrogênio e produção de ficocianina em cultivos modo batelada e batelada alimentada. Além disso,

há também nesta classificação estudos que envolvem modelos da cinética de degradação da ficocianina quando submetida a diferentes condições de cultivo como já citado no trabalho de HADIYANTO et al. (2018) *“Kinetic Study on the Effects of Sugar Addition on the Thermal Degradation of Phycocyanin from Spirulina sp”*.

Em seguida, as classificações nível Micro de “Otimização de parâmetros” e modelagem de “Equipamento” ocorreram em 27% dos artigos. A primeira refere-se ao uso de modelos e estratégias matemáticas para a obtenção de melhores produtividades por meio da otimização de condições de cultivo como abordado no trabalho de AZIMATUN NUR et al. de 2019 *“Enhancement of C-phycocyanin productivity by Arthrospira platensis when growing on palm oil mill effluent in a two-stage semi-continuous cultivation model”* que faz uso da técnica de *design* de experimento fatorial completo para determinar as condições nutricionais ótimas para obtenção de ficocianina.

Enquanto a segunda Classe Nível Micro está relacionada em estudar e otimizar parâmetros de equipamentos nas etapas de produção ou separação da ficocianina, como exemplo pode-se citar o artigo de BRIÃO et al. 2019 *“Is downstream ultrafiltration enough for production of food-grade phycocyanin from Arthrospira platensis?”* que, para avaliar se a microfiltração e ultrafiltração podem ser utilizadas para a obtenção de ficocianina com pureza alimentícia, faz uso de modelos matemáticos como ferramentas auxiliares para estimar o fluxo de permeado através das membranas.

Em suma, há artigos que abordam aspectos econômicos da produção de ficocianina e esses representam 18% através da classificação Nível Micro de modelagem “Econômica” conforme o trabalho de PAPADAKI et al. de 2017 *“Environmental impact of phycocyanin recovery from Spirulina platensis cyanobacterium”*.

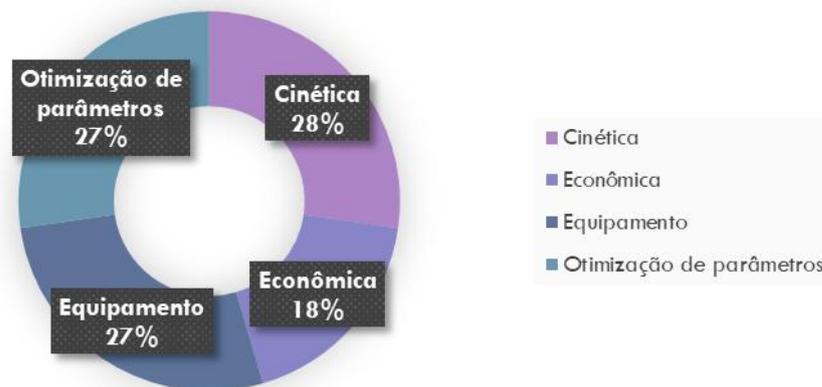


Figura 27 - Quantidade de documentos presentes nas taxonomias de Nível Micro provenientes de "Modelagem e Simulação" obtida na base Scopus (2015 – julho/2020).

#### 5.1.4 Considerações finais da análise de artigos

Analisando os resultados para os artigos científicos, foi possível observar uma evolução temporal, com exceção de 2017 em que houve menos publicações que 2016. Vale ressaltar que o ano de 2020 foi analisado até julho, entretanto mesmo assim o número de publicações relevantes ao tema para esse ano foi, até o período analisado, maior que 2015 – ano com menor número de publicações da série histórica analisada.

O principal país envolvido na análise dos artigos científicos foi o Brasil, seguido da China, além de Estados Unidos e Índia na mesma posição. A Ásia foi o continente com o maior número de publicações relevantes com aplicações farmacêuticas e a Europa com o maior número de publicações relevantes para a indústria de alimentos.

A análise dos artigos mostrou uma visível liderança de Universidades e Centro de Pesquisas nas publicações. Além disso, o Brasil se destacou mais uma vez, principalmente pela forte participação da Universidade Federal do Rio Grande. Já em relação às empresas, apenas 11 empresas estão envolvidas na publicação dos 80 artigos analisados, sendo a maioria delas em parceria com Universidades ou Centro de Pesquisas.

A taxonomia de nível Meso "Formas de aplicação" foi a mais citada nos artigos, mostrando que o interesse na aplicação da ficocianina nas indústrias é um dos focos de pesquisas que têm sido realizados referentes ao tema. Em relação a essas aplicações, a

“Farmacêutica” e a “Alimentícia” dividem quase que igualmente o foco de pesquisa para a aplicação desse pigmento.

Para os “Métodos de extração” vale destacar que a utilização de “Ultrassom” para a separação da ficocianina foi destaque entre as pesquisas, seguida dos métodos de “Congelamento e descongelamento” e “Extração física”.

Nas “Condições de cultivo”, o foco dos estudos se divide principalmente no estudo das condições de “Luz” e “Nutrientes”, como sua intensidade, fotoperíodo e concentrações. Em seguida a classificação Micro de “Parâmetros físico-químicos” também possui relevância por meio de estudos que investigaram a influência de temperatura e pH na produção de ficocianina.

Para a “Co-produção e caracterização da biomassa”, foi observado um grande foco para a produção concomitante e caracterização de outros pigmentos, principalmente “Carotenoides” e “Clorofila”. Outros compostos bioativos também se destacaram junto à ficocianina, como compostos “Fenólicos /flavonoides”.

Para a classificação de nível Meso “Estabilidade” cabe destacar principalmente o estudo da relação entre parâmetros como pH e temperatura na estabilidade da molécula de ficocianina, por meio dos artigos classificados na Micro de “Otimização da estabilidade da ficocianina”.

Já para a classificação de nível Meso “Modelagem e Simulação”, o destaque foi para os estudos de modelagem cinética tanto da produção de biomassa para obtenção de ficocianina como para os estudos de degradação térmica desse pigmento.

Para os “Métodos de purificação”, houve uma predominância de quatro técnicas: “Purificação por precipitação”, “Diálise”, “Cromatografia” e “Filtração por membranas”, sendo a primeira a mais citada dentre os artigos.

Finalmente, na taxonomia “Coleta da biomassa”, houve a predominância da secagem da biomassa de *Arthrospira* por meio da técnica de “Filtração”.

## 5.2 RESULTADOS DA ANÁLISE DE PATENTES

### 5.2.1 Análise Macro

O primeiro gráfico obtido a partir da Análise Classe Nível Macro da prospecção tecnológica de patentes ilustra a proporção entre o número de patentes concedidas e solicitadas, como mostra Figura 28. É possível notar que do total de 53 patentes únicas, há uma maior percentagem de patentes solicitadas (75%) em relação às patentes concedidas (25%) no período de tempo analisado.

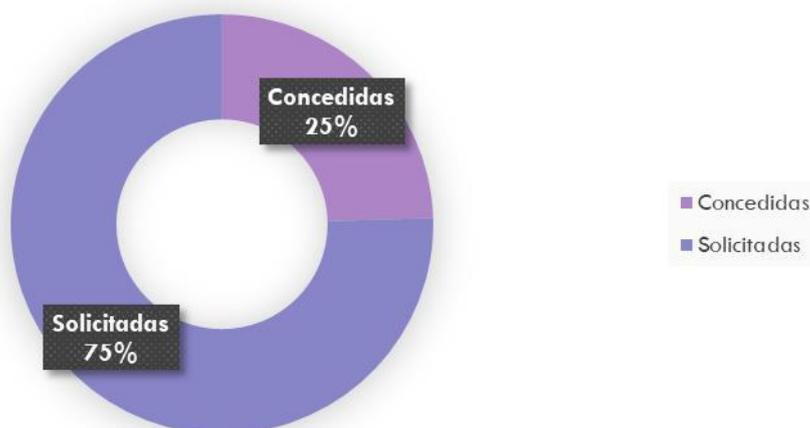


Figura 28 - Proporção entre registro de patentes concedidas e solicitadas dos documentos obtidos na plataforma *LENS* (2015 – julho/2020).

Pela série histórica, foi possível notar que o ano com o maior número de aplicações e concessões é o de 2017 com 13 patentes, como evidencia a Figura 29. Pode ser observado um cenário contrário ao dos artigos nos anos seguintes de 2018 e 2019, com o número de patentes decrescendo nesse intervalo. Para o ano de 2020 vale ressaltar que a análise foi realizada até junho de 2020, sendo o número obtido não representativo para o ano como um todo.

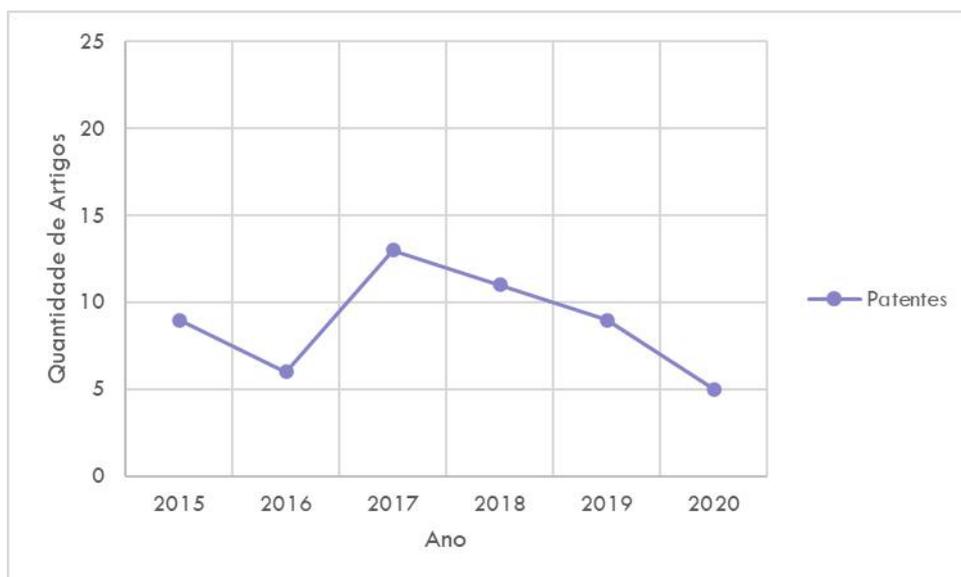


Figura 29 - Série histórica das patentes relevantes gerada na base *LENS* (2015 – julho/2020).

A distribuição de patentes concedidas e solicitadas por jurisdição, no período temporal analisado, é representada na Figura 30. Nota-se que a China é o país com o maior número de patentes no total, com 30 documentos, sendo que a maioria deles (27 patentes) são patentes solicitadas. Em seguida, tem-se Estados Unidos com 21 documentos, sendo 15 patentes solicitadas e 6 patentes concedidas.

Em termos de entidades, a *WIPO* (Organização Mundial da Propriedade Intelectual) ganha destaque na segunda posição do ranking com 22 documentos, sendo 16 solicitados e 6 depositados. A Organização Europeia de Patentes (*EPO*) apresentou 17 documentos (11 patentes solicitadas e 6 patentes concedidas), ocupando o quarto lugar no ranking.

Constatou-se que os Estados Unidos, a *EPO*, a Coreia do Sul e a *WIPO* foram as jurisdições com o maior número de patentes concedidas (6). Para o Brasil, diferente do cenário encontrado na publicação de artigos, há apenas 3 patentes solicitadas.

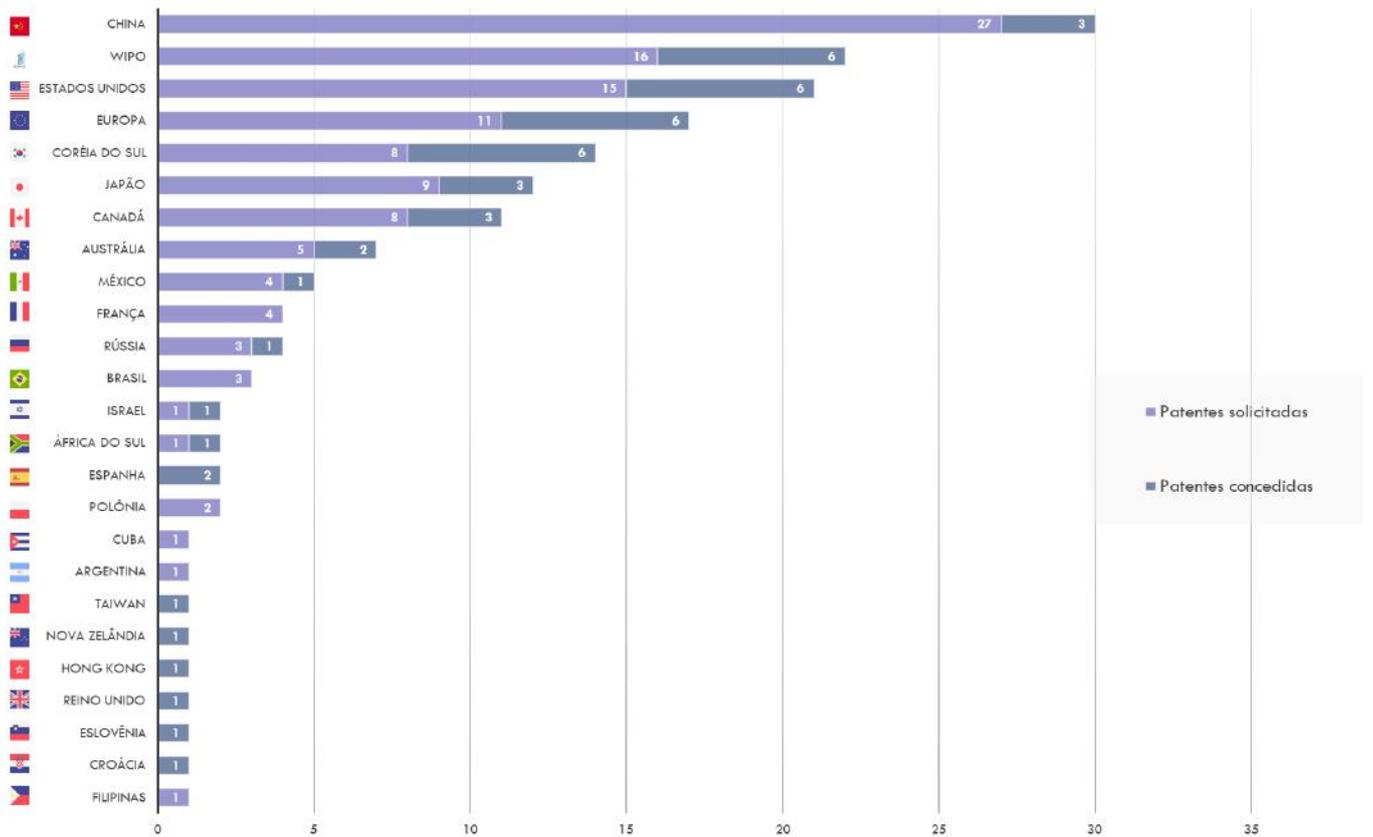


Figura 300 - Distribuição de patentes concedidas e solicitadas por jurisdição dos documentos obtidos na plataforma LENS (2015 – julho/2020).

A Figura 31 representa outra forma de visualizar comparativamente o número de patentes totais por jurisdição através de um mapa. Constata-se que a China detém 18% do total de patentes concedidas e solicitadas. Vale ressaltar que pode haver uma mesma aplicação ou concessão de patente em diferentes países e entidades e que a concessão em uma localidade não garante concessão nas demais.

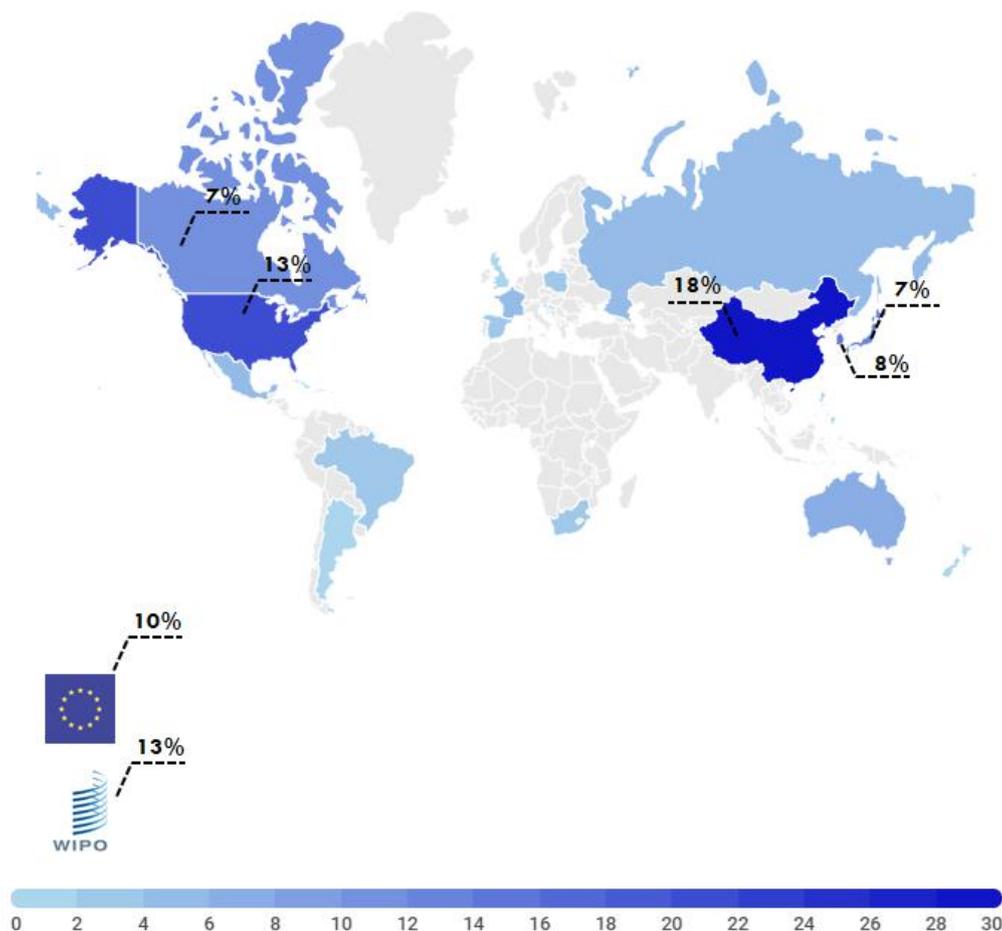


Figura 31 - Distribuição de patentes totais por jurisdição dos documentos obtidos na plataforma *LENS* (2015 – julho/2020).

A Figura 32 mostra como o total de patentes únicas relevantes ao tema se distribuem quanto ao aplicador. Observa-se que as empresas representam 57% dos documentos analisados, seguida por 28% de documentos provenientes de Universidades e Centro de Pesquisas e por fim 15% de documentos nos quais não há entidade privada ou pública relacionada ao documento.

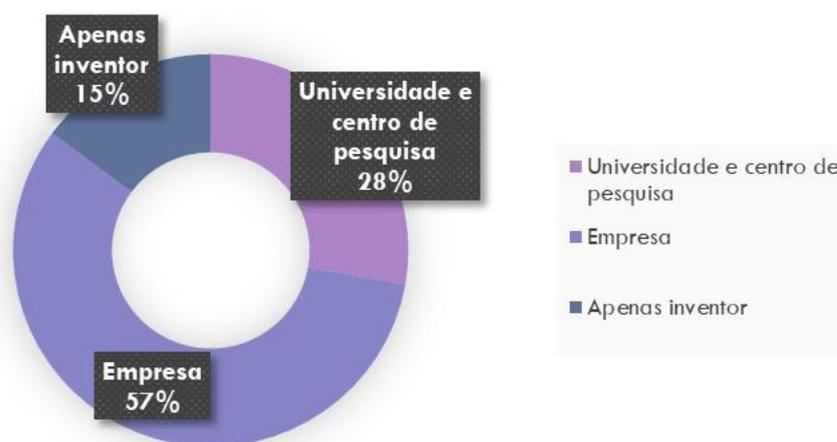


Figura 31 - Distribuição de patentes totais por aplicador dos documentos obtidos na plataforma LENS (2015 – julho/2020).

As patentes provenientes de empresas estão bem distribuídas entre 25 empresas diferentes que atuam em distintos setores, como exemplifica a Tabela 7. O número máximo de patentes por uma mesma empresa é de apenas 2 documentos e o setor que se destaca entre as empresas é o de Biotecnologia, com 11 empresas o representando.

Tabela 7 - Número de patentes por empresas e seus respectivos setores

<b>Empresa</b>	<b>Número de patentes</b>	<b>Setor</b>
<i>Yunnan Blue Diamond Technology</i>	2	Alimentício
<i>Fenchem Biotek</i>	2	Biotecnologia
<i>Fermentalg</i>	2	Biotecnologia
<i>Adm Wild Europe Gmbh &amp; Co Kg</i>	2	Produtos naturais
<i>Far East Bio-tec Co. Ltd</i>	2	Biotecnologia
<i>BASF</i>	1	Químico
<i>GreenPioneer</i>	1	-
<i>Back of the yard algae Sciences</i>	1	Biotecnologia
<i>Nutrateg S.r.l.</i>	1	Alimentício
<i>Classys Inc</i>	1	Médico/Estético
<i>Beijing Kery Biotechnology Co Ltd</i>	1	Biotecnologia
<i>Algenol Biotech</i>	1	Biotecnologia
<i>Ecosystem</i>	1	-
<i>Pujiang Ouli Biotechnology Co Ltd</i>	1	Biotecnologia
<i>Gong Chenglong</i>	1	-
<i>Jcreation</i>	1	-
<i>Wm. Wrigley Jr. Company</i>	1	Alimentício
<i>NMB Co., Ltd.</i>	1	-
<i>Desert Lake Technologies Llc</i>	1	Biotecnologia
<i>Cerule Llc</i>	1	Cosméticos/Suplemento

<b>Jiangxi Danxia Biotechnology Co Ltd</b>	1	Biotecnologia
<b>Algobiotech</b>	1	Biotecnologia
<b>Xiamen Blue Bay Science &amp; Technology Co Ltd</b>	1	Biotecnologia
<b>Henan Zhongda Biological Eng Co Ltd</b>	1	Pigmentos
<b>Dainippon Ink &amp; Chemicals</b>	1	Pigmentos

## 5.2.2 Análise Classe Nível Meso

Analisando a Figura 33 que apresenta o quadro geral das taxonomias a Nível Meso, pode-se notar que a taxonomia “Formas de aplicação” foi o tópico mais presente nas patentes, mesma tendência observada para os artigos. Das 54 patentes analisadas, 37 apresentaram alguma forma de aplicação para a ficocianina. Em seguida a taxonomia “Método de extração” foi identificada em 20 patentes. A taxonomia de “Método de purificação” apresentou bastante relevância para as patentes, diferentemente da análise de artigos, estando presente em 16 do total de patentes analisadas. Por fim, vale destacar que as taxonomias de “Método de secagem” e “Condições de cultivo” foram as com menos citações em patentes, sendo relevantes em apenas 4 e 5, respectivamente, das 54 patentes analisadas.

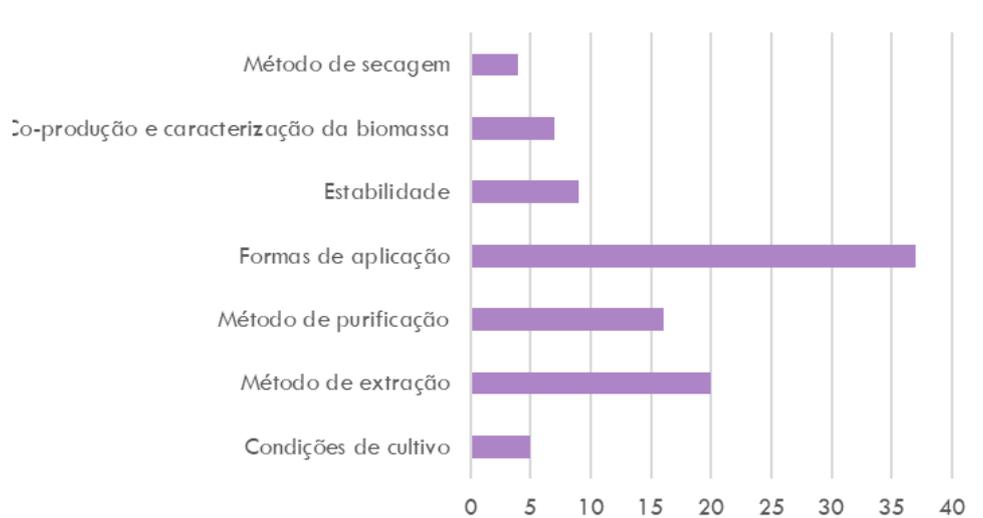


Figura 32- Distribuição das patentes de acordo com suas taxonomias Nível Meso obtidas na plataforma LENS (2015 – julho/2020).

## 5.2.3 Análise Classe Nível Micro

### 5.2.3.1 Condições de Cultivo

Na análise Meso, foi possível observar que apenas 5 patentes mencionavam sobre “Condições de cultivo”, sendo assim o universo de parâmetros que influenciam no cultivo de biomassa e produção de ficocianina foi muito menor que o identificado na análise de artigos.

A Figura 34 mostra o resultado encontrado, na qual 50% das patentes que apresentam classificação Micro dentro desse Nível Meso citam “Nutrientes”, 25% se referem ao “Modo de cultivo” enquanto com menor número de citações se encontram os parâmetros “Luz” e “Tipo de Reator”. É possível notar que a condição de luz, em oposição ao cenário encontrado na análise de artigos, não é bem explorada por parte das patentes, sendo mais relevante as condições nutricionais do meio.

A patente EP3031904B1 *“Composition comprising salt and microalgae biomass, process of its production and uses (with variants)”* do aplicante OMAROV FARHAD é um exemplo na qual reivindica principalmente uma cepa resistente, capaz de produzir ficocianina, em um meio nutricional rico em cloreto de sódio.

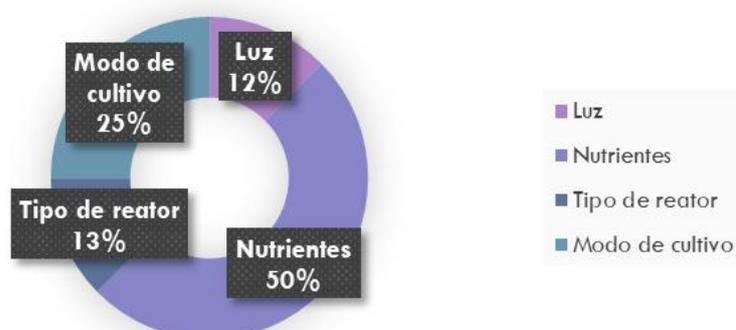


Figura 33 - Quantidade de documentos presentes nas taxonomias de Nível Micro provenientes de "Condições de Cultivo" obtidas na plataforma LENS (2015 – julho/2020).

### 5.2.3.2 Métodos de Secagem

A taxonomia a Nível Meso “Métodos de Secagem” compreende patentes que citam técnicas ou tecnologias para a secagem tanto da biomassa produtora de ficocianina quanto para obtenção do pigmento seco para comercialização. Para essa classificação apenas destacou-se duas técnicas: a liofilização e a técnica de *Spray-dryer*. Comparando-se a classificação Meso correspondente “Coleta da biomassa” definida para a análise de artigos, é possível notar que há um universo restrito de taxonomias a nível Micro para a análise de patentes.

A Figura 35 revela a distribuição de citações a Nível Micro dos métodos de secagem para as patentes analisadas. É possível notar que há uma predominância da técnica de *Spray-dryer* que acumula 67% das citações.

Um exemplo de patente que ilustra essa tendência é a CN 104292326 A “*Industrially Producing Method Of Food-grade Phycocyanin*” do aplicante YANTAI INST COASTAL ZONE RES CAS que reivindica um método de completo de produção de ficocianina com pureza alimentícia no qual envolve a técnica de *Spray-dryer* como última etapa para a obtenção da ficocianina seca.

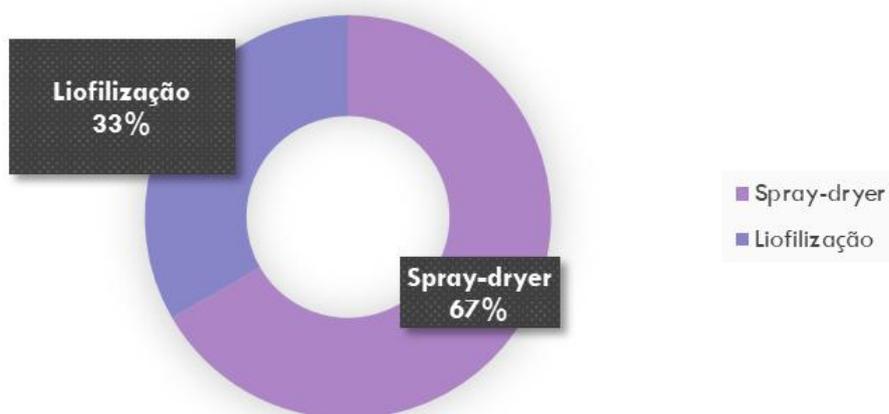


Figura 34 - Quantidade de documentos presentes nas taxonomias de Nível Micro provenientes de "Métodos de secagem" obtidas na plataforma LENS (2015 – julho/2020).

### 5.2.3.3 Métodos de Extração

A classificação Nível Meso “Métodos de Extração” agrupa patentes que citam metodologias e tecnologias para a extração da ficocianina em relação à célula produtora. Para essa classificação, a taxonomia Nível Micro “Extração química e/ou bioquímica”, que compreende a utilização de solventes, enzimas, surfactantes ou sais para precipitação de proteínas, é a que destaca dentre as demais com 42% das citações conforme mostrado na Figura 36.

É notório que há um cenário distinto ao obtido na análise por artigos, cuja técnica com maior relevância foi a técnica que utiliza Ultrassom. Para patentes essa técnica somente representou 15% dentre as patentes analisadas. Em segundo lugar teve-se a técnica de congelamento-descongelamento para o rompimento das células com 27% das referências. Essa posição no *ranking* de técnicas para a extração também foi reproduzida na análise de artigos.

Em suma, na última posição encontram-se quatro técnicas distintas para realizar a separação em questão com apenas 4% das citações cada uma: “Rompimento celular”, “Homogeneização”, “Maceração” e “Extração assistida por micro-ondas”.

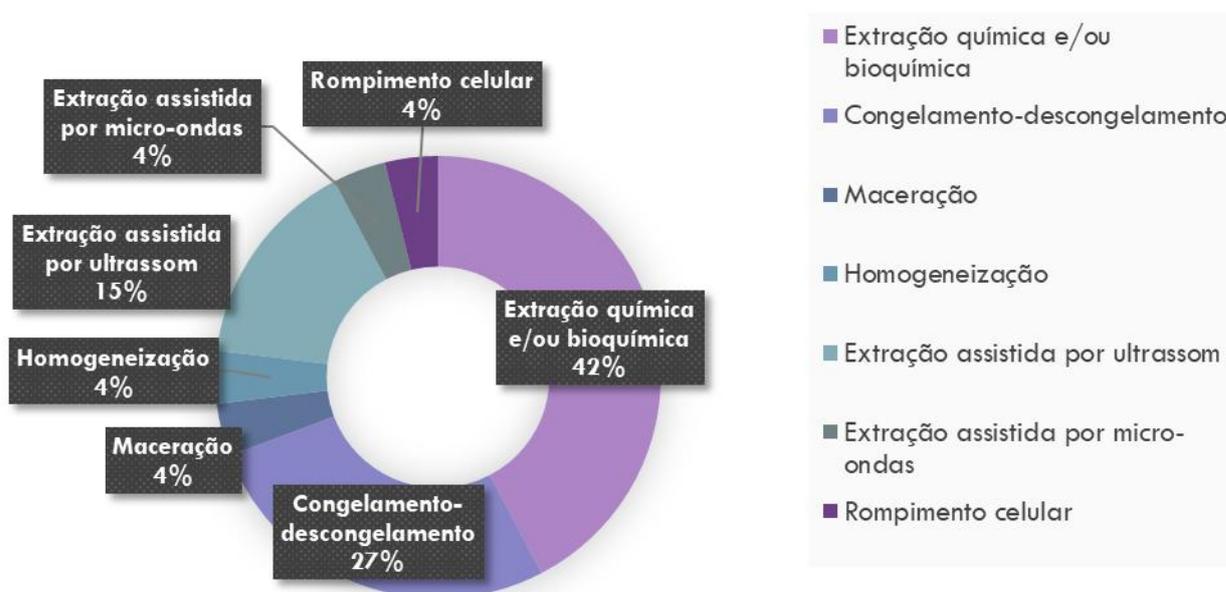


Figura 35 - Quantidade de documentos presentes nas taxonomias de Nível Micro provenientes de "Métodos de Extração" obtidas na plataforma LENS (2015 – julho/2020).

Uma das patentes analisadas que se enquadram na taxonomia Meso de “Métodos de Extração” que pode ser utilizada como exemplo da classificação a Nível Micro “Extração química e/ou bioquímica” da aplicante QINGDAO INST BIOENERGY & BIOPROCESS TECH CAS a CN 110818792 A “*Method For Phycocyanin Extraction Capable Of Saving Water*” que provê um método de extração de ficocianina base de cloreto de cálcio e com objetivo de gerar uma economia de água em relação aos demais métodos descritos no estado da arte de extração de ficocianina.

#### 5.2.3.4 Métodos de Purificação

A classificação nível Meso “Métodos de Purificação” compreende patentes que reivindicam algum método para tornar a ficocianina mais pura. Para essa classificação, a taxonomia Nível Micro “Filtração por membrana” que compreende a utilização de membranas para a obtenção de ficocianina com maior pureza foi a que possui maior número de citações com 52% conforme ilustra a Figura 37.

Esse tipo de resultado se mostra como uma tendência oposta em relação à análise de artigos, que revelou que esse tipo de técnica não teve tanta popularidade ficando em último no *ranking* das citações.

Em seguida, temos a classificação nível Micro “Purificação por precipitação” que leva em conta os efeitos de *salting out* com 29% das patentes analisadas. Em relação aos artigos, essa taxonomia também apresenta um volume considerável de citações ocupando naquela análise o primeiro lugar do ranking com 33%, revelando que esse tipo de técnica é bastante utilizado durante uma estratégia de purificação para ficocianina.

Um exemplo de patente analisada que se enquadra na taxonomia Meso de “Métodos de Purificação” a CN 108101980 A “*Preparation Method Of High-purity Spirulina Blue*” da aplicante JIANGXI DANXIA BIOTECHNOLOGY CO LTD que provê uma série de etapas de purificação para a obtenção de ficocianina, na qual uma delas envolve a utilização de filtração por membranas.

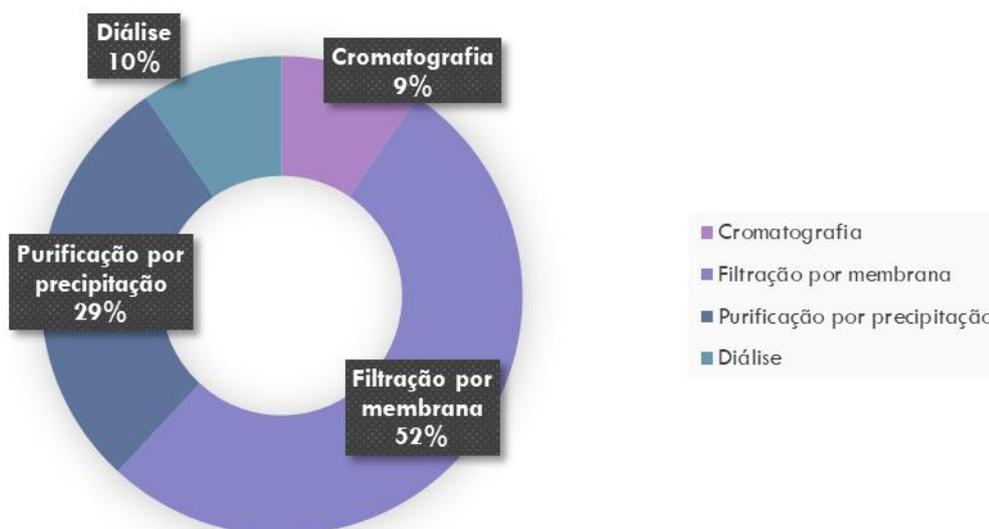


Figura 36 - Quantidade de documentos presentes nas taxonomias de Nível Micro provenientes de "Métodos de purificação" obtidas na plataforma *LENS* (2015 – julho/2020).

Por fim, ocupando o último lugar do *ranking*, temos as classificações a nível Micro “Diálise” e “Cromatografia” que tiveram apenas 10% e 9%, respectivamente, do total de artigos. Essa tendência se contrapõe aos resultados obtidos na análise de artigos, que se mostram ter mais estudos em relação às outras demais técnicas.

#### 5.2.3.5 Formas de aplicação

Como abordado na seção “Análise Meso”, a taxonomia “Formas de aplicação” foi a que apresentou o maior número de citações para patentes. Assim como para os resultados encontrados na análise de artigos, as formas de aplicação de maior destaque continuam sendo para as indústrias “Farmacêutica” e “Alimentícia” com 41% e 39% das citações, respectivamente, conforme mostra a Figura 37.

Entretanto, uma tendência que diferencia a análise de patentes da análise de artigos é o número de citações para a aplicação “Cosmética” que representa 20% das citações em patentes, número superior ao de 7% encontrado para a análise de artigos – revelando possivelmente uma tendência mais empreendedora e menos acadêmica para esse tipo de aplicação.

Ademais, diferente da análise de artigos, não foi encontrada nenhuma referência de aplicação “Têxtil” para patentes, podendo esta, então, ser um campo de aplicação a ser explorado no futuro.

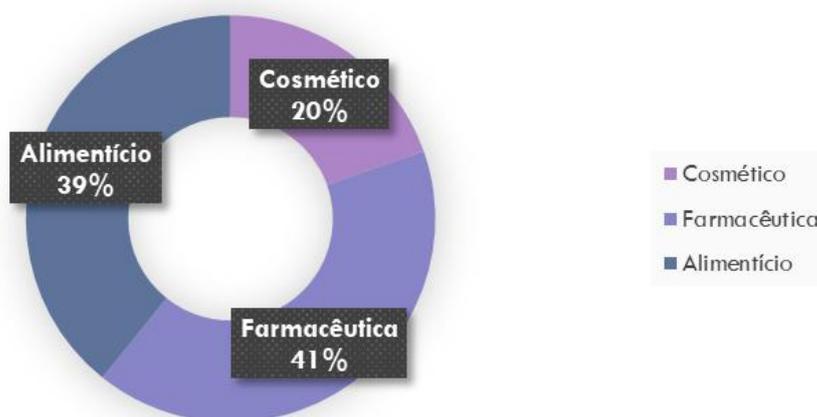


Figura 37 - Quantidade de documentos presentes nas taxonomias de Nível Micro provenientes de "Formas de aplicação" obtidas na plataforma LENS (2015 – julho/2020).

Uma das patentes analisadas que se enquadram na taxonomia Meso de “Formas de aplicação” que pode ser utilizada como exemplo da classificação a Nível Micro “Alimentícia” é a EP 2484230 B1 “*Protein-rich Spirulina Extracts*” aplicada pela empresa ADM WILD EUROPE GMBH & CO KG que compreende um extrato de *Spirulina* rico em proteínas, como a ficocianina, para a utilização em produtos alimentícios.

#### 5.2.3.6 Estabilidade

A taxonomia nível Meso “Estabilidade”, que decorre das técnicas que visam melhorar a estabilidade da molécula de ficocianina ou estudá-la em diferentes condições, possui como destaque a classificação nível Micro “Encapsulamento” com 45% do total de patentes, como mostra a Figura 39.

De maneira geral, para essa classificação, há uma tendência similar encontrada na análise correspondente para os artigos, sendo as técnicas de encapsulamento relevantes para esse campo de estudo, além da compreensão do comportamento da ficocianina por

meio de diferentes condições físico-químicas, representadas pela taxonomia “Estabilidade em diferentes temperaturas e pH” com 33% das patentes.

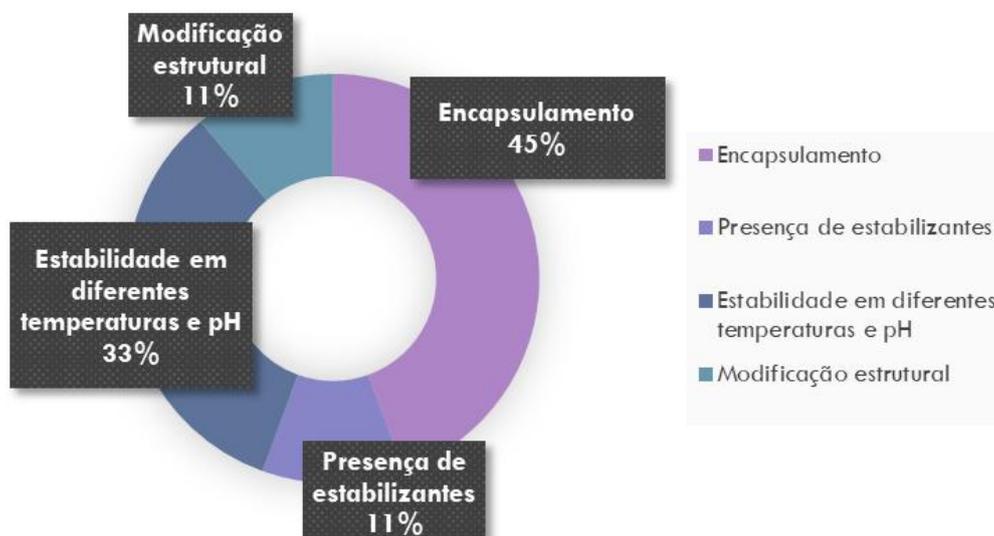


Figura 38 - Quantidade de documentos presentes nas taxonomias de Nível Micro provenientes de "Estabilidade" obtidas na plataforma LENS (2015 – julho/2020).

Além disso, há também poucos documentos que exploram modificações estruturais e presença de estabilizantes para otimizar sua estabilidade, representados respectivamente pelas classificações Nível Micro “Modificação estrutural” e “Presença de estabilizantes”, com apenas 11% das citações cada.

Um exemplo de patente com classificação Nível Micro “Encapsulamento” é a KR 101898528 B1 “*Phycocyanin phycoerythrin a pharmaceutical composition comprising liposome containing phycocyanin or phycoerythrin as an active ingredient for brain disease*” da aplicante INHA UNIVERSITY RESEARCH AND BUSINESS FOUNDATION que utiliza ficocianina encapsulada em lipossomos para o tratamento de doenças cerebrais.

#### 5.2.3.7 Coprodução e/ou caracterização da biomassa

A classificação nível Meso “Coprodução e caracterização da biomassa” que tem como função entender que outras biomoléculas podem ser produzidas simultaneamente a ficocianina ou determinar características em relação à biomassa produtora apresentou

como resultado maior relevância para a “Ficoeritrina”, “Outros pigmentos” (que compreende clorofila, carotenoides e aloficocianina) e “Outros microrganismos” (que compreende microalgas de gênero diferente do gênero *Arthrospira*, como por exemplo, espécies do gênero *Nostoc*) com 30% das citações cada. Esses resultados são mostrados na Figura 40.

Essa tendência é completamente distinta da encontrada na análise de artigos, que apresenta uma maior diversidade de classificações nível Micro para a taxonomia Meso em questão. Além disso, a análise de patentes revelou que há um maior interesse por outros microrganismos produtores de ficocianina, como por exemplo, além da taxonomia “Outros microrganismos”, a presença da classificação nível Micro “*S. máxima*”, com 10% das citações, que representa uma biomassa alternativa à *Arthrospira platensis* para a produção de ficocianina.

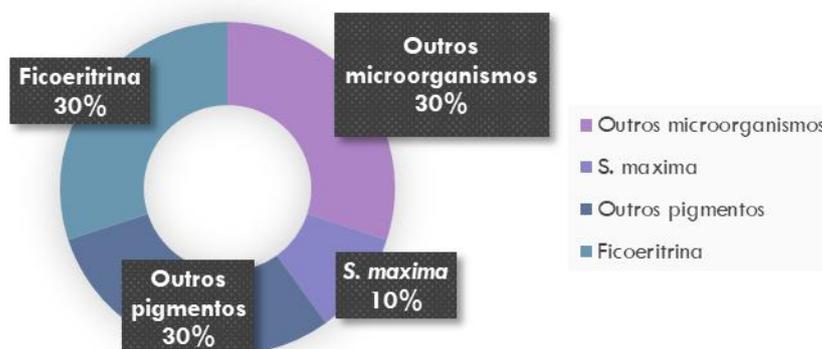


Figura 39 - Quantidade de documentos presentes nas taxonomias de Nível Micro provenientes de "Coprodução e/ou caracterização da biomassa" obtidas na plataforma LENS (2015 – julho/2020).

#### 5.2.4 Considerações finais da análise de patentes

Foram analisadas um total de 53 patentes, nas quais 13 foram concedidas e 40 patentes solicitadas, o que indica uma tendência de aquecimento do mercado acerca do tema. O ano de 2017, no intervalo de tempo analisado, foi o ano com o maior número de patentes, com 13 documentos.

Os países que apresentaram maior destaque na quantidade total de patentes concedidas foram os Estados Unidos e a Coréia do Sul com 6 patentes cada, em companhia com as entidades *WIPO* (Organização Mundial da Propriedade Intelectual) e *EPO* (Organização Europeia de Patentes) que também apresentaram o mesmo número de patentes concedidas cada uma. Em relação às patentes solicitadas, a China mostrou sua predominância com 27 patentes solicitadas.

Do número total de patentes analisadas, o tipo de depositante que se sobressaiu foram as empresas do setor biotecnológico.

A taxonomia nível Meso com maior relevância foi referente às “Formas de aplicação”, com 37 documentos. Das taxonomias nível Micro que compõem essa classificação Meso, as aplicações “Farmacêutica” e “Alimentícia” foram as de maior destaque com 41% e 39% respectivamente. Entretanto, vale destacar o setor “Cosmético” que apresenta 20% das citações, número superior ao encontrado na análise de artigos.

Em seguida, a classificação nível Meso “Métodos de Extração” apresentou 20 patentes, sendo as taxonomias nível Micro com maior relevância “Extração química e/ou bioquímica” com 42% e “Congelamento-descongelamento” com 27% das citações.

Subsequentemente na ordem de classificações a nível Meso, 16 patentes se enquadraram em “Métodos de Purificação”. A classificação Micro que apresentou maior relevância foi a “Filtração por membrana” com 52% das citações.

Para a classificação nível Meso “Estabilidade” houve 9 documentos com essa classificação. Cabe destacar que dentre as classificações nível Micro, a técnica de “Encapsulamento” foi a que apresentou maior relevância com 45% das citações.

A classificação nível Meso “Coprodução e caracterização da biomassa” – com um total de 7 documentos – apresentou três taxonomias a nível Micro com o mesmo número de citações: “Ficoeritrina”, “Outros pigmentos” e “Outros microrganismos” com 30% das citações cada.

Por fim, as classificações nível Meso “Condições de cultivo” e “Métodos de secagem” foram as que apresentaram menor relevância dentre as patentes analisadas, tendo respectivamente apenas 5 e 4 patentes.

## CAPÍTULO 6 TENDÊNCIAS TECNOLÓGICAS

Em relação à análise da evolução temporal da Classe Nível Macro entre os cenários de artigos e patentes foi possível perceber que houve uma tendência de crescimento no número de artigos no período de tempo analisado. Entretanto, esse padrão não é identificado para as patentes, que mantiveram um número de patentes estável durante o mesmo período. O cenário reflete uma situação de pesquisas ainda em estágio inicial de modo que as inovações podem surgir a longo prazo.

Além disso, outra análise que corrobora com o fato do perfil de inovação a longo prazo é a proporção entre patentes concedidas e solicitadas, na qual há uma quantidade relativa de patentes solicitadas muito maior que concedidas, indicando que as inovações ganharão mercado mais futuramente.

Concernente à distribuição geográfica dos documentos, foi notório o pioneirismo brasileiro em relação a publicação de artigos quando comparado aos demais países. A Universidade do Rio Grande se destacou focando principalmente em pesquisas relacionadas ao *downstream* do processo de obtenção da ficocianina, propondo novos métodos de extração, purificação e secagem da biomassa como alternativas ao estado da arte. Porém, o cenário de patentes no Brasil ainda é muito limitado, tendo apenas 3 patentes solicitadas, sendo nenhuma delas proveniente de aplicantes/inventores brasileiros.

Sendo assim, pode-se dizer que o Brasil possui um *background* de pesquisa relevante no cenário internacional em relação ao tema e apresenta oportunidades de propor inovações que sejam convertidas em patentes com base no conhecimento adquirido em relação ao tema.

Por outro lado, a China representa um cenário mais equilibrado em relação as publicações de artigos e patentes, investidos nas duas frentes de modo a terem recursos para inovar em médio e longo prazo. Em relação à análise de artigos, a China se destaca pelas publicações que envolvem aplicações farmacêuticas do uso da ficocianina, fato este corroborado pela Matriz de Aplicações representada na Figura 20, na qual aponta a Ásia como principal continente responsável pelas pesquisas neste campo de estudo. Em relação a patentes, a China apresentou uma ampla diversidade de inovações, se destacando

principalmente nas áreas de extração e purificação da ficocianina, além de aplicações em produtos cosméticos e farmacêuticos.

Em relação às entidades produtoras de conhecimento relacionado ao tema, quanto aos artigos, tem-se uma maior concentração de publicações em certas universidades/centros de pesquisas em determinadas regiões, como por exemplo o Brasil, que possui 4 instituições com publicações relevantes. Por outro lado, ao analisar o mesmo cenário em relação às patentes foi possível notar, que houve uma maior distribuição das empresas aplicantes, estando esses documentos distribuídos entre 25 empresas, o que revela não haver uma hegemonia ou empresa pioneira no campo de estudo.

No tocante à análise Classe Nível Meso, é importante destacar que tanto para os artigos quanto para as patentes foi notória a relevância de três Classificações Nível Meso em ambos os tipos de documentos: “Formas de Aplicação”, “Métodos de Extração” e “Métodos de Purificação”.

No que concerne às formas de aplicação, ao analisar as taxonomias Nível Micro correspondentes, foi possível notar um interesse maior em aplicações no âmbito farmacêutico, seguido pelas aplicações alimentícias – tanto em artigos quanto patentes. Destaca-se nessa Classificação uma maior quantidade relativa de documentos com aplicações cosméticas para patentes quando comparados ao artigos. Esse tipo de tendência, revela um possível caráter da indústria cosmética de inovações a curto-médio prazo com enfoque na produção de conhecimento por parte de empresas.

Para a Classificação Nível Meso de “Métodos de Extração”, foi possível notar que as universidades/centros de pesquisas estão voltadas principalmente para o estudo da técnica de Extração Assistida por Ultrassom. A grande quantidade de documentos que utilizam/estudam esse método (31% dos artigos) em contrapartida ao seu número em patentes (15% das patentes) pode indicar que essa técnica seja aprimorada de modo que atinja o mercado como uma inovação futura para a extração de ficocianina em larga escala.

Por outro lado foi possível notar que possivelmente extrações químicas – que são técnicas simples e escalonáveis – representam o estado da arte de extração dessa proteínas, uma vez que essa técnica (representada pela Classificação Nível Micro “Extração Químico/Bioquímica”) está presente em 42% das patentes analisadas. Outro fato que corrobora para essa conclusão é a baixa quantidade de documentos que se

enquandram na mesma taxonomia para a análise de artigos, sendo “Extração Química/Bioquímica” uma Classificação Nível Micro que representa apenas 14% de todos os documentos.

Quanto à Classificação Nível Meso de “Métodos de Purificação” possivelmente a técnica de “Filtração por membranas” representa o estado da arte, com uma pesquisa já avançada, para a obtenção de ficocianina mais pura, uma vez que essa taxonomia representa mais da metade dos documentos de patentes. Já em relação aos artigos, essa técnica também tem destaque, porém as técnicas que se sobressaem nesses documentos são a “Diálise” e “Cromatografia”.

O ponto a se destacar é que “Diálise” e “Cromatografia” não possuem uma relevância tão grande nos documentos de patentes. Sendo assim, possivelmente há um cenário de oportunidade para crescimento dessas técnicas futuramente como inovações para aplicação no mercado e indústrias.

## CAPÍTULO 7 CONCLUSÕES E SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

### 7.1 CONCLUSÕES

Por meio das análises realizadas na fase pós-mapeamento, foi possível notar uma evolução temporal quanto ao número de publicações em artigos durante o período analisado. Por outro lado, para as análises referente a patentes houve um cenário mais equilibrado no número de patentes ao longo do tempo, sem indicação de uma tendência clara de crescimento ou decaimento.

O Brasil foi o país que mais contribuiu em pesquisas na área de produção de ficocianina a partir de biomassa do gênero *Arthrospira* para fins industriais, devido à forte presença de Universidades brasileiras e Institutos de Pesquisa em publicações referentes ao tema, principalmente com a participação da Universidade Federal do Rio Grande. Em contraposição à esse cenário, em relação a patentes, o Brasil não se mostrou uma potência, sendo a China o país com maior destaque.

O principal foco de estudo e interesse para a ficocianina foram suas “Formas de aplicação”, sendo essa taxonomia a mais citada possivelmente por conta da versatilidade dessa proteína. Os campos industriais com maior interesse para o uso da ficocianina ficaram entre a indústria “Farmacêutica” e “Alimentícia”.

A obtenção da ficocianina foi um dos campos de maior interesse identificado nas análises, sendo a taxonomia “Métodos de Extração” a segunda mais relevante em números absolutos tanto em artigos quanto em patentes. Isso revela que as técnicas para a extração desse pigmento são importantes para a sua aplicação nas indústrias, tendo destaque métodos mais simples como a “Extração química e/ou bioquímica” para patentes e “Ultrassom” para os artigos.

Além disso, uma etapa importante após a obtenção da ficocianina é torná-la pura para que possa ser aplicada de acordo com as exigências de cada indústria. Foi possível notar que os “Métodos de purificação” se mostraram relevantes tanto para as patentes quanto para os artigos, se destacando as técnicas de “Filtração por Membranas” com um panorama bem consolidado em patentes, enquanto que para os artigos o crescimento de técnicas como “Diálise” e “Cromatografia”.

Por fim, foi possível verificar que a produção de ficocianina por microalgas do gênero *Arthrospira* para aplicação nas indústrias está em expansão, dado o número de resultados encontrados para os artigos científicos e patentes, a distribuição ao longo do tempo e ao redor do mundo.

Porém, vale ressaltar que poucos documentos eram voltados para produção em escala industrial, sendo grande parte trabalhos desenvolvidos na escala de bancada, o que revela que as pesquisas acerca do tema ainda estão em estágio inicial, mas que possuem potencial para aplicações futuras. Portanto, é possível perceber que existe um rico e atrativo universo a ser explorado no que se refere à aplicação da ficocianina nas indústrias estudadas.

## **7.2 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS**

Como sugestões para trabalhos futuros, pode-se apontar a elaboração de um *roadmap* tecnológico, que permite estabelecer relações entre necessidades do mercado, tecnologias atuais e futuras, e programas de pesquisa e desenvolvimento acerca do tema abordado. Com isso, é possível estudar trajetórias tecnológicas, perfil das empresas e identificar oportunidades de novos negócios de maneira mais clara, visando à produção de ficocianina a partir de biomassa de microalgas do gênero *Arthrospira* e suas aplicações nas diferentes indústrias. É possível também realizar estudos de casos de recortes de resultados importantes obtidos no trabalho, como regiões, empresas ou universidades e centro de pesquisas que se destacaram na produção de propriedade intelectual tanto em termos de artigos quanto patentes.

Uma outra abordagem seria investigar a viabilidade tecnológica e mercadológica da produção conjunta à ficocianina de outros pigmentos relevantes em uma estratégia de biorrefinaria, como os discutidos nesse trabalho: ficoeritrina, carotenoides e clorofila a; para aplicações industriais de interesse.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABALDE, Julio; BETANCOURT, Liliana; TORRES, Enrique; CID, Angeles; BARWELL, Clive. Purification and characterization of phycocyanin from the marine cyanobacterium *Synechococcus* sp. IO9201. **Plant Science**, [S.L.], v. 136, n. 1, p. 109-120, ago. 1998. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0168-9452\(98\)00113-7](http://dx.doi.org/10.1016/s0168-9452(98)00113-7).

ABED, R.M.M.; DOBRETSOV, S.; SUDESH, K.. Applications of cyanobacteria in biotechnology. **Journal Of Applied Microbiology**, [S.L.], v. 106, n. 1, p. 1-12, jan. 2009. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2672.2008.03918.x>.

ACIÉN, F.G.; MOLINA, E.; REIS, A.; TORZILLO, G.; ZITTELLI, G.C.; SEPÖLVEDA, C.; MASOJÍDEK, J.. Photobioreactors for the production of microalgae. **Microalgae-Based Biofuels And Bioproducts**, [S.L.], p. 1-44, 2017. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-08-101023-5.00001-7>.

AFTARI, Robabeh Vali; REZAEI, Karamatollah; MORTAZAVI, Ali; BANDANI, Ali Reza. The Optimized Concentration and Purity of *Spirulina platensis* C-Phycocyanin: a comparative study on microwave-assisted and ultrasound-assisted extraction methods. **Journal Of Food Processing And Preservation**, [S.L.], v. 39, n. 6, p. 3080-3091, 18 set. 2015. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/jfpp.12573>.

AJAYAN, K.V.; SELVARAJU, M.; THIRUGNANAMOORTHY, K.. Enrichment of chlorophyll and phycobiliproteins in *Spirulina platensis* by the use of reflector light and nitrogen sources: an in-vitro study. **Biomass And Bioenergy**, [S.L.], v. 47, p. 436-441, dez. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2012.09.012>.

AMCHOVA, Petra; KOTOLOVA, Hana; RUDA-KUCEROVA, Jana. Health safety issues of synthetic food colorants. **Regulatory Toxicology And Pharmacology**, [S.L.], v. 73, n. 3, p. 914-922, dez. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.yrtph.2015.09.026>.

AMPARO, Keize Katiane dos Santos; RIBEIRO, Maria do Carmo Oliveira; GUARIEIRO, Lílian Lefol Nani. Estudo de caso utilizando mapeamento de prospecção tecnológica como principal ferramenta de busca científica. **Perspectivas em Ciência da Informação**, [S.L.], v. 17, n. 4, p. 195-209, dez. 2012. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1413-99362012000400012>.

ANTELO, Francine S.; COSTA, Jorge A.V.; KALIL, Susana J.. Thermal degradation kinetics of the phycocyanin from *Spirulina platensis*. **Biochemical Engineering Journal**, [S.L.], v. 41, n. 1, p. 43-47, ago. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bej.2008.03.012>.

ANYANWU, Ruth; RODRIGUEZ, Cristina; DURRANT, Andy; OLABI, Abdul. Optimisation of Tray Drier Microalgae Dewatering Techniques Using Response Surface Methodology. **Energies**, [S.L.], v. 11, n. 9, p. 2327, 4 set. 2018. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/en11092327>.

AOUIR, Amel. Comparison of the biochemical composition of different *Arthrospira platensis* strains from Algeria, Chad and the USA. **Food Measure**, Nova York, v. 11, [S.I.], p. 913-923, dez. 2016.

ARAD, S. (Malis); YARON, A.. Natural pigments from red microalgae for use in foods and cosmetics. **Trends In Food Science & Technology**, [S.L.], v. 3, p. 92-97, jan. 1992. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0924-2244\(92\)90145-m](http://dx.doi.org/10.1016/0924-2244(92)90145-m).

ASHBY, Mark K.; HOUMARD, Jean. Cyanobacterial Two-Component Proteins: structure, diversity, distribution, and evolution. **Microbiology And Molecular Biology Reviews**, [S.L.], v. 70, n. 2, p. 472-509, jun. 2006. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/mnbr.00046-05>

BAHRUTH, E. B.; ANTUNES, A. M. S.; BOMTEMPO, J. V. **Prospecção tecnológica na priorização de atividades de CeT. In: Gestão em Biotecnologia**. Editora E-papers. Rio de Janeiro. p. 300–324, 2006.

BARROS, Katharina Kardilene da Silva. **Produção de biomassa de *Arthrospira platensis* (*Spirulina platensis*) para alimentação humana**. 2010. 110 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2010.

BARSANTI, Laura. **Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology**. Boca Raton: Crc Press, 2006.

BASHEVA, Diyana; MOTEN, Dzhemal; STOYANOV, Plamen; BELKINOVA, Detelina; MLADENOV, Rumen; TENEVA, Ivanka. Content of phycoerythrin, phycocyanin, allophycocyanin and phycoerythrocyanin in some cyanobacterial strains:

applications. **Engineering In Life Sciences**, [S.L.], v. 18, n. 11, p. 861-866, 13 jun. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/elsc.201800035>.

BENNETT, Allen; BOGORAD, Lawrence. COMPLEMENTARY CHROMATIC ADAPTATION IN A FILAMENTOUS BLUE-GREEN ALGA. **Journal Of Cell Biology**, [S.L.], v. 58, n. 2, p. 419-435, 1 ago. 1973. Rockefeller University Press. <http://dx.doi.org/10.1083/jcb.58.2.419>.

BERMEJO-BESCÓS, Paloma; PIÑERO-ESTRADA, Enrique; FRESNO, Ángel Ma Villar del. Neuroprotection by Spirulina platensis protean extract and phycocyanin against iron-induced toxicity in SH-SY5Y neuroblastoma cells. **Toxicology In Vitro**, [S.L.], v. 22, n. 6, p. 1496-1502, set. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tiv.2008.05.004>.

BHAT, Vadiraja B.; MADYASTHA, K.M.. Scavenging of Peroxynitrite by Phycocyanin and Phycocyanobilin from Spirulina platensis: protection against oxidative damage to dna. **Biochemical And Biophysical Research Communications**, [S.L.], v. 285, n. 2, p. 262-266, jul. 2001. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1006/bbrc.2001.5195>.

BHOWMICK, Goldy de; SUBRAMANIAN, Ganeshan; MISHRA, Sandhya; SEN, Ramkrishna. Raceway pond cultivation of a marine microalga of Indian origin for biomass and lipid production: a case study. **Algal Research**, [S.L.], v. 6, p. 201-209, out. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2014.07.005>.

BINAGHI, L.; BORGHI, A.D.; LODI, A.; CONVERTI, A.; BORGHI, M.D. Batch and fed-batch uptake of carbon dioxide by Spirulina platensis. **Process Biochemistry**, v. 38, p. 1341–1346, 2003.

Blackwell Science. p. 97-115. 2004

BOROWITZKA, Michael A.. High-value products from microalgae—their development and commercialisation. **Journal Of Applied Phycology**, [S.L.], v. 25, n. 3, p. 743-756, 29 jan. 2013. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10811-013-9983-9>.

BORSCHIVER, S.; SILVA, A.L.R., 2016. *Technology Roadmap – Planejamento Estratégico para alinhar Mercado-Produto-Tecnologia*. ISBN: 9788571933866 1.a Edição – 2016.

BORSCHIVER, Suzana. **TECHNOLOGY ROADMAP – PLANEJAMENTO ESTRATÉGICO PARA ALINHAR MERCADO-PRODUTO-TECNOLOGIA**. Rio de Janeiro: Interciência, 2016.

BRIÃO, Vandrê Barbosa; SBEGHEN, Alessandro Lima; COLLA, Luciane Maria; CASTOLDI, Vinicius; SEGUENKA, Bruna; SCHIMIDT, Guilherme de Oliveira; COSTA, Jorge Alberto Vieira. Is downstream ultrafiltration enough for production of food-grade phycocyanin from *Arthrospira platensis* **Journal Of Applied Phycology**, [S.L.], v. 32, n. 2, p. 1129-1140, 3 jan. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10811-019-02006-1>.

BRIÃO, Vandrê Barbosa; SEGUENKA, Bruna; ZANON, Caroline Dalcin; MILANI, Adriana. Cake formation and the decreased performance of whey ultrafiltration. **Acta Scientiarum. Technology**, [S.L.], v. 39, n. 5, p. 517-524, 15 dez. 2017. Universidade Estadual de Maringa. <http://dx.doi.org/10.4025/actascitechnol.v39i5.27585>.

CANONGIA, Claudia; SANTOS, Dalci M.; SANTOS, Marcio M.; ZACKIEWICZ, Mauro. Foresight, inteligência competitiva e gestão do conhecimento: instrumentos para a gestão da inovação. **Gestão & Produção**, [S.L.], v. 11, n. 2, p. 231-238, ago. 2004. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0104-530x2004000200009>.

CAPELLI, Bob; CYSEWSKI, Gerald R.. Potential health benefits of spirulina microalgae\*. **Nutrafoods**, [S.L.], v. 9, n. 2, p. 19-26, abr. 2010. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/bf03223332>.

CARVALHO, Debora Rodrigues de. **PRODUÇÃO DE CORANTE NATURAL A PARTIR DO CULTIVO DA MICROALGA SPIRULINA MAXIMA PARA ADIÇÃO EM ALIMENTOS**. 2019. 73 f. Tese (Mestrado) - Curso de Engenharia de Bioprocessos, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

CATASSI, A.; CESARIO, A.; ARZANI, D.; MENICHINI, P.; ALAMA, A.; BRUZZO, C.; IMPERATORI, A.; ROTOLO, N.; GRANONE, P.; RUSSO, P.. Characterization of apoptosis induced by marine natural products in non small cell lung cancer A549 cells. **Cellular And Molecular Life Sciences**, [S.L.], v. 63, n. 19-20, p. 2377-2386, 28 set. 2006. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00018-006-6264-7>.

CHANDRA, Rashmi; PARRA, Roberto; IQBAL, Hafiz M. N.. Phycobiliproteins: a novel green tool from marine origin blue-green algae and red algae. **Protein & Peptide Letters**, [S.L.],

v. 24, n. 2, p. 118-125, 4 jan. 2017. Bentham Science Publishers Ltd.. <http://dx.doi.org/10.2174/0929866523666160802160222>.

CHANEVA, Ganka; FURNADZHIEVA, Sevdalina; MINKOVA, Kaledona; LUKAVSKY, Jaromir. Effect of light and temperature on the cyanobacterium *Arthonema africanum* - a prospective phycobiliprotein-producing strain. **Journal Of Applied Phycology**, [S.L.], v. 19, n. 5, p. 537-544, 23 mar. 2007. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10811-007-9167-6>.

CHARPY, L.; CASARETO, B. E.; LANGLADE, M. J.; SUZUKI, Y.. Cyanobacteria in Coral Reef Ecosystems: a review. *Journal Of Marine Biology*, [S.L.], v. 2012, p. 1-9, 2012. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2012/259571>.

CHEMAT, F.; LUCCHESI, M.e.; SMADJA, J.; FAVRETTO, L.; COLNAGHI, G.; VISINONI, F.. Microwave accelerated steam distillation of essential oil from lavender: a rapid, clean and environmentally friendly approach. **Analytica Chimica Acta**, [S.L.], v. 555, n. 1, p. 157-160, jan. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2005.08.071>.

CHEN, Chun-Yen; KAO, Pei-Chun; TSAI, Chia-Jung; LEE, Duu-Jong; CHANG, Jo-Shu. Engineering strategies for simultaneous enhancement of C-phycocyanin production and CO<sub>2</sub> fixation with *Spirulina platensis*. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 145, p. 307-312, out. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2013.01.054>.

CHIA, Shir Reen; CHEW, Kit Wayne; SHOW, Pau Loke; XIA, Ao; HO, Shih-Hsin; LIM, Jun Wei. *Spirulina platensis* based biorefinery for the production of value-added products for food and pharmaceutical applications. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 289, p. 121727, out. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121727>.

CHOI, Woon; LEE, Hyeon. Effect of Ultrasonic Extraction on Production and Structural Changes of C-Phycocyanin from Marine *Spirulina maxima*. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 19, n. 1, p. 220-231, 11 jan. 2018. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms19010220>.

CHRONAKIS, Ioannis s; GALATANU, Anca Nicoleta; NYLANDER, Tommy; LINDMAN, Björn. The behaviour of protein preparations from blue-green algae (*Spirulina platensis* strain *Pacifica*) at the air/water interface. **Colloids And Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [S.L.], v. 173, n. 1-3, p. 181-192, nov. 2000. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0927-7757\(00\)00548-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0927-7757(00)00548-3).

CIFERRI, O.; Spirulina, the edible microorganism. **Microbiology Reviews**, Pavia, v. 47, n. 4, p. 551-578, dez. 1984.

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.

COLLA, Luciane Maria; REINEHR, Christian Oliveira; REICHERT, Carolina; COSTA, Jorge Alberto Vieira. Production of biomass and nutraceutical compounds by *Spirulina platensis* under different temperature and nitrogen regimes. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 98, n. 7, p. 1489-1493, maio 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2005.09.030>.

COSTA, J.A.V., FREITAS, B.C.B., ROSA, G.M., MORAES, L., MORAIS, M.G., MITCHELL, B.G., Operational and Economic Aspects of *Spirulina*-based Biorefinery, **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 292, nov. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121946>.

DASGUPTA, Chitrlekha Nag. Algae as a Source of Phycocyanin and Other Industrially Important Pigments. **Algal Biorefinery: An Integrated Approach**, [S.L.], p. 253-276, 2015. Springer International Publishing. [http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-22813-6\\_12](http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-22813-6_12).

DENIZ, Irem; OZEN, Mehmet Ozgun; YESIL-CELIK TAS, Ozlem. Supercritical fluid extraction of phycocyanin and investigation of cytotoxicity on human lung cancer cells. **The Journal Of Supercritical Fluids**, [S.L.], v. 108, p. 13-18, fev. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.supflu.2015.10.015>.

DESMORIEUX, Hélène; DECAEN, Nadège. WITHDRAWN: convective drying of spirulina in thin layer. **Journal Of Food Engineering**, [S.L.], v. 77, n. 1, p. 64-70, nov. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.05.060>.

DUANGSEE, Rachen. Phycocyanin extraction from *Spirulina platensis* and extract stability under various pH and temperature. **Asian Journal Of Food And Agro-Industry**, Bangkok, v. 4, n. 2, p. 819-826, out. 2009.

EBAID, Reham; ELHUSSAINY, Elhussainy; EL-SHOUBAGY, Safinaz; ALI, Sameh; ABOMOHR A, Abd El-Fatah. Protective effect of *Arthrospira platensis* against liver injury induced by copper nanoparticles. **Oriental Pharmacy And Experimental Medicine**, [S.L.],

v. 17, n. 3, p. 203-210, 24 jul. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s13596-017-0264-z>.

ERIKSEN, Niels T.. Production of phycocyanin—a pigment with applications in biology, biotechnology, foods and medicine. **Applied Microbiology And Biotechnology**, [S.L.], v. 80, n. 1, p. 1-14, ago. 2008. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-008-1542-y>.

FAIRBANKS, H.V.. Drying powdered coal with the aid of ultrasound. **Powder Technology**, [S.L.], v. 40, n. 1-3, p. 257-264, out. 1984. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0032-5910\(84\)85071-8](http://dx.doi.org/10.1016/0032-5910(84)85071-8).

FARAG, Mayada Ragab; ALAGAWANY, Mahmoud; EL-HAC, Mohamed Ezzat Abd; DHAMA, Kuldeep. Nutritional and Healthical Aspects of Spirulina (Arthrospira) for Poultry, Animals and Human. **International Journal Of Pharmacology**, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 36-51, 15 dez. 2015. Science Alert. <http://dx.doi.org/10.3923/ijp.2016.36.51>.

FASAEI, F.; BITTER, J.H.; SLEGERS, P.M.; VAN BOXTEL, A.J.B.. Techno-economic evaluation of microalgae harvesting and dewatering systems. **Algal Research**, [S.L.], v. 31, p. 347-362, abr. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2017.11.038>.

FERNÁNDEZ-ROJAS, Berenice; HERNÁNDEZ-JUÁREZ, Jesús; PEDRAZA-CHAVERRI, José. Nutraceutical properties of phycocyanin. **Journal Of Functional Foods**, [S.L.], v. 11, p. 375-392, nov. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2014.10.011>.

FIGUEIRA, Felipe da Silva; MORAES, Caroline Costa; KALIL, Susana Juliano. C-PHYCOCYANIN PURIFICATION: multiple processes for different applications. **Brazilian Journal Of Chemical Engineering**, [S.L.], v. 35, n. 3, p. 1117-1128, set. 2018. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/0104-6632.20180353s20170160>.

FOX, R. D. Spirulina production & potential. França: Edisud. ISBN 2-84744-883-X. 1996

FURMANIAK, Magda A.; MISZTAK, Agnieszka E.; FRANCUK, Martyna D.; WILMOTTE, Annick; WALERON, Małgorzata; WALERON, Krzysztof F.. Edible Cyanobacterial Genus Arthrospira: actual state of the art in cultivation methods, genetics, and application in medicine. **Frontiers In Microbiology**, [S.L.], v. 8, n. [], p. 1-21, 18 dez. 2017. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2017.02541>.

GACESA, P.. **Tecnología de las enzimas**. Zaragoza: Acribia, 1990.

GACESA, Peter. **Tecnología de las enzimas**. Saragoça: Editorial Acribia, S.A, 1990. 226 p

GAMI, Bharat. Cultivation of Spirulina species in different liquid media. **Journal Of Algal Biomass Utilization**, Ahmedabad, v. 3, n. 2, p. 15-26, 2011.

GLAZER, Alexander N.. Phycobiliproteins — a family of valuable, widely used fluorophores. **Journal Of Applied Phycology**, [S.L.], v. 6, n. 2, p. 105-112, abr. 1994. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/bf02186064>.

González, R., et al. Anti-Inflammatory Activity of Phycocyanin Extract in Acetic Acid-Induced Colitis in Rats. **Pharmacological Research**, vol. 39, no 1, janeiro de 1999, p. 55–59.

GROBBELAAR, J.U. **Algal nutrition: mineral nutrition**. In: RICHMOND A, editor.

GROBBELAAR, Johan U.. Photosynthetic characteristics of Spirulina platensis grown in commercial-scale open outdoor raceway ponds: what do the organisms tell us?. **Journal Of Applied Phycology**, [S.L.], v. 19, n. 5, p. 591-598, 4 abr. 2007. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10811-007-9172-9>.

GÜROY, Betül; KARADAL, Onur; MANTOĞLU, Serhan; CEBECİ, Oya Irmak. Effects of different drying methods on C-phycoyanin content of Spirulina platensis powder. **Ege Journal Of Fisheries And Aquatic Sciences**, [S.L.], v. 34, n. 2, p. 129-132, 12 jun. 2017. Ege University Faculty of Fisheries. <http://dx.doi.org/10.12714/egejfas.2017.34.2.02>.

Habib, M.A.B.; Parvin, M.; Huntington, T.C.; Hasan, M.R. **A review on culture, production and use of spirulina as food for humans and feeds for domestic animals and fish**. FAO Fisheries and Aquaculture Circular. No. 1034. Rome, FAO. 2008. 33p.

Handbook of Microalgal culture: Biotechnology and Applied Phycology. Oxford:

HARCUM, S.. Purification of protein solutions. **Biologically Inspired Textiles**, [S.L.], p. 26-43, 2008. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1533/9781845695088.1.26>.

HARMA, Gaurav. Effect of Carbon Content, Salinity and pH on Spirulina platensis for Phycocyanin, Allophycocyanin and Phycoerythrin Accumulation. **Journal Of Microbial & Biochemical Technology**, [S.L.], v. 06, n. 04, p. 202-206, abr. 2014. OMICS Publishing Group. <http://dx.doi.org/10.4172/1948-5948.1000144>.

HERRERA, A.; BOUSSIBA, S.; NAPOLEONE, V.; HOHLBERG, A.. Recovery of c-phycoyanin from the cyanobacterium *Spirulina maxima*. **Journal Of Applied Phycology**, [S.L.], v. 1, n. 4, p. 325-331, dez. 1989. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00003469>.

ILTER, Işıl; AKYđL, Saniye; DEMIREL, Zeliha; KOÇ, Mehmet; CONK-DALAY, Meltem; KAYMAK-ERTEKIN, Figen. Optimization of phycocyanin extraction from *Spirulina platensis* using different techniques. **Journal Of Food Composition And Analysis**, [S.L.], v. 70, p. 78-88, jul. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2018.04.007>.

JAOUEN, Pascal; LÉPINE, Bertrand; ROSSIGNOL, Nathalie; ROYER, Romuald; QUÉMÉNEUR, Francis. Larification and concentration with membrane technology of a phycocyanin solution extracted from *Spirulina platensis*. **Biotechnology Techniques**, [S.L.], v. 13, n. 12, p. 877-881, 1999. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1023/a:1008980424219>.

JENSEN, Gitte S.; GINSBERG, Donald I.; DRAPEAU, Christian (2001). "Blue-Green Algae as an Immuno-Enhancer and Biomodulator". **Journal of the American Nutraceutical Association**. 3 (4): 24–30.

JESUS, Cristiane Santos de; UEBEL, Lívia da Silva; COSTA, Samantha Serra; MIRANDA, Andréa Lobo; MORAIS, Etiele Greque de; MORAIS, Michele Greque de; COSTA, Jorge Alberto Vieira; NUNES, Itaciara Larroza; FERREIRA, Ederlan de Souza; DRUZIAN, Janice Izabel. Outdoor pilot-scale cultivation of *Spirulina* sp. LEB-18 in different geographic locations for evaluating its growth and chemical composition. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 256, p. 86-94, maio 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.b>

JESUS, Cristiane Santos de; UEBEL, Lívia da Silva; COSTA, Samantha Serra; MIRANDA, Andréa Lobo; MORAIS, Etiele Greque de; MORAIS, Michele Greque de; COSTA, Jorge Alberto Vieira; NUNES, Itaciara Larroza; FERREIRA, Ederlan de Souza; DRUZIAN, Janice Izabel. Outdoor pilot-scale cultivation of *Spirulina* sp. LEB-18 in different geographic locations for evaluating its growth and chemical composition. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 256, p. 86-94, maio 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2018.01.149>.

JIMÉNEZ, Carlos; COSSIO, Belén R; LABELLA, Diego; NIELL, F Xavier. The Feasibility of industrial production of *Spirulina* (*Arthrospira*) in Southern Spain. **Aquaculture**, [S.L.], v.

217, n. 1-4, p. 179-190, mar. 2003. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0044-8486\(02\)00118-7](http://dx.doi.org/10.1016/s0044-8486(02)00118-7).

JOSEPH, Jeswin; T, Karthika; AJAY, Ariya; DAS, V.R. Akshay; RAJ, V. Stalin. Green tea and Spirulina extracts inhibit SARS, MERS, and SARS-2 spike pseudotyped virus entry in vitro. **Biorxiv**, [S.L.], p. 1-28, 23 jun. 2020. Cold Spring Harbor Laboratory. <http://dx.doi.org/10.1101/2020.06.20.162701>.

JULIANTI, Elin; SUSANTI, Susanti; SINGGIH, Marlia; MULYANI, Laida Neti. Optimization of Extraction Method and Characterization of Phycocyanin Pigment from Spirulina platensis. **Journal Of Mathematical And Fundamental Sciences**, [S.L.], v. 51, n. 2, p. 168-176, ago. 2019. The Institute for Research and Community Services (LPPM) ITB. <http://dx.doi.org/10.5614/j.math.fund.sci.2019.51.2.6>.

KA EW DAM, Sakawduan. KINETIC MODELS FOR PHYCOCYANIN PRODUCTION BY FED-BATCH CULTIVATION OF THE SPIRULINA PLATENSIS. **International Journal Of Geomate**, [S.L.], v. 17, n. 61, p. 187-194, 1 set. 2019. International Journal of Geomate. <http://dx.doi.org/10.21660/2019.61.89205>.

KARKOS, P. D.; LEONG, S. C.; KARKOS, C. D.; SIVAJI, N.; ASSIMAKOPOULOS, D. A.. Spirulinain Clinical Practice: evidence-based human applications. **Evidence-Based Complementary And Alternative Medicine**, [S.L.], v. 2011, p. 1-4, 2011. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1093/ecam/nen058>.

KHAN, Bushra; SINDHYAN, Ramya; DIVAN, Anushi; RATHOD, Sejal. Extraction, characterization & applications of natural dyes. **Annals Of Plant Sciences**, [S.L.], v. 7, n. 11, p. 2463-2467, 1 nov. 2018. Adhya Biosciences Pvt. Ltd.. <http://dx.doi.org/10.21746/aps.2018.7.11.4>.

KIRILOVSKY, Diana. Modulating energy arriving at photochemical reaction centers: orange carotenoid protein-related photoprotection and state transitions. **Photosynthesis Research**, [S.L.], v. 126, n. 1, p. 3-17, 20 ago. 2014. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11120-014-0031-7>.

KOVAČ, D.; BABIĆ, O.; MILOVANOVIĆ, I.; MIŁAN, A.; SIMEUNOVIĆ, J.. The production of biomass and phycobiliprotein pigments in filamentous cyanobacteria: the impact of light and carbon sources. **Applied Biochemistry And Microbiology**, [S.L.], v. 53, n. 5, p. 539-545, set. 2017. Pleiades Publishing Ltd. <http://dx.doi.org/10.1134/s000368381705009x>.

KOZHUMMAL, Ranjitha. Influence of environmental factors on accessory pigments of *Nostoc muscorum*. **Indian J. Microbiol**, [S.I.], v. 1, n. 45, p. 67-69, mar. 2005.

KUDDUS, M.; SINGH, P.; THOMAS, G.; AL-HAZIMI, Awdah. Recent Developments in Production and Biotechnological Applications of C-Phycocyanin. **Biomed Research International**, [S.L.], v. 2013, p. 1-9, 2013. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/742859>.

KULA, Maria-Regina; SCHÜTTE, Horst. Purification of Proteins and the Disruption of Microbial Cells. **Biotechnology Progress**, [S.L.], v. 3, n. 1, p. 31-42, mar. 1987. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/btpr.5420030107>.

KUMAR, Kanhaiya; DASGUPTA, Chitralekha Nag; NAYAK, Bikram; LINDBLAD, Peter; DAS, Debabrata. Development of suitable photobioreactors for CO<sub>2</sub> sequestration addressing global warming using green algae and cyanobacteria. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 102, n. 8, p. 4945-4953, abr. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2011.01.054>.

LAUCERI, Rosaria; ZITTELLI, Graziella Chini; MASERTI, Biancaelena; TORZILLO, Giuseppe. Purification of phycocyanin from *Arthrospira platensis* by hydrophobic interaction membrane chromatography. **Algal Research**, [S.L.], v. 35, p. 333-340, nov. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2018.09.003>

LI, B.; CHU, X.; GAO, M.; LI, W.. Apoptotic mechanism of MCF-7 breast cells in vivo and in vitro induced by photodynamic therapy with C-phycocyanin. **Acta Biochimica Et Biophysica Sinica**, [S.L.], v. 42, n. 1, p. 80-89, 14 dez. 2009. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/abbs/gmp104>.

LIMA, Gustavo M.; TEIXEIRA, Pedro C.N.; TEIXEIRA, Cláudia M.L.L.; FILÓCOMO, Diego; LAGE, Celso L.s.. Influence of spectral light quality on the pigment concentrations and biomass productivity of *Arthrospira platensis*. **Algal Research**, [S.L.], v. 31, p. 157-166, abr. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2018.02.012>.

LIU, Qian; HUANG, Yinghong; ZHANG, Ronghua; CAI, Tiange; CAI, Yu. Medical Application of *Spirulina platensis* Derived C-Phycocyanin. **Evidence-Based Complementary And Alternative Medicine**, [S.L.], v. 2016, p. 1-14, 2016. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/7803846>.

LOURENÇO, S. O. **Cultivo de Microalgas Marinhas: Princípios e Aplicações**. São Carlos: RiMa, p. 606p., 2006

LUPATINI, Anne Luize; COLLA, Luciane Maria; CANAN, Cristiane; COLLA, Eliane. Potential application of microalga *Spirulina platensis* as a protein source. **Journal Of The Science Of Food And Agriculture**, [S.L.], v. 97, n. 3, p. 724-732, 12 set. 2016. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.7987>.

MANIRAFASHA, Emmanuel; NDIKUBWIMANA, Theoneste; ZENG, Xianhai; LU, Yinghua; JING, Keju. Phycobiliprotein: potential microalgae derived pharmaceutical and biological reagent. **Biochemical Engineering Journal**, [S.L.], v. 109, p. 282-296, maio 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bej.2016.01.025>.

MARKOU, Giorgos; VANDAMME, Dries; MUYLAERT, Koenraad. Ammonia inhibition on *Arthrospira platensis* in relation to the initial biomass density and pH. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 166, p. 259-265, ago. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.05.040>.

MARQUEZ, Facundo J.; SASAKI, Ken; KAKIZONO, Toshihide; NISHIO, Naomichi; NAGAI, Shiro. Growth characteristics of *Spirulina platensis* in mixotrophic and heterotrophic conditions. **Journal Of Fermentation And Bioengineering**, [S.L.], v. 76, n. 5, p. 408-410, jan. 1993. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0922-338x\(93\)90034-6](http://dx.doi.org/10.1016/0922-338x(93)90034-6).

MARTÍNEZ, Juan Manuel; LUENGO, Elisa; SALDAÑA, Guillermo; ÁLVAREZ, Ignacio; RASO, Javier. C-phycoerythrin extraction assisted by pulsed electric field from *Arthrospira platensis*. **Food Research International**, [S.L.], v. 99, p. 1042-1047, set. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2016.09.029>.

MATA, Teresa; MARTINS, Antonio; OLIVEIRA, Octavio; OLIVEIRA, Sandra; MENDES, Adelio; CAETANO, Nidia. Lipid content and productivity of *Arthrospira platensis* and *Chlorella vulgaris* under mixotrophic conditions and salinity stress. **Chemical Engineering Transactions**, [S.L.], v. 49, p. 187-192, abr. 2016. AIDIC: Italian Association of Chemical Engineering. <http://dx.doi.org/10.3303/CET1649032>.

MELLOU, F.; VARVARESOU, A.; PAPAGEORGIOU, S.. Renewable sources: applications in personal care formulations. **International Journal Of Cosmetic Science**, [S.L.], v. 41, n. 6, p. 517-525, 20 nov. 2019. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/ics.12564>.

MOLINA GRIMA, E. et al. Downstream processing of cellmass and products. In: RICHMOND, A. (Ed). **Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology**. Oxford: Blackwell Science, 2004. p.215-251.

MOOIJ, Peter R; STOUTEN, Gerben R; VAN LOOSDRECHT, Mark Cm; KLEEREBEZEM, Robbert. Ecology-based selective environments as solution to contamination in microalgal cultivation. **Current Opinion In Biotechnology**, [S.L.], v. 33, p. 46-51, jun. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.copbio.2014.11.001>.

MORAES, Caroline Costa. C-PHYCOCYANIN EXTRACTION PROCESS FOR LARGE-SCALE USE. **Journal Of Food Biochemistry**, Rio Grande do Sul, v. 34, n. 1, p. 133-148, mar. 2008.

MORAIS, Michele Greque de; PRATES, Denise da Fontoura; MOREIRA, Juliana Botelho; DUARTE, Jessica Hartwig; COSTA, Jorge Alberto Vieira. Phycocyanin from Microalgae: properties, extraction and purification, with some recent applications. **Industrial Biotechnology**, [S.L.], v. 14, n. 1, p. 30-37, fev. 2018. Mary Ann Liebert Inc. <http://dx.doi.org/10.1089/ind.2017.0009>.

MORAIS, Michele Greque de; PRATES, Denise da Fontoura; MOREIRA, Juliana Botelho; DUARTE, Jessica Hartwig; COSTA, Jorge Alberto Vieira. Phycocyanin from Microalgae: properties, extraction and purification, with some recent applications. **Industrial Biotechnology**, [S.L.], v. 14, n. 1, p. 30-37, fev. 2018. Mary Ann Liebert Inc. <http://dx.doi.org/10.1089/ind.2017.0009>.

MORAIS, Michele Greque de; PRATES, Denise da Fontoura; MOREIRA, Juliana Botelho; DUARTE, Jessica Hartwig; COSTA, Jorge Alberto Vieira. Phycocyanin from Microalgae: properties, extraction and purification, with some recent applications. **Industrial Biotechnology**, [S.L.], v. 14, n. 1, p. 30-37, fev. 2018. Mary Ann Liebert Inc. <http://dx.doi.org/10.1089/ind.2017.0009>.

MOREIRA, Juliana Botelho; COSTA, Jorge Alberto Vieira; MORAIS, Michele Greque de. Evaluation of different modes of operation for the production of *Spirulina* sp. **Journal Of Chemical Technology & Biotechnology**, [S.L.], v. 91, n. 5, p. 1345-1348, 22 jun. 2015. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jctb.4729>.

MORENO, J. Outdoor cultivation of a nitrogen-fixing marine cyanobacterium, *Anabaena* sp. ATCC 33047. **Biomolecular Engineering**, [S.L.], v. 20, n. 4-6, p. 191-197, jul. 2003. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1389-0344\(03\)00051-0](http://dx.doi.org/10.1016/s1389-0344(03)00051-0).

MÜHLING, Martin; BELAY, Amha; WHITTON, Brian A.. Screening *Arthrospira* (*Spirulina*) strains for heterotrophy. **Journal Of Applied Phycology**, [S.L.], v. 17, n. 2, p. 129-135, mar. 2005. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10811-005-7214-8>

MUJUMDAR, A. S.; HUANG, L. X.. Global R&D Needs in Drying. **Drying Technology**, [S.L.], v. 25, n. 4, p. 647-658, 19 abr. 2007. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/07373930701285886>.

MYSLIWA-KURDZIEL, Beata; SOLYMOSI, Katalin. Phycobilins and Phycobiliproteins Used in Food Industry and Medicine. **Mini-Reviews In Medicinal Chemistry**, [S.L.], v. 17, n. 13, p. 1-19, 31 jul. 2017. Bentham Science Publishers Ltd.. <http://dx.doi.org/10.2174/1389557516666160912180155>.

NEVES, Fábio de Farias; DEMARCO, Mariana; TRIBUZI, Giustino. Drying and Quality of Microalgal Powders for Human Alimentation. **Microalgae - From Physiology To Application**, [S.L.], p. 1-20, 22 jan. 2020. IntechOpen. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.89324>.

NIU, Jian-Feng; WANG, Guang-Ce; TSENG, Cheng-Kui. Method for large-scale isolation and purification of R-phycoerythrin from red alga *Polysiphonia urceolata* Grev. **Protein Expression And Purification**, [S.L.], v. 49, n. 1, p. 23-31, set. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pep.2006.02.001>.

NOURBAKHS, Himan; EMAM-DJOMEH, Zahra; MIRSAEEDGHAZI, Hossein; OMID, Mahmoud; MOIENI, Sohrab. Study of different fouling mechanisms during membrane clarification of red plum juice. **International Journal Of Food Science & Technology**, [S.L.], v. 49, n. 1, p. 58-64, 1 ago. 2013. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/ijfs.12274>.

NUR, M. M. Azimatun; GARCIA, G. M.; BOELEN, P.; BUMA, A. G. J.. Enhancement of C-phycoerythrin productivity by *Arthrospira platensis* when growing on palm oil mill effluent in a two-stage semi-continuous cultivation mode. **Journal Of Applied Phycology**, [S.L.], v. 31, n. 5, p. 2855-2867, 8 maio 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10811-019-01806-9>.

OGBONDA, Kemka H.; AMINIGO, Rebecca E.; ABU, Gideon O.. Influence of temperature and pH on biomass production and protein biosynthesis in a putative *Spirulina* sp. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 98, n. 11, p. 2207-2211, ago. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2006.08.028>.

OLAIZOLA, Miguel. Commercial development of microalgal biotechnology: from the test tube to the marketplace. **Biomolecular Engineering**, [S.L.], v. 20, n. 4-6, p. 459-466, jul. 2003. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1389-0344\(03\)00076-5](http://dx.doi.org/10.1016/s1389-0344(03)00076-5).

OLIVEIRA, M. G.; FREITAS, J. S.; FLEURY, A. L.; ROZENFELD, H.; PHAAL, R.; PROBERT, D.; CHENG, L. C. Roadmapping: uma abordagem estratégica para o gerenciamento da inovação em produtos, serviços e tecnologias. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. 181 p.

PANDEY, J. P.. Potential of Different Light Intensities on the Productivity of *Spirulina maxima*. **Journal Of Algal Biomass Utilization**, [S.I.], v. 3, n. 2, p. 9-14, ago. 2011.

PORTER, G.; TREDWELL, C.J.; SEARLE, G.F.W.; BARBER, J.. Picosecond time-resolved energy transfer in *Porphyridium cruentum*. Part I. In the intact alga. **Biochimica Et Biophysica Acta (Bba) - Bioenergetics**, [S.L.], v. 501, n. 2, p. 232-245, fev. 1978. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0005-2728\(78\)90029-4](http://dx.doi.org/10.1016/0005-2728(78)90029-4).

PRASANNA, R.; SOOD, A.; SURESH, A.; NAYAK, S.; KAUSHIK, B.. Potentials and applications of algal pigments in biology and industry. **Acta Botanica Hungarica**, [S.L.], v. 49, n. 1-2, p. 131-156, mar. 2007. Akademiai Kiado Zrt.. <http://dx.doi.org/10.1556/abot.49.2007.1-2.14>.

PULZ, Otto; GROSS, Wolfgang. Valuable products from biotechnology of microalgae. **Applied Microbiology And Biotechnology**, [S.L.], v. 65, n. 6, p. 635-648, 6 ago. 2004. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-004-1647-x>.

PUSHPARAJ, Benjamin; PELOSI, Elio; TREDICI, Mario R.; PINZANI, Edoardo; MATERASSI, Riccardo. An integrated culture system for outdoor production of microalgae and cyanobacteria. **Journal Of Applied Phycology**, [S.L.], v. 9, n. 2, p. 113-119, abr. 1997. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1023/a:1007988924153>.

RADMANN, E.M.; REINEHR, C.O.; COSTA, J.A.V.. Optimization of the repeated batch cultivation of microalga *Spirulina platensis* in open raceway ponds. **Aquaculture**, [S.L.], v. 265, n. 1-4, p. 118-126, maio 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.02.001>.

RAJA, Rathinam; HEMAISWARYA, Shanmugam; GANESAN, Venkatesan; CARVALHO, Isabel S.. Recent developments in therapeutic applications of Cyanobacteria. **Critical Reviews In Microbiology**, [S.L.], p. 1-12, 28 jan. 2015. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.3109/1040841x.2014.957640>.

RODRIGUES, Mayla Santos. **Avaliação do cultivo de *Spirulina platensis* utilizando simultaneamente nitrato de potássio e cloreto de amônio como fontes de nitrogênio**. 2008. 149 f. Tese (Mestrado) - Curso de Avaliação do Cultivo de *Spirulina Platensis* Utilizando Simultaneamente Nitrato de Potássio e Cloreto de Amônio Como Fontes de Nitrogênio., Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

ROMAY, Ch.; GONZALEZ, R.; LEDON, N.; REMIREZ, D.; RIMBAU, V.. C-Phycocyanin: a biliprotein with antioxidant, anti-inflammatory and neuroprotective effects. **Current Protein & Peptide Science**, [S.L.], v. 4, n. 3, p. 207-216, 1 jun. 2003. Bentham Science Publishers Ltd.. <http://dx.doi.org/10.2174/1389203033487216>.

ROSA, Gabriel Martins da; MORAES, Luiza; CARDIAS, Bruna Barcelos; SOUZA, Michele da Rosa Andrade Zimmermann de; COSTA, Jorge Alberto Vieira. Chemical absorption and CO<sub>2</sub> biofixation via the cultivation of *Spirulina* in semicontinuous mode with nutrient recycle. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 192, p. 321-327, set. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.05.020>.

SAFAEI, Mahdiah; MALEKI, Hadi; SOLEIMANPOUR, Hamidreza; NOROUZY, Amir; ZAHIRI, Hossein Shahbani; VALI, Hojatollah; NOGHABI, Kambiz Akbari. Development of a novel method for the purification of C-phycocyanin pigment from a local cyanobacterial strain *Limnothrix* sp. NS01 and evaluation of its anticancer properties. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 9, n. 1, p. 2-16, 1 jul. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-019-45905-6>.

SANTIAGO-SANTOS, Ma.Carmen; PONCE-NOYOLA, Teresa; OLVERA-RAMÁREZ, Roxana; ORTEGA-LÓPEZ, Jaime; CAÑIZARES-VILLANUEVA, Rosa Olivia. Extraction and

purification of phycocyanin from *Calothrix* sp. **Process Biochemistry**, [S.L.], v. 39, n. 12, p. 2047-2052, out. 2004. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2003.10.007>.

SARADA, R; PILLAI, Manoj G; RAVISHANKAR, G.A. Phycocyanin from *Spirulina* sp: influence of processing of biomass on phycocyanin yield, analysis of efficacy of extraction methods and stability studies on phycocyanin. **Process Biochemistry**, [S.L.], v. 34, n. 8, p. 795-801, out. 1999. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0032-9592\(98\)00153-8](http://dx.doi.org/10.1016/s0032-9592(98)00153-8).

SEKAR, Soundarapandian; CHANDRAMOHAN, Muruganandham. Phycobiliproteins as a commodity: trends in applied research, patents and commercialization. **Journal Of Applied Phycology**, [S.L.], v. 20, n. 2, p. 113-136, 16 ago. 2007. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10811-007-9188-1>.

SHAO, W.; EBAID, R.; EL-SHEEKH, M.; ABOMOHRA, A.; ELADEL, H.. Pharmaceutical applications and consequent environmental impacts of *Spirulina* (*Arthrospira*): an overview. **Grasas y Aceites**, [S.L.], v. 70, n. 1, p. 292, 28 jan. 2019. Editorial CSIC. <http://dx.doi.org/10.3989/gya.0690181>.

Silva, L. A., **Estudo do processo biotecnológico de produção, extração e recuperação do pigmento ficocianina da *Spirulina platensis*** (Dissertação de mestrado). Departamento de Engenharia Química, Setor de Engenharia, Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2008

SILVA, Neiton C.; DUARTE, Cláudio R.; BARROZO, Marcos A. S.. Analysis of the use of a non-conventional rotary drum for dehydration of microalga *Spirulina platensis*. **Bioprocess And Biosystems Engineering**, [S.L.], v. 43, n. 8, p. 1359-1367, 26 mar. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00449-020-02329-1>.

SILVEIRA, S.T.; BURKERT, J.F.M.; COSTA, J.A.V.; BURKERT, C.A.V.; KALIL, S.J.. Optimization of phycocyanin extraction from *Spirulina platensis* using factorial design. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 98, n. 8, p. 1629-1634, maio 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2006.05.050>.

SLOTH, Jenni K.; WIEBE, Marilyn G.; ERIKSEN, Niels T.. Accumulation of phycocyanin in heterotrophic and mixotrophic cultures of the acidophilic red alga *Galdieria sulphuraria*. **Enzyme And Microbial Technology**, [S.L.], v. 38, n. 1-2, p. 168-175, jan. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.enzmictec.2005.05.010>.

SONANI, Ravi Raghav; SINGH, Niraj Kumar; KUMAR, Jitendra; THAKAR, Dixita; MADAMWAR, Datta. Concurrent purification and antioxidant activity of phycobiliproteins from *Lyngbya* sp. A09DM: an antioxidant and anti-aging potential of phycoerythrin in *caenorhabditis elegans*. **Process Biochemistry**, [S.L.], v. 49, n. 10, p. 1757-1766, out. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2014.06.022>.

SONI, Badrish; KALAVADIA, Beena; TRIVEDI, Ujjval; MADAMWAR, Datta. Extraction, purification and characterization of phycocyanin from *Oscillatoria quadripunctulata*—Isolated from the rocky shores of Bet-Dwarka, Gujarat, India. **Process Biochemistry**, [S.L.], v. 41, n. 9, p. 2017-2023, set. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2006.04.018>.

SOSA-HERNÁNDEZ, Juan; ROMERO-CASTILLO, Kenya; PARRA-ARROYO, Lizeth; AGUILAR-AGUILA-ISAÍAS, Mauricio; GARCÍA-REYES, Isaac; AHMED, Ishtiaq; PARRA-SALDIVAR, Roberto; BILAL, Muhammad; IQBAL, Hafiz. Mexican Microalgae Biodiversity and State-Of-The-Art Extraction Strategies to Meet Sustainable Circular Economy Challenges: high-value compounds and their applied perspectives. **Marine Drugs**, [S.L.], v. 17, n. 3, p. 174, 18 mar. 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/md17030174>.

SUBHASHINI, Jagu; MAHIPAL, Suraneni V.K; REDDY, Madhava C; REDDY, Metukuri Mallikarjuna; RACHAMALLU, Aparna; REDDANNA, Pallu. Molecular mechanisms in C-Phycocyanin induced apoptosis in human chronic myeloid leukemia cell line-K562. **Biochemical Pharmacology**, [S.L.], v. 68, n. 3, p. 453-462, ago. 2004. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcp.2004.02.025>.

TAVANANDI, Hrishikesh A.; VANJARI, Prasad; RAGHAVARAO, K.s.M.s.. Synergistic method for extraction of high purity Allophycocyanin from dry biomass of *Arthrospira platensis* and utilization of spent biomass for recovery of carotenoids. **Separation And Purification Technology**, [S.L.], v. 225, p. 97-111, out. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.seppur.2019.05.064>.

TEIXEIRA, L. P. **Prospecção tecnológica**: importância, métodos e experiências da Embrapa Cerrados. Distrito Federal: Embrapa Cerrados, 2013; 34 p.

TELLO-IRELAND, Cristian; LEMUS-MONDACA, Roberto; VEGA-GÁLVEZ, Antonio; LÓPEZ, Jessica; SCALA, Karina di. Influence of hot-air temperature on drying kinetics, functional properties, colour, phycobiliproteins, antioxidant capacity, texture and agar yield

of alga *Gracilaria chilensis*. **Lwt - Food Science And Technology**, [S.L.], v. 44, n. 10, p. 2112-2118, dez. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2011.06.008>.

TOMASELLI, L. The microalgal cell. in: RICHMOND, A., editor. **Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology**. Oxford: Blackwell Science. P 3-19. 2004

TRIVEDI, Jayati; AILA, Mounika; BANGWAL, D.P.; KAUL, Savita; GARG, M.O.. Algae based biorefinery—How to make sense? **Renewable And Sustainable Energy Reviews**, [S.L.], v. 47, p. 295-307, jul. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2015.03.052>.

TUNDIS, R.; LOIZZO, M.R.; BONESI, M.; MENICHINI, F.. Potential Role of Natural Compounds Against Skin Aging. **Current Medicinal Chemistry**, [S.L.], v. 22, n. 12, p. 1515-1538, 26 mar. 2015. Bentham Science Publishers Ltd.. <http://dx.doi.org/10.2174/0929867322666150227151809>.

Universidade de Aveiro. Seleção de fontes de informação científica. 2013. Disponível em: <https://www.ua.pt/ReadObject.aspx?obj=28385>;

Canongia, C. et al . Foresight, inteligência competitiva e gestão do conhecimento: instrumentos para a gestão da inovação. *Gestão & Produção*. São Carlos, v. 11, n. 2, p. 231-238, 2004. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0104-530X200400200009&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-530X200400200009&lng=en&nrm=iso);

Vonshak, A., *Spirulina: Growth, Physiology and Biochemistry*. In: A. Vonshak (Ed.), **Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, Cell-Biology and Biotechnology**. Taylor and Francis, London (1997).

WACHDA; HADIYANTO, H; HARJANTO, G D; HUZAIN, M L; AJI, R W. Production of antioxidant C-phycoyanin using extraction process of *Spirulina platensis* in large scale industry. **Iop Conference Series: Materials Science and Engineering**, [S.L.], v. 633, p. 012025, 8 out. 2019. IOP Publishing. <http://dx.doi.org/10.1088/1757-899x/633/1/012025>.

WALTER, Alfredo; CARVALHO, Júlio Cesar de; SOCCOL, Vanete Thomaz; FARIA, Ana Bárbara Bisinella de; GHIGGI, Vanessa; SOCCOL, Carlos Ricardo. Study of phycocyanin production from *Spirulina platensis* under different light spectra. **Brazilian Archives Of Biology And Technology**, [S.L.], v. 54, n. 4, p. 675-682, ago. 2011. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1516-89132011000400005>.

WANG, L; PAN, B; SHENG, J; XU, J; HU, Q. Antioxidant activity of *Spirulina platensis* extracts by supercritical carbon dioxide extraction. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 105, n. 1, p. 36-41, 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.03.054>.

WU, Qinghua; LIU, Lian; MIRON, Anca; KLÍMOVÁ, Blanka; WAN, Dan; KUČA, Kamil. The antioxidant, immunomodulatory, and anti-inflammatory activities of *Spirulina*: an overview. **Archives Of Toxicology**, [S.L.], v. 90, n. 8, p. 1817-1840, 3 jun. 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00204-016-1744-5>.

XIE, Youping; JIN, Yiwen; ZENG, Xianhai; CHEN, Jianfeng; LU, Yinghua; JING, Keju. Fed-batch strategy for enhancing cell growth and C-phycocyanin production of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* under phototrophic cultivation. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 180, p. 281-287, mar. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.12.073>.

YOSHIDA, Ayako; TAKAGAKI, Yutaka; NISHIMUNE, Takahiro. Enzyme Immunoassay for Phycocyanin as the Main Component of *Spirulina* Color in Foods. **Bioscience, Biotechnology, And Biochemistry**, [S.L.], v. 60, n. 1, p. 57-60, jan. 1996. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1271/bbb.60.57>.

YU, J. et al. Purification and identification of antioxidant peptides from enzymatic hydrolysate of *Spirulina platensis*. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 26, n. 7, p. 1216–1223, 2016. ZAMBROWICZ, A. et al. Manufacturing of peptides exhibiting biological activity. *Amino Acids*, v. 44, n. 2, p. 315–320, 23 fev. 2013.

ZAHRA, Zahra; CHOO, Da Hyun; LEE, Heayyeon; PARVEEN, Amna. Cyanobacteria: review of current potentials and applications. **Environments**, [S.L.], v. 7, n. 2, p. 13-17, 12 fev. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/environments7020013>.

ZARROUK, C. **Contribution à l'étude d'une Cyanophycée**: influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de *spirulina máxima*. 1966. Thesis (Ph.D) - Université Des Paris, Paris, 1966.

ZHAI, Jun; LI, Xiaoting; LI, Wei; RAHAMAN, Md. Hasibur; ZHAO, Yuting; WEI, Bubo; WEI, Haoxuan. Optimization of biomass production and nutrients removal by *Spirulina platensis* from municipal wastewater. **Ecological Engineering**, [S.L.], v. 108, p. 83-92, nov. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2017.07.023>.

ZHANG, Xuecheng; LU, Yongzhong. The upstream sequence of the phycocyanin  $\beta$  subunit gene from *Arthrospira platensis* regulates expression of *gfp* gene in response to light intensity. **Electronic Journal Of Biotechnology**, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 63-70, 15 abr. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.2225/vol8-issue1-fulltext-9>.

ZHENG, Hongli; WU, Xiaodan; ZOU, Guyue; ZHOU, Ting; LIU, Yuhuan; RUAN, Roger. Cultivation of *Chlorella vulgaris* in manure-free piggery wastewater with high-strength ammonium for nutrients removal and biomass production: effect of ammonium concentration, carbon/nitrogen ratio and pH. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 273, p. 203-211, fev. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2018.11.019>

FARHAD, Omarov. **Composition Comprising Salt And Microalgae Biomass, Process Of Its Production And Uses (with Variants)**. . EP n. EP3031904B1. Depósito: 11 dez. 2014. Concessão: 5 jun. 2018.

YANG, Zhou. **Extraction Process For Spirulina Phycocyanin And Use Of Spirulina Phycocyanin**. . CN n. CN 104292326 A. Depósito: 09 set. 2015. Concessão: 05 jan. 2016.

XUEFENG, Lyu. **Method For Phycocyanin Extraction Capable Of Saving Water**. . CN n. CN 110818792 A. Depósito: 16 dez. 2019. Concessão: 20 fev. 2020.

LTD, Jiangxi Danxia Biotechnology Co. **Preparation Method Of High-purity Spirulina Blue**. . CN n. CN 108101980 A. Depósito: 28 jan. 2018. Concessão: 21 dez. 2020.

ANNETT, Heyde. **Protein-rich Spirulina Extracts**. . EP n. EP 2484230 B1. Depósito: 2 fev. 2011. Concessão: 16 maio 2017.

FOUNDATION, Inha University Research And Business. **Phycocyanin Phycoerythrin A Pharmaceutical Composition Comprising Liposome Containing Phycocyanin Or Phycoerythrin As An Active Ingredient For Brain Disease**. . KR n. KR 101898528 B1. Depósito: 23 nov. 2017. Concessão: 12 set. 2018.