

PERSPECTIVAS DE MERCADO E DESAFIOS DA PRODUÇÃO DO ÁCIDO ITACÔNICO A PARTIR DE BIOMASSA

Gabrielle das V. Fraga^a, Alisson D. S. Ruy^a, Luiz A. M. Pontes^{a,*}, Leila M. A. Campos^b e Leonardo S. G. Teixeira^c

^aDepartamento de Engenharia Química, Universidade Federal da Bahia, 40210-630 Salvador – BA, Brasil

^bEscola de Engenharia, Arquitetura e TI, Universidade Salvador, 41940-560 Salvador – BA, Brasil

^cInstituto de Química, Universidade Federal da Bahia, 40170-115 Salvador – BA, Brasil

Recebido em 11/02/2020; aceito em 30/04/2020; publicado na web em 18/06/2020

PERSPECTIVES AND CHALLENGES OF ITACONIC ACID PRODUCTION FROM BIOMASS. Itaconic acid (IA) is a very promising platform molecule due to the possibility of it being used to obtain products such as methyl methacrylate and synthetic latex, with the prospect that its global market will grow at an average annual rate of 2.8% (CAGR) from 2021 to 2026, exceeding US\$ 116.6 million in sales. The main technological route used to obtain itaconic acid is fermentation using different strains of *Aspergillus terreus* fungi. The main advancements are related to genetic engineering, as *Aspergillus terreus* is the most tolerant of the microorganisms employed in the process synthesis and optimization. The main substrate used is glucose (52%), followed by glycerol (25%). Among the results presented in this paper, the best production was achieved using *Ustilago maydis*, with 220 g L⁻¹ of IA, yielding 0.33 g g⁻¹, using glucose as a carbon source. Moreover, it is necessary to continue optimizing the biological process of IA production, since it is a platform molecule with major economic potential.

Keywords: itaconic acid; platform molecule; global market; *Aspergillus terreus*; microorganism.

INTRODUÇÃO

O uso de fontes renováveis é de fundamental importância para um desenvolvimento econômico com foco na sustentabilidade. Verifica-se a necessidade de inovações para atender às demandas da sociedade, que tem exigido materiais ecologicamente corretos, com garantia da mesma qualidade dos produtos já utilizados. A biomassa apresenta um grande potencial para produzir, de forma sustentável, vários polímeros e químicos verdes, bem como combustíveis, substituindo os produtos de origem fóssil.^{1,2}

Os resíduos de biomassa são fontes de açúcar de baixo custo, quando comparados aos produtos de origem petroquímica não renovável.^{3,4} A biomassa lignocelulósica é um exemplo de matéria-prima com esse potencial, sendo constituída majoritariamente por três polímeros: celulose (hexose), hemicelulose (pentose), lignina e,⁵ em menores quantidades, extrativos e cinzas.⁵ Esses componentes estão organizados na parede celular de modo que as fibras de celulose se encontram altamente ramificadas e envolvidas com a matriz amorfa de lignina e hemicelulose, conferindo resistência ao acesso de enzimas/microorganismos (Figura 1).⁶⁻⁸

O ácido itacônico (AI), também conhecido como ácido metileno succínico, é um ácido orgânico dicarboxílico saturado, que foi listado

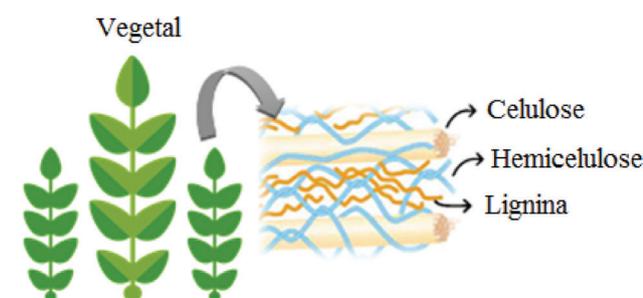


Figura 1. Estrutura do material lignocelulósico

pelo Departamento de Energia dos Estados Unidos (DOE) como uma das doze potenciais moléculas-plataformas. Essas moléculas apresentam vários grupos funcionais que servem de base para a produção de novas moléculas de grande interesse para a indústria, que podem ser obtidas a partir da biomassa.^{9,10}

O AI pode ser utilizado como monômero na síntese do metacrilato de metila (MMA) e resinas acrílicas, além de integrar compostos que servem de base para a indústria farmacêutica e agrícola.^{11,12} Possui química semelhante ao anidrido maleico, produzido na petroquímica, podendo ser substituído na obtenção do 1,4-butanodiol (BDO), tetraidrofurano (THF), precursor de biocombustíveis, gama-butirolactona (GBL), itaconato de di-n-butila e itaconato de dimetila, diésteres e sais metálicos com grande valor comercial.^{13,14}

Seu mercado está concentrado nas regiões Ásia-Pacífico, Europa e América do Norte, onde há contínuo investimento na melhoria da seletividade e no rendimento do processo bioquímico, visando competir na substituição, por exemplo, do anidrido maleico.¹⁵ O desafio está no desenvolvimento da engenharia genética e novas tecnologias de processos fermentativos que possam viabilizar sua produção industrial.¹² Percebe-se, também, que são necessários estudos de novas matérias-primas de cunho sustentável na sua síntese.¹⁶

Nesse contexto, esse trabalho teve como objetivo fazer um levantamento das tecnologias envolvendo o processo de biossíntese do AI a partir de biomassa, baseado na avaliação de artigos científicos e patentes publicados, estabelecendo uma análise crítica a respeito destas tecnologias, bem como suas perspectivas de produção para os próximos anos.

Características e histórico da produção e do ácido itacônico

O AI é um ácido orgânico dicarboxílico saturado, também chamado de ácido succínico de metileno. Apresenta fórmula molecular C₅H₆O₄, cuja estrutura possui um grupo carboxílico em cada extremidade,¹⁷ a qual lhe confere a vantagem de realizar reações de polimerização (Figura 2). Propriedades físico-químicas do AI estão apresentadas na Tabela 1.^{18,19}

*e-mail: uolpontes@uol.com.br

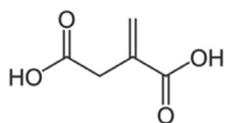


Figura 2. Estrutura molecular do ácido itacônico

Tabela 1. Propriedades físico-químicas do ácido itacônico

Propriedades	Valores associados
Massa molar	130,1 g mol ⁻¹
Ponto de fusão	165–168 °C
Ponto de ebulição	268 °C
Densidade	1,632 g L ⁻¹ (20 °C)
Solubilidade em H ₂ O	83,1 g L ⁻¹

Inicialmente, o AI foi sintetizado por Baup, em 1837, a partir da termod decomposição do ácido cítrico, transformando-o em anidrido itacônico, seguida pela hidrólise do anidrido (Figura 3).^{31,19} O processo químico se mostrou ineficiente e economicamente inviável do ponto de vista industrial sendo substituído por rotas biotecnológicas.

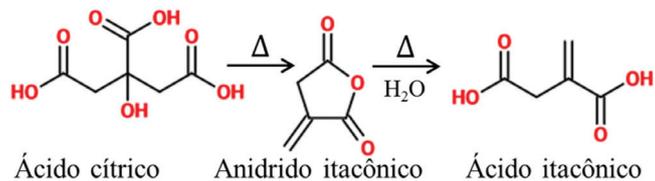


Figura 3. Reação de obtenção do ácido itacônico

Posteriormente, em 1932, Kinoshita apresentou a síntese biológica do AI empregando o fungo osmofílico *Aspergillus itaconicus*. Em 1939, Calam, Oxford & Raistrick utilizaram o *A. terreus* e verificaram uma maior capacidade de produção do que o *A. itaconicus*.^{19,21} Em 1945, Lockwood e Ward realizaram testes com 308 cepas e identificaram o *A. terreus* NRRL 1960 como uma alternativa promissora.²²

O interesse crescente por sustentabilidade, conservação ambiental, recursos renováveis e menores custos associados ao consumo de energia, a partir dos anos 80, levou ao desenvolvimento da fermentação descontínua e contínua avançadas, empregando tecnologias e estratégias de desenvolvimento de bioprocessos para melhorar a produção de AI.²³

Considerando a possibilidade de se trabalhar com diferentes fungos, de modo a aumentar o rendimento da etapa fermentativa, foram testados o *Aspergillus itaconicus*, fungos filamentosos, como o *Ustilago maydis*,^{24,25} além de estirpes mutantes de *Candida*.²⁶ Apesar da grande variedade de microrganismos, atualmente, o *Aspergillus terreus*, utilizando glicose ou melaço pré-tratado como substrato, tem sido o mais eficiente nos processos industriais de produção do AI.^{27,28}

Potencial de mercado do ácido itacônico

Estima-se que o mercado do ácido itacônico em 2020 seja equivalente a US\$ 96 milhões, tendo como projeção US\$116,6 milhões até 2026, com taxa de crescimento anual composta (CAGR) de 2,8% (2021-2026).²⁹ As fabricações de polímeros, como o MMA, formado a partir da reação de descarboxilação; látex sintético (SBR), pela copolimerização com estireno e butadieno; e resina de poliéster insaturado (UPR), através da poliesterificação, são suas principais aplicações. O AI pode substituir outros ácidos insaturados e anidridos, tais como os ácidos acrílico, maleico, fumárico, metacrílico e seus derivados.³⁰

A produção e o consumo estão concentrados na China, Japão, Coreia, Austrália, Inglaterra, Alemanha, Rússia, Itália, EUA, Canadá e México.³¹ Os países asiáticos representam o maior mercado e competitividade mundial. Os países europeus apresentam um crescimento lento, devido a regulações governamentais. Os EUA são o segundo maior mercado, após a China, com incremento no desenvolvimento de novas tecnologias no setor industrial, em particular, nos segmentos de detergentes; látex sintético, usado em pneus; e MMA, que é utilizado em revestimentos, plásticos transparentes e adesivos.³²

As principais empresas produtoras de AI são a Itaconix Corporation, Qingdao Langyatai Group Co., Ltd., Zhejiang Guoguang Biochemistry Co., Ltd., Jinan Huaming Biochemistry Co. Ltd., Iwata Chemical Co., Ltd., Alpha Chemika e Shandong Kaison Biochemical Co.³³

O custo de produção (entre 1,7 a 2,0 US\$ kg⁻¹) é o principal fator que dificulta a ampliação do seu mercado,³⁴ pois, atualmente, é mais elevado do que o de seus similares, como o anidrido maleico. Para ser competitivo com *commodities* análogas, o custo com a fermentação do AI precisa alcançar US\$ 0,5 kg⁻¹.³⁵ Atualmente, o AI já é competitivo com o ácido acrílico e pode, em futuro próximo, substituir o anidrido maleico e o ácido fumárico com melhorias nas tecnologias de fermentação e uso de processos de separação, tais como a adsorção, na etapa de purificação.^{30,34}

Levantamento de patentes e artigos sobre o ácido itacônico

A análise do desenvolvimento das rotas tecnológicas para a produção do AI, ao longo dos anos, foi baseada na coleta de dados de patentes (1963-2019) e artigos (1945-2019). A ferramenta utilizada para a seleção dos artigos científicos foi a *Web Of Science* (www.webofscience.com). As patentes foram obtidas através da base de dados *Derwent Innovations Index* (www.derwentinnovationsindex.com).

Os bancos de dados retornaram com 1.412 depósitos de patentes (1963-2019) e 879 publicações científicas (1945-2019). Conforme pode ser observado na Figura 4a, a partir do período 2006-2010, verificou-se um aumento mais significativo do número de patentes e artigos científicos publicados. Esse fato pode estar relacionado ao interesse na busca de processos tecnológicos envolvendo fontes renováveis para produção do AI, como molécula plataforma, em substituição a obtenção de produtos de origem fósseis.

Foi realizada, então, uma nova busca, utilizando as mesmas bases de dados, porém, ampliando as palavras-chave (*itaconic, itaconic acid, Aspergillus, production, fermentation*) que, combinadas, restringiram os resultados às informações que se desejavam obter. Na Figura 4b, são mostrados os percentuais dos resultados para artigos científicos e patentes referentes à rota bioquímica de produção do AI, identificados de acordo com a inovação proposta, ou seja, o tipo de microrganismo (desenvolvimento de novas cepas e alterações nos seus genes a partir da engenharia genética), substrato (fontes de biomassa) e o processo de produção (reatores *air-lift* (ARL), tanque agitado (STR) e contínuo).

Para o tipo de microrganismo, foram mapeados os fungos mais utilizados na produção de AI. Pode-se constatar que o principal fungo, representando 58% das publicações, foi o *Aspergillus terreus*, seguido da *Escherichia coli* (21%), *Ustilago maydis* (10%), *Aspergillus niger* (7%) e *Pseudozyma antarctica* (5%). A maior parte das publicações está relacionada à modificações genéticas, voltadas para o desenvolvimento de microrganismos mais resistentes ao processo fermentativo, que potencializam as plataformas microbianas conferindo um caráter mais robusto, com elevada capacidade de transportar oxigênio e suportar impurezas do meio reacional.

A glicose tem sido a substância mais utilizada no processo fermentativo como substrato de partida, aparecendo em 52% dos resultados da busca, seguida do glicerol (25%), amido (15%), xilose

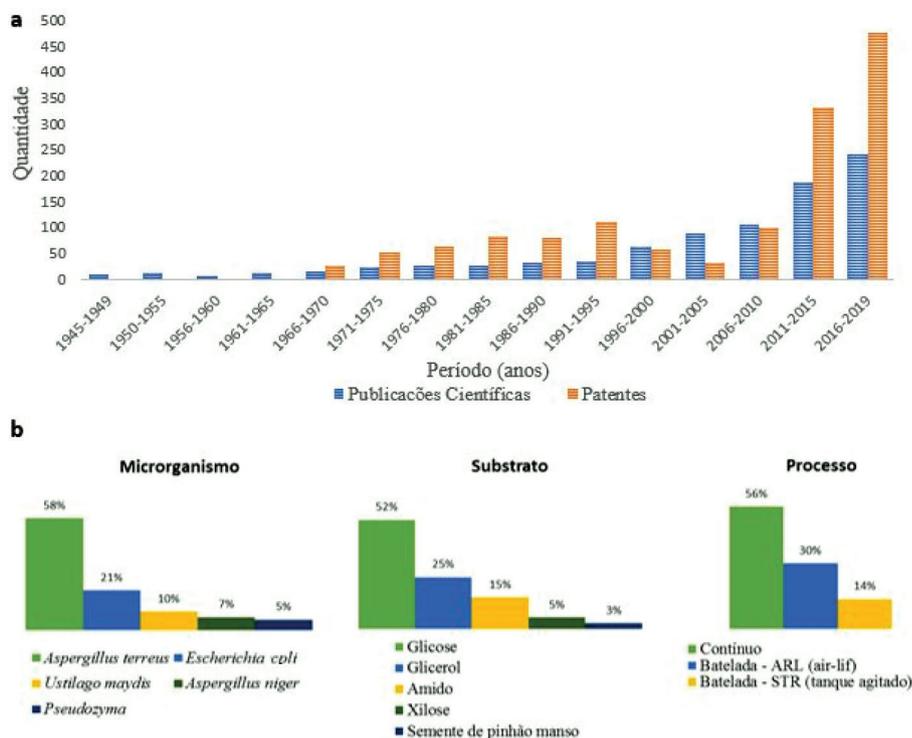


Figura 4. a) Número de publicações científicas e patentes selecionadas a partir dos bancos de dados Web of Science e Derwent Index, utilizando no campo de busca a palavra-chave “itaconic acid”. b) Percentuais de publicações científicas e patentes referentes a rota bioquímica de produção do ácido itacônico quanto ao tipo de microrganismo, substrato e processo

(5%) e pinhão manso (3%). A glicose possui um maior fluxo metabólico na geração do piruvato, através da glicólise, apresentando os melhores resultados durante a fermentação. Quanto aos demais substratos, verifica-se um menor número de publicações em virtude, possivelmente, da menor disponibilidade da biomassa lignocelulósica, apesar de alguns dos resultados de rendimento em AI serem próximos aos obtidos com a utilização da glicose.

Com relação ao tipo de processo, a fermentação contínua destaca-se como o principal método utilizado, representada por 56% dos resultados da busca. Esse tipo de processo apresenta como uma das vantagens a possibilidade de substituição contínua do meio de cultura, amenizando a geração de inibidores durante o processo reacional da fermentação.

Tecnologias para a síntese do ácido itacônico

A produção do ácido itacônico ocorre a partir de rotas biológicas. As variáveis críticas do processo de fermentação são o pH, aeração, separação dos produtos e escolha da matéria-prima, fonte de carbono. O pH afeta a taxa de produção de AI, e deve se situar entre 2 e 3. O estresse hidromecânico, a que o fungo é submetido durante a aeração e a distribuição homogênea do oxigênio gasoso, está diretamente relacionado ao crescimento do microrganismo.^{36,37} O custo da separação a jusante da fermentação (que tem impacto em mais de 30% do custo de produção) e a escolha da matéria-prima renovável e de baixo custo são desafios a serem superados.

Na Figura 5, um esquema da via metabólica de produção do ácido itacônico é apresentado.

O mecanismo para a biossíntese do AI ocorre a partir da transformação de açúcares em piruvato por intermédio do processo de oxidação a cis-aconitato no Ciclo de Krebs ou no Ciclo dos Ácidos Tricarboxílicos (TCA).^{38,39} O cis-aconitato é o iniciador mais utilizado, e é sintetizado a partir da condensação da acetil-CoA e do oxaloacetato para gerar o citrato com subsequente desidratação a cis-aconitato.⁴⁰

A enzima utilizada nesse processo é o cis-aconitato descarboxilase (CAD), que remove a carboxila do ácido cis-aconitato a AI.⁴¹

Na Tabela 2 é mostrada uma relação dos principais microrganismos utilizados na síntese do AI, suas respectivas produções e substratos utilizados.⁴²⁻⁸²

Verifica-se que há diversos microrganismos sendo testados em laboratório para a produção do AI. Cada um apresenta vantagens e desvantagens que devem ser consideradas na análise do melhor sistema a ser usado, visando aplicação em uma planta industrial. Dentre os microrganismos utilizados no processo de biossíntese do AI, destacam-se o *Ustilago maydis*, a *Escherichia coli*, a *Pseudozyma antarctica*, o *Aspergillus niger* e o *Aspergillus terreus*.

O *A. terreus* é o microrganismo mais utilizado e possui boa resistência a impurezas.⁴² Sua produtividade depende fortemente da aeração no biorreator, uma vez que as células do fungo crescem na forma de *pellets* que formam uma barreira de transferência de massa no biorreator, prejudicando a difusão do oxigênio do ar.¹⁹ Esse problema pode ser minimizado com a injeção de ar enriquecido com oxigênio no sistema.

A partir de modificações genéticas e uso de diferentes substratos durante a etapa fermentativa, foram obtidos diversos resultados que variam em uma larga faixa de produção de AI. Verifica-se uma tentativa de potencializar a etapa fermentativa utilizando o *Aspergillus terreus*, através de modificações genéticas, a exemplo da superexpressão dos principais genes relacionados - *cadA* (cis-aconitato descarboxilase), *mttA* (fator de determinação da transcrição mitocondrial) e *mfsA* (transporte de plasma) -, que influenciam diretamente na concentração de AI (Figura 6).^{14,36}

O melhor resultado para o *Aspergillus terreus*, individualmente, foi encontrado para a cepa DSM 23081. Foram obtidos 160 g L⁻¹ de AI, com rendimento de 0,58 g g⁻¹, utilizando a glicose como substrato.⁶¹

O uso do *Aspergillus niger* tem uma longa tradição na produção de celulase, pectinase, entre outras enzimas, e ácidos orgânicos, sendo amplamente utilizado na biotecnologia. A eficiência da biossíntese do

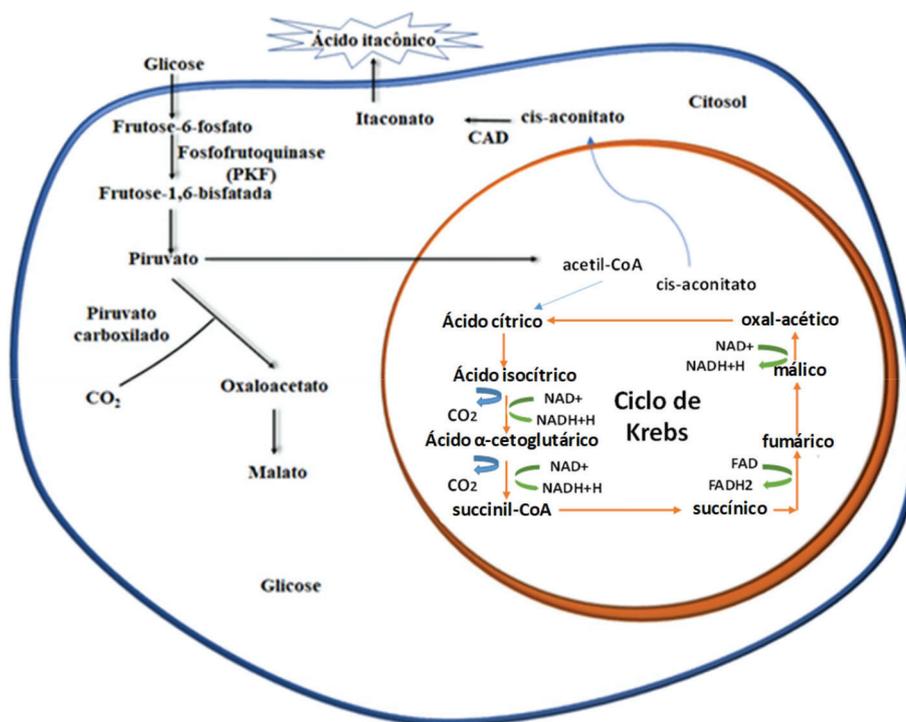


Figura 5. Esquema da via metabólica para a biossíntese do ácido itacônico. Adaptado da ref. 22

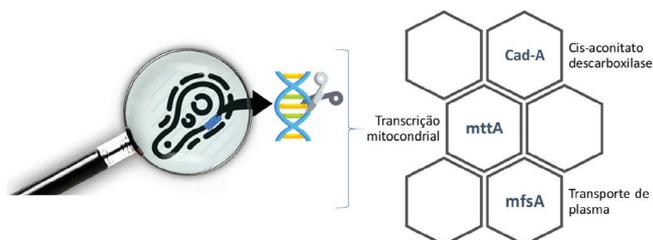


Figura 6. Principais modificações genéticas no microrganismo *Aspergillus terreus*

AI utilizando essa plataforma microbiana é baixa, quando comparada com os valores de produção do ácido cítrico, oxálico ou glucônico. Na tentativa de maximizar a produção do AI, a engenharia genética tem buscado direcionar esforços na expressão heteróloga (expressão de um gene, ou parte dele, no microrganismo hospedeiro) do cis-aconitato descarboxilase durante o ciclo de Krebs.⁸³

A melhor produção de AI usando o *Aspergillus niger* foi de 29,2 g L⁻¹, empregando a glicose como substrato.⁷⁰ Verifica-se que esse resultado é 82% inferior em relação ao melhor resultado reportado com o *A. terreus* DSM 23081 (160 g L⁻¹).⁶¹ Os autores propuseram a investigação do transcriptoma (reflexo direto da expressão dos genes) do *A. niger* visando potencializar a biossíntese do AI através de alterações genéticas, por meio da ação de itaconil-CoA transferase (IctA), itaconil-CoA hidratase (IchA) e citramailil-CoA liase, mesma rota identificada para o *A. terreus*.⁷⁰

Ao se utilizar o microrganismo *U. maydis* e glicose como substrato, obteve-se uma boa produção de AI (53,5 g L⁻¹), alcançando um rendimento de 0,47 g g⁻¹.⁷⁴ Esse valor é inferior quando comparado aos resultados utilizando o *A. terreus*. Uma vantagem do *U. maydis* reside no fato de que, apesar de ser um fungo filamentosos, sua morfologia é semelhante à de leveduras (basidiomiceto), o que facilita a transferência de oxigênio, além de apresentar baixa viscosidade, baixa sensibilidade ao estresse hidromecânico e rápido crescimento no meio reacional.

A melhor produção do *U. maydis* foi de 220 g L⁻¹ de AI, com

rendimento de 0,48 g g⁻¹, utilizando a glicose como fonte de carbono.⁷⁵ Esse aumento significativo da produção de AI foi devido à geração de diferentes cepas hiper produtoras de itaconato, utilizando os genomas CRISPR/Cas9 e FLP/FRT, ferramentas de edição para exclusão de genes, substituição de promotores e superexpressão de genes, que relacionados com a morfologia e patologia do fungo, impactam diretamente no seu crescimento durante a etapa fermentativa.⁷⁵

Outro exemplo do uso da engenharia genética para otimizar a produção de AI pode ser dado com o *E. coli*, considerando que, quando comparado aos demais fungos, esse microrganismo apresenta maior acessibilidade e facilidade quanto à manipulação dos genes e um crescimento celular mais rápido. Ao se utilizar o microrganismo *E. coli* modificado, com a incorporação dos genes *cadA* do *Aspergillus terreus* e *gltA* (*Corynebacterium glutamicum*), o melhor resultado obtido foi 32 g L⁻¹ de AI, com rendimento de 0,68 mol mol⁻¹, utilizando a glicose como fonte de carbono.⁷⁹ A *E. coli* apresenta grande potencial na produção de AI, devido a sua flexibilidade metabólica. Entretanto, o excesso de substrato no meio reacional, direciona a biossíntese para a rota do oxaloacetato formando acetato, um subproduto da reação, e minimiza a formação de hidroximetilfurfural (HMF) e furfural.⁸⁰

Com a *Pseudozyma antarctica* NRRL Y-7808, obteve-se produção de 30 g L⁻¹ de AI, utilizando no processo fermentativo quantidades reduzidas de nitrogênio, com a finalidade de induzir melhorias no processo de produção do AI e minimizar a formação de inibidores.⁸²

Em relação ao substrato, a glicose é a mais usada; entretanto, seu custo e disponibilidade é uma desvantagem. O substrato é importante do ponto de vista econômico levando em conta a competitividade do processo. Alguns autores vêm trabalhando com resíduos de biomassa que, embora tenham baixos custos, necessitam de etapas de pré-tratamento para que possam atingir produção competitiva.

O uso da palha de trigo como substrato resultou em um rendimento de 0,41 g g⁻¹.⁶⁰ Os autores fizeram o pré-tratamento da matéria-prima seguido da sacarificação, a fim de determinar a concentração dos açúcares presentes no hidrolisado. A partir dessa informação, os autores prepararam um hidrolisado da palha de trigo artificial na mesma concentração e quantidade de monossacarídeos

Tabela 2. Microrganismos e substratos usados na produção de ácido itacônico

Microrganismo / cepa	Substrato	Produção, g L ⁻¹	Rendimento, g g ⁻¹	Ref.		
<i>Aspergillus terreus</i>	NRRL 1960		87,32	NA	42	
		Glicose		49,5	0,41	43
				23,2	NA	44
				51,9	NA	45
	NRRL 1960	Xilose	35,2	NA	45	
		Arabinose	32,1	NA		
		Glicose, xilose e arabinose	30,8	NA		
			73,6	NA		46
		Glicose	NA	0,31		47
	NRRL 1972	Glicose		60	NA	48
				NA	0,21	49
			50	0,41	50	
		M69	Ácido acético	33,6	0,56	52
		TN-484	Amido de milho	60	NA	53
		ATCC 10020	Casca de arroz	1,9	4,9.10 ⁻³	54
		C1	Amido de batata	30,8	0,35	55
		C2	Amido de batata	23,4	0,34	
		SKR10	Amido de milho, maçã e banana	20	NA	56
			Amido de milho	31		
	NRRL 1961	Glicose	49,8	NA	57	
		Xilose	38,9			
		Arabinose	34,8			
		Glicose, xilose e arabinose	33,2			
DSM 23081	Glicose	86,2	0,62	58		
		146	0,58	59		
	Palha de trigo		27,7	0,41	60	
		Glicose	160	0,58	61	
		105	NA	62		
	A729	Glicose	45,5	NA	63	
<i>Aspergillus niger</i>	-	Semente de pinhão manso	24,45	NA	64	
			48,7	NA	65	
	Glicerol	26,9	NA	66		
		26,2	NA	67		
	Glicose		2,0	NA	68	
			4,92	NA	69	
			29,2	0,37	70	
<i>Ustilago maydis</i>	Sorbitol		8	NA	71	
		Sorbitol e xilose	7,1	NA	72	
	Glicose		4	NA	73	
			53,5	0,47	74	
	220	0,48	75			
	Celulobiose	5,0	NA	76		
<i>Ustilago vetiveriae</i> TZ1	Glicerol	34,7	0,18	77		
<i>Escherichia Coli</i>	Glicose		0,34	NA	78	
			32	0,49	79	
<i>Escherichia Coli</i>	Glicose	5,7	0,62	80		
	Acetato	3,57	0,32	81		
<i>Pseudozyma antarctica</i>	Glicose	30	0,37	82		

g L⁻¹: grama de itaconato por litro de substrato; g g⁻¹: grama de itaconato por grama de substrato; NA: não informado no artigo.

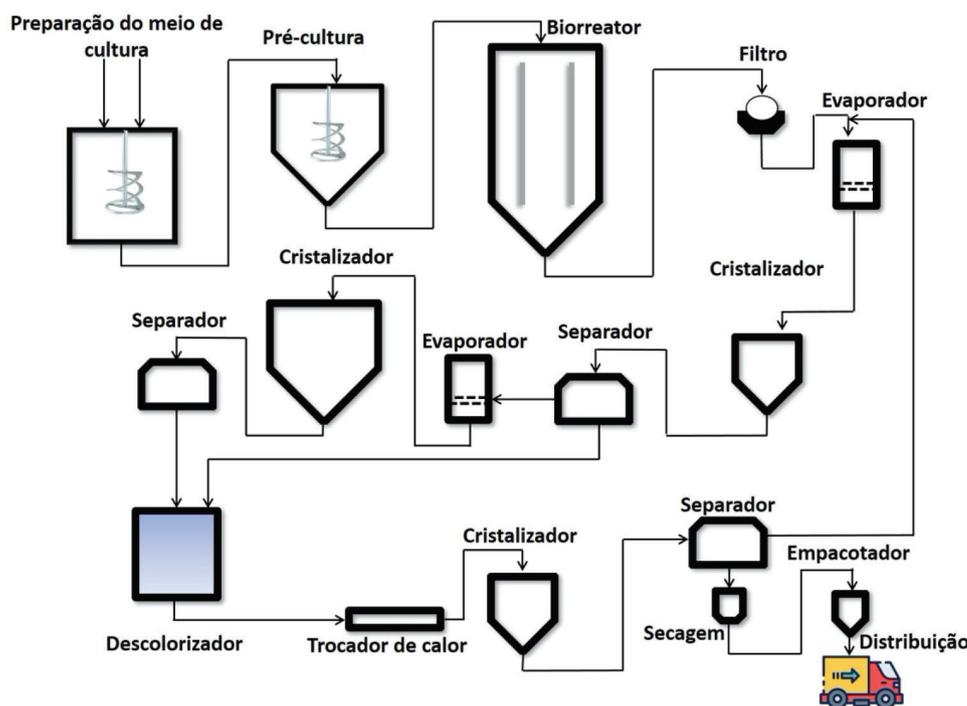


Figura 7. Diagrama esquemático do processo de produção do ácido itacônico. Adaptado da ref. 22

que o hidrolisado real.⁶⁰ Furfural e HMF foram responsáveis por minimizarem as atividades de enzimas intracelulares, como o piruvato, resultando em um menor fluxo de acetil-CoA no TCA, impactando de forma negativa na produção de AI.

O uso de hidrolisado artificial pode ser considerado uma estratégia para a potencialização da produção do AI, uma vez que os valores, quando comparados com o substrato bruto, mostram que o rendimento aumentou de 0,27 g g⁻¹ para 0,41 g g⁻¹, cerca de 51,82%, e produção de 23,3 g L⁻¹ para 27,7 g L⁻¹, o equivalente a 18,88%.⁶⁰

Produção industrial do ácido itacônico

A biossíntese do AI pode ser desenvolvida em uma biorrefinaria, unidade industrial que integra processos e equipamentos de conversão de biomassa e seus resíduos, responsável pelos novos processos de transformação, onde espera-se que os produtos resultantes sejam altamente rentáveis.^{84,85}

Na produção industrial do AI, são necessárias 6 etapas: filtração, fermentação, descoloração, purificação, secagem e empacotamento. Além disso, caso se deseje um aumento da pureza do ácido, etapas de purificação, como extração por solvente, troca iônica e re-descoloração, podem ser repetidas o quanto for necessário.³ Na Figura 7, é mostrado o diagrama referente ao processo de produção do AI, no qual, após as etapas de preparação da cultura, o caldo segue para a etapa de filtração com a finalidade de reter micélios e sólidos em suspensão, resultantes do processo fermentativo. Posteriormente, ocorre o processo duplo de cristalização por resfriamento até 15 °C. O caldo resultante passa por um trocador de calor, recristalizado, seco e empacotado para ser distribuído.

Tratando-se da produção industrial do AI, a fermentação ocorre em batelada (fermentação descontínua), em reatores do tipo *air-lift* (ARL) ou, em reator de tanque agitado (STR). Para um reator STR, a produtividade máxima foi de 0,48 g L⁻¹ h⁻¹ de AI. Já com o ARL, a taxa aumentou para 0,64 g L⁻¹ h⁻¹, com alimentação de O₂ a 0,41 L min⁻¹.⁸⁶ Com relação à fermentação do AI, o ARL melhora a produção quando comparada com a do STR, e diminui o cisalhamento, responsável por provocar alterações morfológicas irreversíveis no

fungo, prejudicando o processo produtivo.^{87,88} O efeito da agitação deve ser avaliado e tratado de forma criteriosa, uma vez que irá afetar a estrutura morfológica do fungo. O impelidor mais adequado é do tipo “orelha de elefante”, pois além de amenizar o cisalhamento, apresenta baixo consumo de energia durante o cultivo das células.⁸⁹

A produção industrial em reator contínuo tem como vantagem a minimização da formação de inibidores durante o processo reacional, por ocorrer substituição contínua do meio de cultura. Verifica-se nesse sistema uma produtividade de AI quatro vezes maior (1,2 g L⁻¹ h⁻¹) em relação à fermentação descontínua (0,3 g L⁻¹ h⁻¹).⁹⁰

CONCLUSÕES

O ácido itacônico é uma molécula plataforma de interesse para ser produzida em uma biorrefinaria, agregando valor ao sistema. A diversidade de substratos que podem ser utilizados é uma vantagem, mas a glicose tem sido o substrato mais utilizado na produção de AI. O uso de resíduos de biomassa pode melhorar a competitividade do processo de produção do AI devido ao baixo custo da matéria-prima. Entretanto, as etapas de pré-tratamento e hidrólise ainda precisam de desenvolvimento tecnológico para que tenha viabilidade econômica. O custo de produção de pelo menos 1,7 US\$ kg⁻¹ é o fator que mais dificulta a ampliação do seu mercado. Atualmente, o AI é produzido industrialmente utilizando o microrganismo *A. terreus* com modificações em seus genes, em virtude de apresentar as maiores taxas de produção. Entretanto, o fungo filamentososo *U. maydis*, MB215 surge com boa expectativa, considerando o potencial de produção de 220 g L⁻¹. O principal desafio tecnológico reside na obtenção de cepas geneticamente modificadas, com diferenciação celular em um mesmo microrganismo, superexpressão dos principais genes relacionados a produção do AI, que influenciam a eficiência da etapa fermentativa.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Os autores agradecem também

os apoios recebidos do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB).

REFERÊNCIAS

- Bafana, R.; Pandey, R. A.; *Crit. Rev. Biotechnol.* **2017**, *38*, 68.
- Galembeck, F.; Barbosa, C. A. S.; Souza, R. A.; *Quim. Nova* **2009**, *32*, 571.
- Teleky, B.-E.; Vodnar, D. C.; *Polymers* **2019**, *11*, 1035.
- Ferreira, V. F.; Silva, F. C.; *Quim. Nova* **2013**, *36*, 1514.
- Vaz Júnior, S.; Soares, I. P.; Ferreira, P. G.; *Quim. Nova* **2014**, *37*, 709.
- Luo, Y.; Zheng, L.; Xiaoling, L.; Xiaofeng, L.; Fan, J.; Clark, J. H.; Hu, C.; *Catal. Today* **2019**, *319*, 14.
- Moura, H. O. M. A.; Campos, L. M. A.; Da Silva, V. L.; De Andrade, J. C. F.; De Assumpção, S. M. N.; Pontes, L. A. M.; Carvalho, L. S.; *Cellulose* **2018**, *25*, 5669.
- Guerra, G. N.; Albuquerque, E. C. M. C.; Campos, L. M. A.; Pontes, L. A. M.; *J. Nat. Fibers* **2019**, *16*, 1.
- Rodrigues, J. A. R.; *Quim. Nova* **2011**, *34*, 1242.
- Werpy, T.; Petersen, G.; Department of Energy, Energy Efficiency and Renewable Energy: Washington, DC, USA, 2004; Volume 1 2004.
- Hedge, K.; Prabhu, A.; Sarma, S. J.; Brar, S. K.; Dasu, V. V. Em *Platform Chemical Biorefinery: Future Green Chemistry*, Brar, S. K.; Sarma, S. J.; Pakshirajan, K., eds.; Elsevier: Amsterdam, 2016, cap. 10.
- Nieder-Heitmann, M.; Haigh, K. F.; Görgens, J. F.; *Bioresour. Technol.* **2018**, *262*, 159.
- Magalhães Júnior, A. I.; De Carvalho, J. C.; Medina, J. D. C.; Soccol, C. R.; *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2016**, *101*, 1.
- Saha, B. C.; *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **2017**, *44*, 303.
- El-Imam, A. A.; Du, C.; *J. Biodivers. Biopros. Dev.* **2014**, *1*, 119.
- Regestein, L.; Klement, T.; Grande, P.; Kreyenschulte, D.; Heyman, B.; Maßmann, T.; Eggert, A.; Sengpiel, R.; Wang, Y.; Wierckx, N.; Blank, L. M.; Spiess, A.; Leitner, W.; Bolm, C.; Wessling, M.; Jupke, A.; Rosenbaum, M.; Büchs, J.; *Biotechnol. Biofuels* **2018**, *11*, 279.
- Hejian, H.; Yusoff, M. W.; *Curr. Res. J. Biol. Sci.* **2015**, *2*, 37.
- Klement, T.; Milker, S.; Jäger, G.; Grande, P. M.; Domínguez, M. P.; Büchsch, J.; *Microb. Cell Fact.* **2012**, *11*, 43.
- Kuenz, A.; Krull, S.; *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2018**, *102*, 3901.
- Willke, T.; Vorlop, K.D.; *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2001**, *56*, 289.
- Klement, T.; Büchs, J.; *Bioresour. Technol.* **2013**, *135*, 422.
- Cruz, J. C.; Castro, A. M.; Camporese Sérulo, E. F.; *3 Biotech.* **2018**, *8*, 138.
- Jing Y.; Hao Xu, J. J.; Jiang, J.; Zhang, N.; Xie, J.; Wei, M.; Zhao, J.; *J. Bioresour. Bioprod.* **2019**, *4*, 135.
- Wierckx, N.; Agrimi, G.; Lübeck, P. S.; Steiger, M. G.; Mira, N. P.; Punt, P. J.; *Environ. Biotechnol.* **2020**, *62*, 153.
- Voll, A.; Klement, T.; Gerhards, G.; Buechs, J.; Marquardt, W.; *Chem. Eng. Trans.* **2012**, *27*, 367.
- Trivedi, J.; Bhonsle, A. K.; Atray, N. Refining Biomass Residues for Sustainable Energy and Bioproducts **2020**.
- Kirimura, K.; Yoshioka, I.; *Compr. Biotechnol.* **2011**, *3*, 166.
- Troiano, D.; Orsat, V.; Dumont, M. J.; *Renewable Sustainable Energy Rev.* **2020**, *117*, 109472.
- <https://www.wrcbtv.com/story/41571213/itaconic-acid-market-trend-2020-by-manufactures-types-applications-regions-and-forecast-to-2026>, acessada em junho de 2020.
- Carvalho, J.C.; Magalhães, A.; Soccol, C.; *Chim. Oggi* **2018**, *36*, 56.
- <https://markets.businessinsider.com/news/stocks/global-itaconic-acid-industry-1029119853>, acessada em junho de 2020.
- <https://www.openpr.com/news/1910970/exhaustive-study-on-itaconic-acid-market-2020-strategic>, acessada em junho de 2020.
- <https://www.reportsanddata.com/report-detail/itaconic-acid-market>, acessada em junho de 2020.
- Magalhães, A. I. J.; Carvalho, J. C.; Thoms, J. F.; Medina, J. D. C.; Soccol, C. R.; *J. Cleaner Prod.* **2019**, *206*, 336.
- Huang, X.; Chen, M.; Lu, X.; Li, Y.; Li, X.; Li, J. J.; *Microb. Cell Fact.* **2014**, *13*, 108.
- Zhao, M.; Lu, X.; Zong, H.; Li, J.; Zhuge, B. I.; *Biotechnol. Lett.* **2018**, *40*, 455.
- Karaffa, L.; Kubicek, C. P.; *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2019**, *103*, 2889.
- Cordes, T.; Lucas, A.; Divakaruni, A. S.; Murphy, A. N.; Cabrales, P.; Metallo, C. M.; *Mol. Metab.* **2020**, *32*, 122.
- Martínez-Reynés, I.; Chandel, N. S.; *Nat. Commun.* **2020**, *11*, 102.
- Ryan, D. G.; O'Neill, L. A. J.; *Annu. Rev. Immunol.* **2020**, *38*, 289.
- Boruta, T.; Bizukojc, M.; *World J. Microbiol. Biotechnol.* **2017**, *33*, 34.
- Komáromy, P.; Bakonyi, P.; Kucska, A.; Tóth, G.; Gubicza, L.; Bélafi-Bakó, K.; Nemestóthy, N.; *Fermentation* **2019**, *5*, 31.
- Nelson, G. E. N.; Traufler, D. H.; Kelley, S. E.; Lockwood, L. B.; *Ind. Eng. Chem.* **1952**, *44*, 1166.
- Larsen, H.; Eimhjellen, K. E.; *Biochem. J.* **1955**, *6217*, 135.
- Saha, B. C.; Kennedy, G. J.; *J. Microbiol. Methods* **2018**, *144*, 53.
- Molnár, Á. P.; Németh, Z.; Kolláth, I.S.; Fekete, E.; Flippfi, M.; Ág, N.; Soós, Á.; Kovács, B.; Sándor, E.; Kubicek, C. P.; Karaffa, L.; *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2018**, *102*, 8799.
- Nemestóthy, N.; Bakonyi, P.; Komáromy, P.; Bélafi-Bakó, K.; *Biotechnol. Lett.* **2019**, *41*, 1383.
- Pfeifer, V. P.; Vojnovich, C.; Heger, E. N.; *Ind. Eng. Chem.* **1952**, *44*, 2975.
- Songserm, P.; Thitiprasert, S.; Tolieng, V.; Piluk, J.; Tanasupawat, S.; Assabumrungrat, S.; Yang, S-T.; Karnchanat, A.; Thongchul, N.; *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2015**, *177*, 595.
- Karaffa, L.; Díaz, R.; Papp, B.; Fekete, E.; Sándor, E.; Kubicek, C. P. A.; *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2015**, *99*, 7937.
- Saha, B. C.; Kennedy, G. J.; *Biocatal. Agric. Biotechnol.* **2019**, *18*, 101016.
- Liu, Y.; Liu, G.; Zhang, J.; Balan, V.; Bao, J.; *Biomass Conv. Bioref.* **2020**, *10*, 463.
- Yahiro, K.; Shibata, S.; Jia, S.; Park, Y. Okabe, M.; *J. Ferment. Bioeng.* **1997**, *84*, 375.
- Pedroso, G. B.; Montipó, S.; Mario, D. A. N.; Alves, S. H.; Martins, A. F.; *Biomass Convers. Biorefin.* **2017**, *7*, 23.
- Bafana, R.; Sivanesan, S.; Pandey, R. A.; *Indian J. Microbiol.* **2017**, *57*, 322.
- Reddy, C. S. K.; Singh, R. P.; *Bioresour. Technol.* **2002**, *85*, 69.
- Saha, B. C.; Kennedy, G. J.; Qureshi, N.; Bowman, M. J.; *Biotechnol. Prog.* **2017**, *33*, 1059.
- Kuenz, A.; Gallenmüller, Y.; Willke, T.; Vorlop, K.-D.; *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2012**, *96*, 1209.
- Hevekerl, A.; Kuenz, A.; Vorlop, K. D.; *J. Microbiol. Biotechnol.* **2014**, *98*, 10005.
- Krull, S.; Eidt, L.; Hevekerl, A.; Kuenz, A.; Prübe, U.; *Process Biochem. (Oxford, U. K.)* **2017**, *63*, 169.
- Krull, S.; Hevekerl, A.; Kuenz, A.; Prübe, U.; *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2017**, *101*, 4063.
- Kreyenschulte, D.; Heyman, B.; Eggert, A.; Maßmann, T.; Kalvelage, C.; Kossack, R.; Regestein, L.; Jupke, A.; Büchs, J.; *Biochem. Eng. J.* **2018**, *135*, 133.
- Tevž, G.; Bencina, M.; Legiša, M.; *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2010**, *87*, 1657.
- Rao, D. M.; Hussain, S. M. D. J.; Rangadu, V. P.; Subramanyam, K.; Krishna, G. S.; Swamy, A.V. N.; *Afr. J. Biotechnol.* **2007**, *6*, 2140.
- El-Imam, A. M. A.; Kazeem, M. O.; Odebisi, M. B.; Mushaffa, A. O.; Abidoye, A. O.; *Not. Sci. Biol.* **2013**, *5*, 57.

66. Vassilev, N.; Medina, A.; Eichler-Löbermann B, Flor-Peregrín, E.; Vassilev, M.; *Appl. Biochem. Biotechnol.* **2012**, *168*, 1311.
67. Hossain, A. H.; Li, A.; Brickwedde, A.; Wilms, L.; Carpers M.; Overkamp, K.; Punt, P. J.; *Microb. Cell Fact.* **2016**, *15*, 130.
68. Li, A. Pflzer, N.; Zuijderwijk, R.; Punt, P.; *BMC Biotechnol.* **2012**, *12*, 57.
69. Yin, X.; Shin, H.; Li, J.; Du, G.; Liu, L.; Chen, J.; *Appl. Environ. Microbiol.* **2017**, *83*, 57.
70. Hossain, A. H.; Beek, A. T.; Punt, P. J.; *Fungal Biol. Biotechnol.* **2019**, *6*, 1.
71. Van Der Straat, L.; Tamayo-ramos, J.A.; Schonewille, T.; Graaff, L. H.; *AMB Express* **2013**, *3*, 1.
72. Van der Straat, L.; Vernooij, M.; Lammers, M.; Van Den Berg, W.; Schonewille, T.; Cordewener, J.; Van der Meer, I.; Koops, A.; De Graaff, L. H.; *Microb. Cell Fact.* **2014**, *13*, 11.
73. Carstensen F.; Klement T.; Buchs J.; *Bioresour. Technol.* **2013**, *137*, 179.
74. Becker, J.; Tehrani, H. H.; Gauert, M.; Mampel, J.; Blanck, L. M.; Wierckx, N.; *Microb. Biotechnol.* **2020**, *13*, 350.
75. Tehrani, H. H.; Becker, J.; Bator, I.; Saur, K.; Meyer, S.; Lóia, A C. R.; Blank, L. M.; Wierckx, N.; *Biotechnol. Biofuels* **2019**, *12*, 263.
76. Geiser E., Reindl, M.; Blank, L. M.; Feldbrügge, M., Wierckx, N, Schipper K.; *Appl. Environ. Microbiol.* **2016**, *82*, 5174.
77. Zambanini, T.; Hosseinpour, H. T.; Geiser, E.; Merker, D.; Schleese, S.; Krabbe, J.; Buescher, J. M.; Meurer, G.; Wierckx, N.; Blank, L. M.; *Biotechnol. Biofuels* **2017**, *10*, 131.
78. Okamoto S, Chin T.; Hiratsuka, K.; Aso, Y.; Tanaka, Y.; Takahashi, T.; Ohora, H.; *J. Gen. Appl. Microbiol.* **2014**, *60*, 191.
79. Harder, B. J.; Bettenbrock, K.; Klamt, S.; *Metab. Eng.* **2016**, *38*, 29.
80. Tran, K. N. T.; Somasundaram, S.; Eom, G. T.; Hong, S. H.; *Biotechnol. Prog.* **2019**, *35*, 1.
81. Noh, M. H.; Lim, H. G.; Woo, S. H.; Song, J.; Jung, G. Y.; *Biotechnol. Bioeng.* **2017**, *115*, 729.
82. Levinson, W. E; Kurtzman, C. P.; Kuo, T. M.; *Enzyme Microb. Technol.* **2006**, *39*, 824.
83. Blumhoff, M. L.; Steiger, M. G.; Mattanovich, D.; *Metab. Eng.* **2013**, *19*, 26.
84. Arcaño, Y. D.; García, O. D. V.; Mandelli, D.; Carvalho, W. A.; Pontes, L. A. M.; *Catal. Today* **2018**, *333*, 100.
85. Dragone, G.; Kerssemakers, A. A. J.; Driessen, J. L. S. P.; Yamakawa, C. K.; Brumano, L. P.; Mussatto, S. I.; *Bioresour. Technol.* **2020**, *302*, 122847.
86. Yahiro, K.; Takahama, T.; Jai, S.; Park, Y.; Okabe, M.; *Biotechnol. Lett.* **1997**, *19*, 619.
87. Okabe, M.; Lies, D.; Kanamansa, S.; Park, E. Y.; *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2009**, *84*, 597.
88. Zhao, C.; Cui, Z.; Zhao, X.; Zhang, J.; Zhang, L.; Tian, Y.; Qi, Q.; Liu, J.; *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2019**, *103*, 2181.
89. Zhu, H.; Nienow, A. W.; Bujalski, W.; Simmons, M. J. H.; *Chem. Eng. Res. Des.* **2009**, *87*, 307.
90. Nunes, R. M. S.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade do Minho, Portugal, 2013.