



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e Comércio Exterior
Instituto Nacional de Propriedade Industrial

(21) BR 10 2012 032930-1 A2



(22) Data de Depósito: 21/12/2012

(43) Data da Publicação: 23/12/2014
(RPI 2294)

(54) Título: BEBIDA ALCOÓLICA FUNCIONAL DE MICROALGAS: PROCESSO DE CULTIVO E PRODUÇÃO

(51) Int.Cl.: C12G3/08

(73) Titular(es): UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO-UFPE, UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO - UFPPE

(72) Inventor(es): ALFREDO DE OLIVEIRA GÁLVEZ, DANIELLI MATIAS DE MACEDO DANTAS, RANILSON DE SOUZA BEZERRA, RICARDO ABADIE GUEDES, RUBEM CARLOS ARAÚJO GUEDES, SUZAN DINIZ SANTOS

(57) Resumo: BEBIDA ALCOÓLICA FUNCIONAL DE MICROALGAS: PROCESSO DE CULTIVO E PRODUÇÃO. A presente invenção refere-se a um processo de produção de microalgas (Chlorophyceae), somado a obtenção de um produto alcoólico biativo a partir de microalgas, com aplicação na indústria de bebidas. Mais particularmente, a presente invenção compreende: um processo de cultivo de duas etapas com propriedades físico-químicas (primeira fase) e condições estruturais controlados para reduzir o período de cultivo da fase de sistema fechado para aberto com um aumento do rendimento final e, um processo para produção de uma bebida alcoólica funcional a base de microalgas. Esse processo não apenas maximiza em um curto período a produtividade do cultivo por meio de duas etapas, mas também permite obter de forma econômico e simples uma biomassa de microalgas seca. Além de envolver um processo para produção de uma bebida alcoólica funcional a partir de uma microalga Cglorophyceae utilizando cachaça - um bebida popular brasileira feita a partir de cana de açúcar fermentada

RELATÓRIO DESCRITIVO DA PATENTE DE INVENÇÃO

BEBIDA ALCOÓLICA FUNCIONAL DE MICROALGA: PROCESSO DE CULTIVO E PRODUÇÃO

5

CAMPO DA INVENÇÃO

A presente invenção envolve processos de cultivo e obtenção de biomassa seca de microalgas (*chlorophyceae*), bem como, produção de bebida alcoólica funcional de microalga.

10

DESCRIÇÃO DO ESTADO DA TÉCNICA

Microalgas são os membros mais simples e primitivos na evolução do reino vegetal. Estes organismos realizam fotossíntese como as plantas terrestres, e na sua maioria apresentam-se como pequenas células de cerca de 3-20 μm (IBAÑEZ et al., 2012, RAZIF HARUN et al., 2010). Estas algas são onipresentes na natureza, podendo ser encontradas em zonas aquáticas variando entre fontes termais a geleiras glaciais, assim como distribuídas nos corpos de água continentais e oceânicos como fitobentos e fitoplânctons (IBAÑEZ et al., 2012).

Um número crescente de estudos têm sido conduzidos para explorar as técnicas, procedimentos e processos de produção de grandes quantidades de biomassa de microalgas, devido à sua alta taxa de crescimento e tolerância a diferentes condições ambientais (RAZIF HARUN et al., 2010, EUA B2 6524486, 2003). Existem duas técnicas que são mais utilizadas para o cultivo de microalgas: uma composta por sistema aberto em tanques e outra de sistema fechado com a utilização de fotobiorreatores (RAZIF HARUN et al., 2010). Muitos fotobiorreatores têm sido desenvolvidos para a produção de biomassa de microalgas, devido à eficiência de produção apesar de não apresentar baixo custo quando desenvolvido para produção em larga escala. Sistemas abertos, como tanques, raceway e sistemas de superfícies de canais inclinados, são comumente usados para produção em larga escala (HSIEH C. & WU, W, 2009).

Mais de 100 mil espécies de microalgas são conhecidos e a descoberta de novos usos para estas é componente importante no desenvolvimento das indústrias de bases biotecnológicas. As microalgas são eficazes: no controle de pragas agrícolas, como condicionadores de solo e biofertilizantes na agricultura; como produtores de oxigênio; como removedores de nitrogênio, fósforo e substâncias tóxicas no tratamento de esgoto; na biodegradação de plantas e; na produção de biocompostos e biodiesel (B2 EUA 6.524.486, 2003). A venda de

35

microalgas (*chlorella*) utilizado na alimentação humana, alimentação animal e como aditivo alimentar ultrapassou 38 bilhões de dólares por ano nos Estados Unidos América (EUA). Enquanto o mercado anual estimado para o ácido docosahexaenóico, um suplemento nutricional utilizado pela aquicultura produzido por microalgas (*Cryptocodinium* ou *Schizochytrium*) foi de cerca de U\$ 10 bilhões (SPOLAORE et al., 2006).

Nos últimos anos as microalgas têm recebido atenção crescente devido aos seus componentes fitometabólicos com estruturas químicas e diferentes atividades biológicas (MSKULBERG, 2006). O uso de microalgas, como fonte de alimento para saúde, alimento funcional e para produção de biomoléculas, tais como vitaminas, carotenoides, fitocianina e ácidos graxos poli-insaturados, tem efeitos positivos sobre a saúde humana e animal, devido às atividades antioxidantes elevadas de algumas destas substâncias (PULZ & GROSS, 2004, MANIVANNAN, 2012). Estudos sobre os compostos bioativos de microalgas (MARINHO-SORIANO et al, 2011) têm demonstrado efeito antitumoral, propriedades quimiopreventivas (WANG, 2010), atividade anti-inflamatória (GUZMÁN, Gato & CALEJJA, 2011), atividade antioxidante (VIJAYAVEL, et al, 2007), e a atividade antimicrobiana (MAKIRIDIS, et al 2006).

O uso de alimentos para reduzir o risco de doenças tem sido um tema constante em reuniões nas áreas de alimentação e nutrição, aumentando a demanda por informações sobre alimentos funcionais e nutracêuticos. Neste sentido, esta temática tem despertando como consequência uma atenção específica para os componentes essenciais e não essenciais bioativos de alimentos, conhecidos por modificar uma série de processos celulares associados com a prevenção de doenças, incluindo o metabolismo carcinogênico, equilíbrio humoral, sinalização celular, controle do ciclo celular, apoptose e angiogênese (TRUJILLO et al, 2006).

As bebidas alcoólicas (cerveja, vinho, licor) apresentam algum valor alimentar, mesmo que apenas em termos de calorias. A Food and Drug Administration (FDA) define alimentos como "... artigos usados para comida e bebida, ou componentes de tais artigos(substância) que proporcione sabor, aroma, ou valor nutritivo". Porém, os alimentos têm outras funções do que nutrição, sabor e aroma (BRANNO, 2008) e hoje em dia, os consumidores começaram a olhar para além dos benefícios nutricionais básicas dos alimentos, estando cada vez mais interessados em compostos contidos que possam prevenir e gerar benefícios à saúde. Portanto, existe por parte da população uma ampla demanda por alimentos funcionais e produtos naturais para prevenir o desenvolvimento de doenças e o envelhecimento precoce (AGRICULTURE AND AGRI-FOOD CANADA, 2012).

Bebidas fermentadas têm feito parte da dieta do homem, desde dez mil anos antes de Cristo. Existem relatos antigos de suas propriedades medicinais, bem como os seus efeitos viciantes destrutivos (CLAUDIAN, 1970; FORBES, 1970; WILSON, 1973; VALLE, 1994). Como consequências ao longo da história surgiram debates fervorosos sobre pós e contras do álcool (BRANNO, 2008) . Estudos epidemiológicos têm demonstrado que o consumo moderado de vinho e bebidas alcoólicas estão estatisticamente associados na diminuição de doenças relacionados a eventos cardiovasculares, tais como insuficiência cardíaca (TRUJILLO et al, 2006).

As pessoas, na sua maioria, reconhece o lugar do álcool na sociedade como uma droga lícita associada ao lazer. Poucos associam seu uso como medicamento, porém o desenvolvimento de álcoois concentrados e de alta qualidade apresenta vantagens paralelas nos avanços de fármacos ao longo dos tempos (VALLE, 1994). O álcool é o segundo solvente depois da água de grande importância utilizado particularmente na extração de componentes ativos das partes inertes de drogas brutas. Permite concentrar os compostos medicinalmente ativos e faz com que a solução se torne de mais fácil administração e consumo, também melhorado a sua absorção. Os compostos que normalmente se dissolvem em álcool incluem alcaloides, glicosídeos, resinas e óleos voláteis. Combinada com água gera um solvente hidroalcoólico, que age como um conservante, impedindo hidrólise e fermentação que normalmente ocorreria quando é utilizado apenas água (LINDBERG & AMSTERDAM, 2008).

A cachaça é uma bebida alcoólica produzida principalmente no Brasil, onde, 1,5 bilhões de litros (390 milhões de galões) são consumidos anualmente, em comparação com 15 milhões de litros (4,0 milhões de galões) fora do país. Possui geralmente, graduação alcoólica entre 38% e 48% de álcool em volume. Quando caseiro pode ser tão forte quanto o destilador desejar. "A principal diferença entre cachaça e rum é que o rum geralmente é feito a partir de melaço, um subproduto das refinarias que ferve o caldo de cana para extrair o máximo de açúcar cristal possível, enquanto que a cachaça é feita a partir de caldo de cana fresco que é fermentado e destilado. Como alguns rums também são feitos por este processo, a cachaça é também conhecida como rum brasileiro (WIKIPEDIA, 2012).

A correlação conhecida entre dieta e saúde demonstra as grandes possibilidades de alimentos e/ou bebidas para manter ou até melhorar a nossa saúde. Este fato tem provocado um grande interesse para a busca de novos produtos que podem contribuir para melhoria da saúde e bem-estar. Estes tipos de alimentos e/ou bebidas, capazes de promover a saúde tem sido genericamente definidos como alimento funcional.

Uma das formas mais frequentemente utilizadas pelos fabricantes de alimentos para a produção de novos alimentos funcionais é a adição de um ou mais compostos bioativos de interesse em um alimento tradicional. Os compostos bioativos adicionados são geralmente referidos como ingredientes funcionais e são responsáveis pelas funções bioativas que o novo produto possa apresentar. Usando essa estratégia, vários alimentos funcionais já foram desenvolvidos e comercializados. Por exemplo, os produtos que possuem atividade anti-hipertensiva, efeito hipo-colesterolêmica, propriedades antioxidantes, efeitos probióticos ou prebióticos, efeitos reguladores sobre o apetite, entre outros, estão disponíveis no mercado (Ibanez, et al, 2012).

Existem patentes nacionais e internacionais relacionadas com processos e produtos a partir de microalgas como, processos de produção com o objetivo de obter biomassa, formas de conservação, produção de extratos, os produtos alimentares (US2010/0297325,2010), Farmacêuticos (US0028376,2010), os biocombustíveis, entre outros (PI0701072-9; PI0801270-9; PI0804611-5, WO2008/000431, PI0703245-5, EUA 2005/0214897, EUA 2010/7785823, EP 1 138 757 e EUA 7.306.669). No entanto, não está contemplado nas patentes, métodos de processo de cultivo, secagem e produção de uma bebida alcoólica funcional a partir de microalgas *Chlorophyceae* usando cachaça.

20

APRESENTAÇÃO DOS PROBLEMAS EXISTENTES

O desenho e operação dos sistemas de produção de biomassa de microalgas têm sido amplamente discutidos em vários países. As microalgas podem ser cultivadas em tanques de cultivo aberto que necessita de áreas de terra relativamente grandes para obter luz solar suficiente para realização da fotossíntese pelas microalgas. Atualmente a utilização de fotobioreatores e sistema de cultivo contínuo vem sendo desenvolvidos, mas geralmente só apresentam-se viáveis para a produção de quantidades relativamente pequenas de microalgas (US006673592, 2006).

Há vários fatores que influenciam o crescimento de algas: fatores abióticos, como luz (qualidade e quantidade), temperatura, concentração de nutrientes, O²², CO₂, pH, salinidade, produtos químicos tóxicos, fatores bióticos como patógenos (bactérias, fungos, vírus) e concorrência por outras algas. Entre estes fatores o fornecimento de energia para obtenção de luz artificial nos sistemas de cultivo é um dos mais caros. Desta forma, produção de microalga em laboratório utilizando apenas luz artificial é menos viável, devido alto custo de energia. Muitos sistemas diferentes de cultura foram desenvolvidos ao longo dos anos tentando atender a esses requisitos, no entanto, torna-se difícil para cultivos em larga escala. Um dos pré-requisitos importantes para o cultivo de algas comercialmente é a necessidade de sistemas de grande escala economicamente viáveis. Alguns

40

sistemas de culturas, como sistemas de fotobioreatores fechados, apresentam custos substancialmente mais elevados do que outros sistemas de cultura.

Uma vez coletadas no sistema de cultivo, as células de microalgas contêm de 85% a 95% de água. O elevado teor de água é devido à umidade interna das células que torna difícil a sua remoção por meios mecânicos. Como resultado, a secagem da microalga de acordo com técnicas convencionais necessita de uma quantidade intensiva energia tornando o processo dispendioso, e responsável por até 30% dos custos de produção (US005276977). Além disso, muitos componentes de microalgas clorofila, carotenoides e enzimas são rapidamente oxidados se exposta ao oxigênio e luz durante longos períodos de secagem.

Obtenção de pigmentos naturais com efeitos antioxidantes geralmente envolve técnicas complexas e de elevado custo, e o uso de alguns solventes são recomendados pela FDA (EUA) para alimentos, fármacos, cosméticos, apenas em baixas concentrações. Além disso, em muitos casos, tais pigmentos formam complexos com outras substâncias, presentes intracelularmente, o que torna o processo de extração laboriosos e reflete no custo do produto final.

Existe um déficit de inovação na produção de bebidas alcoólicas utilizando-se composto bioativos para a elaboração de bebidas alcoólicas funcionais. Neste sentido observa-se na indústria alcoólica a ausência de produtos alcoólicos diferenciais.

APRESENTAÇÃO DA SOLUÇÃO EM LINHAS GERAIS

A presente invenção vem solucionar alguns problemas mencionados, quando propõe não só um processo de cultivo, que diminui seu tempo reduzindo as etapas de cultivo, mas também, uma técnica de secagem de biomassa e obtenção de uma bebida alcoólica funcional de microalgas. Além disso, todas as etapas envolvidas na produção, secagem e obtenção da bebida é caracterizada pela simplicidade e baixo custo.

A técnica, objeto do presente pedido de patente, utiliza tanques transparente, permitindo uma melhor iluminação do sistema de cultivo, particularmente em regiões que possuem grande incidência de luz natural durante todo ano. Estes fatores permitem alta produtividade tal como redução nos custos de produção. Várias formas para realização do sistema de cultivo de microalga combinam vantagens normalmente associado a sistemas de cultivo fechados como alta produtividade por volume com vantagens normalmente associado a sistemas abertos, tais como, baixo custo operacional e de construção.

Outra vantagem da técnica ora exposta é que a biomassa celular pode ser separada, seca e mecanicamente rompida para extração dos componentes

intracelulares por meio de simples técnicas de processo, o que torna o processo consequentemente menos custoso.

5 O solvente utilizado na presente invenção tem 40% de etanol em água, os quais são aceitos pela FDA (EUA) para uso alimentar. Sobretudo, a extração dos compostos bioativos da microalga com cachaça permite a obtenção de uma apreciável bebida alcoólica funcional inovadora.

10 A presente invenção também irá adicionar valor ao processo de cultivo de microalgas da classe *Chlorophyceae*, devido ao uso do resíduo obtido após o processo de extração. Portanto, este co-produto pode ser aproveitado para a indústria biotecnologia de nutracêuticos, alimentos e farmacêutica por possuir ainda compostos bioativos.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

15 Sistemas e métodos para aumentar a e reduzir os custos da produção de biomassa de microalgas em um sistema de cultivo vêm sendo discutidos. Neste sentido, o objetivo do presente invento foi desenvolver um método de cultivo de curto período desenvolvido em duas fases, utilizando um sistema estrutural visando elevada produtividade e redução do custo da produção.

20 A primeira fase do processo de cultivo da presente invenção proporciona condições ambientais e estruturais controladas maximizando o crescimento e qualidade celular. Esta primeira fase é caracterizada pelo crescimento celular contínuo e divisão celular máxima em recipientes de vidro esterilizados. Esta fase inclui o controle e manipulação dos parâmetros físico-químicos potencializando a velocidade de crescimento no cultivo.

25 A segunda etapa permite o cultivo em tanques fechados produzidos de material transparente e resistente à deterioração. Nesta etapa a estrutura utilizada na presente invenção permite o aproveitamento de luz natural possibilitando uma maior viabilidade econômica do sistema. Esta segunda fase é ainda caracterizada por características que permitem aumentar a velocidade de crescimento e assim maximizar o crescimento celular das microalgas condicionadas nos tanques. Um aspecto é que a homogeneização das células algais é proporcionada por um sistema de aeração originado de ar natural que é dissipado a através de pequenas perfurações que permitem a homogeneização de forma proporcional a toda a área do tanque. Este sistema também minimiza o estresse algal provocado muitas vezes por sistemas de aeração contínua e evita propagação de organismos contaminantes no cultivo. Ainda outro aspecto é que esta estrutura possui mesmo diâmetro do fundo circular do tanque onde é posicionado, permitindo que o fluxo do ar seja uniformemente direcionado. Além disso, nesta

segunda etapa, foi encontrada uma um período de cultivo aproximadamente de 4 a 6 dias.

5 A presente invenção compreende um processo econômico e simples de secagem de biomassa de microalgas. Um aspecto da invenção é que este presente processo proporciona um método para separar a biomassa úmida do tanque de cultivo a partir do meio de cultivo (separação sólido-líquido). Dois ou mais métodos podem ser combinados nesta etapa de separação da biomassa úmida. Outro aspecto é que um floculante é usado para obter a biomassa. Ainda outro aspecto, após a floculação e conseguinte decantação das microalgas, uma bomba de sucção é mergulhado no interior do tanque para eliminar o meio aquoso. Desta forma, a biomassa úmida é recolhida e transferida para recipientes protegidos da incidência direta da luz e com circulação de ar para obter biomassa seca. Por conseguinte, este processo de secagem é um processo econômico e eficiente.

15 Outro aspecto da presente invenção inclui a produção de uma bebida alcoólica funcional de microalgas *Chlorophyceae* utilizando a cachaça – uma bebida popular brasileira feita a partir de cana fermentado. Ainda outro aspecto da presente invenção é que a metodologia utilizada proporciona extração e separação de compostos bioativos da partir das microalgas. O método compreende a mistura da biomassa seca com um solvente alcoólico (cachaça) e a ruptura das células por atrito mecânico; misturando a cachaça por um tempo e temperatura determinado, que após ser centrifugada, é obtido na fase sobrenadante um extrato alcoólico contendo compostos bioativos.

25 Outro aspecto ainda é que nesta última etapa descrita, a fase precipitada do processo de extração, a biomassa residual do processo, é ainda um produto que poderá ser usado na indústria biotecnológica, de alimentos, nutracêutica e farmacêutica.

DESCRIÇÃO DETALHADA DO INVENTO

30 Esta descrição detalhada da invenção é dividida em três partes. A parte I descreve métodos do cultivo das microalgas (descrito em primeira e segunda etapa). A Parte II, em duas sub-partes, descreve métodos para a coleta de biomassa de microalgas, assim como a metodologia para a secagem desta biomassa. Parte III descreve a metodologia para a criação funcional da presente invenção e os métodos utilizados para combinar a biomassa seca das microalgas e o todo o processo para obtenção da bebida. Biomassa de microalgas, biomassa de algas, e biomassa significa um material produzido pelo crescimento e ou propagação de células de microalgas. A biomassa pode conter células e ou incluir

material intracelular, mas não está limitado a, compostos secretados por uma célula (EUA 2010/0297325).

Parte I – A presente invenção refere-se a um sistema de cultivo caracterizado por possuir custos de operação e construção relativamente baixo, composto por poucas etapas de produção e de elevada qualidade. Os aspectos da realização da metodologia são descritas em duas etapas a seguir em maior detalhe. A primeira etapa no método inclui o cultivo em ambiente controlado. Nesta etapa são utilizados apenas dois momentos de inoculação: em ambos as microalgas são anteriormente manipuladas com relação aos parâmetros de crescimento e inoculadas na fase exponencial a fim de maximizar a produtividade celular, assim como obter uma maior qualidade das culturas. As microalgas são condicionadas em recipientes de vidro de 30-80 mL no primeiro momento, e então transferidos para o segundo e último volume desta etapa; recipiente de vidro de 1-5l, estes acoplados a um sistema de aeração (ar filtrado). O meio utilizado para o crescimento algal é composto por água enriquecida com macro e micronutrientes seguindo a composição do Meio Provasoli (modificação no meio poderão ser realizadas de acordo com a composição química da água). Os recipientes de vidro assim como o meio de cultura são previamente esterilizados. As culturas são mantidas uma temperatura (entre 18-22°C) e pH (entre 6-9) controlados. As culturas são submetidas a uma iluminação através de lâmpadas tubulares fluorescentes (branca e fria) com intensidade luminosa entre 1000 0 8000 Lux com fotoperíodo integral. A duração desta primeira etapa é de aproximadamente 6 a 8 dias. As microalgas utilizadas na presente invenção incluem *Chlorophyceae* e/ou uma variedade de microalgas.

Após a primeira etapa do cultivo, as algas são transferidas para a segunda etapa, realizada em ambiente externo. Nesta segunda etapa o cultivo é realizado em dois momentos de tanques com volumes distintos, aeração contínua e os parâmetros físicos controlados, sendo utilizada a iluminação e fotoperíodo natural. Para desenvolver o crescimento das microalgas, a água utilizada nos tanques é enriquecida mas não limitada, a adição de: úreia, NaNO₃, EDTA, KOH, FeSO₄, MgSO₄, K₂HPO₄, KH₂PO₄, CaCl₂, H₃BO₃, CuSO₄, MoO₃, MnCl₂, ZnSO₄. Um aspecto da presente invenção é que as duas estruturas de tanques circulares fechados utilizados nesta etapa são produzido com material transparente. Este fato, aliado ao sistema de aeração, permiti a incidência da luz solar em todas as direções da estrutura do tanque permitindo o aproveitamento pelas microalgas durante o cultivo. Outro aspecto, é que a estrutura dos tanques possibilita mantê-los fechados, inibindo a contaminação da cultura por insectos, bem como outros contaminantes possíveis. O tanque de cultivo pode ter dimensões diferentes, dependendo da capacidade desejada para o sistema de cultivo de algas. Em algumas situações a profundidade do tanque de cultivo poderá ser maior que cerca de cinquenta centímetros. Em outras situações esta profundidade pode ser superior a cinquenta centímetros. Outro aspecto da presente invenção é a

homogeneização das células algais durante esta segunda etapa de cultivo. A estrutura de aeração é inserida na parte inferior interna, possuindo o mesmo diâmetro do fundo dos tanques permitindo que o fluxo do ar seja uniformemente direcionado. Ainda outro aspecto é que esta estrutura possui pequenos orifícios que a liberação do ar no sentido inferior – superior, possibilitando uma homogeneização uniforme além de minimizam o impacto sobre as microalgas no sistema. Adicionalmente, o desenho dos tanques circular evita a formação de pontos mortos (região não alcançada pelo sistema de aeração) contribuindo para evitar a propagação de microorganismos contaminantes no cultivo. Além disso, nesta segunda etapa, foi encontrada uma taxa de produção de biomassa de 0.2 a 0.4 gramas por litro no tanque da fase final e em um período de cultivo aproximadamente de 4 a 6 dias.

Nesta etapa não apenas os tanques, mas toda a estrutura de aeração pode ser desmontada para desinfecção de forma simples e prática sempre que se julgar necessário.

Part II- Outro aspecto da presente invenção proporciona um método extremamente viável para a recuperação e obtenção biomassa do meio de cultivo. As microalgas presentes no tanque de cultivo foram coletadas a partir de um processo inicial de separação das microalgas da solução da cultura (separação sólido-líquido). Dois ou mais métodos podem ser combinados nesta etapa. Nesta etapa a utilização de flocculantes para separar as células do meio líquido e obter a biomassa algal podem ser usados, incluindo o uso do reagente hidróxido de sódio. A utilização concentração de flocculante depende dos parâmetros químicos do cultivo. Nesta etapa de flocculação foi possível retirar entre 85 – 98% de água da cultura, obtendo assim a biomassa úmida. A concentração de microalgas em volume mínimo de água possibilita reduzir a necessidade da centrifugação, normalmente aplicado para a separação da biomassa do meio de cultura no cultivo convencional. Outro aspecto nesta etapa é que após a decantação das células, provocada pela ação do flocculante, uma bomba de sucção é inserida na parte inferior do tanque a uma altura de aproximadamente 30 a 50 cm do fundo com o objetivo de eliminar a fase líquida sobrenadante obtida após o processo de flocculação descrito acima. A biomassa úmida é coletada através de uma válvula localizada na parte inferior do tanque de cultivo e transferida para recipientes plásticos com largura de aproximadamente 30x40cm e profundidade de 5 a 10 cm. Ainda outro aspecto é que estes recipientes são protegidos da incidência direta das luz e mantidos uma temperatura de cerca de 22-30 ° C e circulação de ar para secagem biomassa seca. Em algumas situações este processo de secagem pode levar um dia. Em algumas situações este processo de secagem pode levar dois dias. Em algumas formas de realização do processo de secagem pode levar dois dias. A metodologia utilizada nesta etapa buscou obter uma

metodologia eficiente e com custos reduzidos de separação e obtenção de biomassa seca.

Parte III- Ainda outro aspecto da presente invenção contempla a extração de compostos bioativos das microalgas utilizadas obtidos através da utilização da cachaça. A invenção trata-se de uma bebida alcoólica apreciada, uma bebida funcional. As características da presente invenção é obtida por um método inovador para extrair as substâncias produzidas pelas microalgas utilizadas no processo citado nas etapas acima, utilizando uma bebida alcoólica tradicional brasileira.

Nesta etapa a cachaça foi inserida em recipiente contendo biomassa seca da microalga utilizando uma proporção de aproximadamente 1% do seu peso seco. Foi utilizado um processo de maceração mecânica com o objetivo de romper a parede das células algais. A utilização desta metodologia vem possibilitar a aplicação desta invenção na escala piloto e industrial. Nesse aspecto a extração dos compostos intracelulares ocorre com a inserção gradativa de cachaça, iniciando a uma concentração média de 200% deste solvente no recipiente contendo a microalga. Ainda outro aspecto é que todo o processo é realizado protegido da incidência direta da luz. A extração dos compostos intracelulares da microalga inicia-se através do processo de ruptura celular com a utilização de um aparato de vidro com um pistão. Os movimentos e deslocamento repetitivo do pistão permitem a colisão sobre a superfície rígida do recipiente e das células algais. Neste processo ocorre a ruptura das células ou parte delas ocorrendo a liberação gradativa dos compostos bioativos de interesse. Após a fase de ruptura celular a extração dos compostos na solução (mistura cachaça e microalga) é realizada utilizando uma câmara agitadora por um período aproximado de 2 horas, seguido de centrifugação (4000 rpm) durante 10 minutos. O sobrenadante obtido é separado e condicionado em outro recipiente, sendo caracterizado como o produto final da presente invenção; uma bebida alcoólica funcional. Ainda outro aspecto é que a biomassa precipitada foi mantida refrigerada, podendo ser utilizado e aplicada nas indústrias de biotecnologia alimentícia, nutracêutica e farmacêutica. Resultados prévios obtidos demonstram atividade anti-oxidante para esta amostra. A qualidade do produto advinda pela atividade antioxidante do produto obtido pela presente patente podem ser atribuídas a componentes bioativos presentes na biomassa das microalgas utilizadas na presente invenção.

Neste sentido, a presente invenção estabelece um método de produção de uma bebida que compreende a combinação de biomassa de microalgas, sob a forma de pó ou flocos de células com um líquido comestível, obtendo assim uma bebida alcoólica nutricional.

Em alguns casos, a biomassa algal utilizada para fazer a composição alimentar deste processo citado acima compreende uma espécie ou uma mistura de pelo menos duas ou mais distintas microalgas. Em alguns casos, pelo menos, duas das espécies distintas de microalgas foram cultivadas separadamente. Outro aspecto ainda é que pelo menos, duas das espécies distintas de microalgas possuem diferentes perfis de compostos bioativos.

Outra consideração é que a utilização da microalga pode ser contribuir para reduzir o sabor forte da cachaça convencional. A presente invenção, opcionalmente, inclui ainda um sabor suave originado das microalgas. A invenção tem um sabor leve, não forte, suave, não áspera. O sabor suaviza o paladar na degustação. Outro aspecto é o cheiro leve, não possuindo um forte odor, geralmente observado em tradicionais bebidas etílicas. O odor é caracterizado como um odor característico de microalgas. Ervas diversas, plantas aromáticas ou extratos dos mesmos, podem também ser incluídos nas composições de produtos por várias razões diversas, tais como o sabor ou para os seus próprios benefícios potenciais para a saúde (No. Pub: 2010/0119667 A1 data Pub: May 13,2010).

O presente invento demonstra um processo que resulta em um eficiente cultivo obtenção de biomassa e isolamento de um extracto alcoólico de microalgas usando um protocolo de um custo benefício eficiente. Outro aspecto, e de fundamental importância para esta invenção é a característica não tóxica do solvente utilizado, evitando a presença de resíduos tóxicos encontrados no processo final.

REIVINDICAÇÕES

- 5 1. Processos de cultivo e obtenção de biomassa seca de microalgas (*Chlorophyceae*), bem como, produção de bebida alcoólica funcional de microalga.
2. O processo da reivindicação 1, apresentam reivindicações caracterizado por:
 - 10 2.1. Um processo de cultura de duas etapas com condições físico-químicas controladas (primeira etapa do cultivo) e estruturais para reduzir o período de produção do sistema de cultivo;
 - 2.2. Um processo econômico e simples de separação e secagem de biomassa de microalgas e;
 - 2.3. Um processo de produção de um produto alcoólico bioativo com propriedades funcionais a partir de microalgas *Chlorophyceae*.
- 15 3. O processo da reivindicação 1, em que envolva a produção de microalgas caracterizado também por *Chlorella sp.* e/ou *Scenedesmus sp.*
- 20 4. O processo da reivindicação 2.1. caracterizado por compreender ainda, em algumas formas de realização da profundidade do tanque de cultivo podendo ser maior que cinquenta centímetros, ou cerca de cinquenta centímetros.
- 25 5. O processo da reivindicação 4, além capacidade de volume da estrutura é caracterizado por uma estrutura de produção de microalgas com material transparentes.
- 30 6. O processo da reivindicação 5, também está caracterizado por aproveitamento da luz natural pelas microalgas durante o processo de cultivo.
7. O processo da reivindicação 2.2. mais o método caracterizado pela separação das células do meio da cultura.
- 35 8. O método da reivindicação 7, adicionado ao processo caracterizado por converter a biomassa úmida em seca.
9. O processo da reivindicação 2,3, em que a composição do produto está caracterizado por uma extração com cachaça.

10. O processo da reivindicação 9, também está caracterizado pelo baixo custo da ruptura das células de microalgas por abrasão mecânica das células.
- 5 11. O processo da reivindicação 9, somando a produção caracterizado por a obtenção de uma bebida alcoólica funcional de microalga diferente e apreciável.
- 10 12. O processo da reivindicação 9, acrescentado a um processo de aproveitamento caracterizado pela biomassa residual (coproduto) e seu aproveitamento pelas indústrias nutracêuticas, alimentares, farmacêuticas e biotecnológicas.

RESUMO**BEBIDA ALCOÓLICA FUNCIONAL DE MICROALGAS: PROCESSO DE CULTIVO E PRODUÇÃO**

5

A presente invenção refere-se a um processo de produção de microalgas (Chlorophyceae), somado a obtenção de um produto alcoólico biativo a partir de microalgas, com aplicação na indústria de bebidas. Mais particularmente, a presente invenção compreende: um processo de cultivo de duas etapas com propriedades físico-químicas (primeira fase) e condições estruturais controlados para reduzir o período de cultivo da fase de sistema fechado para o aberto com um aumento do rendimento final e, um processo para produção de uma bebida alcoólica funcional a base de microalgas. Esse processo não apenas maximiza em um curto período a produtividade do cultivo por meio de duas etapas, mas também permite obter de forma econômico e simples uma biomassa de microalgas seca. Além de envolver um processo para produção de uma bebida alcoólica funcional a partir de uma microalga Chlorophyceae utilizando cachaça - um bebida popular brasileira feita a partir de cana de açúcar fermentada.