



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE QUÍMICA
Curso de Engenharia Química

MATHEUS BURGO DE CARVALHO

MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE BIOFLOCULANTES: UMA REVISÃO

Trabalho de conclusão de curso

Goiânia
2026



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE QUÍMICA

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE GRADUAÇÃO NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio do Repositório Institucional (RI/UFG), regulamentado pela Resolução CEPEC no 1240/2014, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei no 9.610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo dos Trabalhos de Conclusão dos Cursos de Graduação disponibilizado no RI/UFG é de responsabilidade exclusiva dos autores. Ao encaminhar(em) o produto final, o(s) autor(a)(es)(as) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

1. Identificação do Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação (TCCG)

Nome(s) completo(s) do(a)(s) autor(a)(es)(as): Matheus Burgo de Carvalho

Título do trabalho: Métodos de extração de biofloculantes: Uma Revisão

2. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador) Concorda com a liberação total do documento [X] SIM [] NÃO¹

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante: a) consulta ao(a)(s) autor(a)(es)(as) e ao(a) orientador(a); b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo do TCCG. O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro.

Obs.: Este termo deve ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.



Documento assinado eletronicamente por **Matheus Burgo De Carvalho, Discente**, em 06/07/2026, às 10:02, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Carlos Alberto Galeano Suarez, Professor do Magistério Superior**, em 06/07/2026, às 14:41, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **6314930** e o código CRC **58AF0E69**.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE QUÍMICA
Curso De Engenharia Química

MATHEUS BURGO DE CARVALHO

MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE BIOFLOCULANTES: UMA REVISÃO

Monografia apresentada na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso da graduação em Engenharia Química do Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Galeano Suarez.

Goiânia
2026

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Carvalho, Matheus Burgo de
Métodos de extração de biofloculantes: uma revisão [manuscrito] /
Matheus Burgo de Carvalho. - 2026.
38 f.: 2026

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Galeano Suarez
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal
de Goiás, Instituto de Química (IQ), Engenharia Química, Goiânia, 2026.

Bibliografia.

Inclui: siglas, tabelas.

1. Biofloculantes. 2. Métodos de Extração. 3. Sustentabilidade
Industrial. 4. Tratamento de Água. 5. Revisão Integrativa.
I. Galeano Suarez, Carlos Alberto, orient. II. Título.

CDU 66.0



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE QUÍMICA

ATA DE DEFESA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

ATA DE DEFESA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Aos vinte e dois dias do mês de junho do ano de dois mil e vinte e seis iniciou-se a sessão pública de defesa do Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) intitulado “Métodos de extração de biofloculantes: Uma Revisão”, de autoria de Matheus Burgo de Carvalho, do curso de Engenharia Química, do Instituto de Química UFG. Os trabalhos foram instalados pelo Prof. Dr. Carlos Aberto Galeano Suarez - orientador (IQ/UFG), com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: Profa. Dra. Araceli Aparecida Seolatto (IQ/UFG) e Profa. Dra. Fernanda Ferreira Freitas (IQ/UFG). Após a apresentação, a banca examinadora realizou a arguição do(a) estudante. Posteriormente, de forma reservada, a Banca Examinadora atribuiu a nota final de **8,8**, tendo sido o TCC considerado **Aprovado**.

Proclamados os resultados, os trabalhos foram encerrados e, para constar, lavrou-se a presente ata que segue assinada pelos Membros da Banca Examinadora



Documento assinado eletronicamente por **Carlos Alberto Galeano Suarez, Professor do Magistério Superior**, em 29/06/2026, às 17:19, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Araceli Aparecida Seolatto, Professora do Magistério Superior**, em 30/06/2026, às 08:58, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Fernanda Ferreira Freitas, Professora do Magistério Superior**, em 30/06/2026, às 09:35, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **6298471** e o código CRC **C06C4F3E**.

"A ciência será sempre uma busca e jamais uma descoberta. É uma viagem, nunca uma chegada."

— Karl Popper

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pelo dom da vida e pela resiliência concedida para superar cada desafio desta caminhada acadêmica.

À minha família — meus pais, Murilo e Núbia, e meu irmão, Gabriel —, cujo suporte emocional e incentivo constante foram o combustível essencial para que eu me dedicasse integralmente aos estudos até aqui.

Ao meu orientador Carlos Alberto Galeano Suarez, pela paciência, condução brilhante e por acreditar neste projeto desde o início. Seus ensinamentos foram fundamentais para a minha evolução acadêmica.

Aos membros da banca examinadora, pela generosidade em aceitar o convite e pelas valiosas contribuições que enriqueceram este trabalho.

O meu profundo agradecimento à Universidade Federal de Goiás (UFG) e aos professores do curso, que com excelência e dedicação moldaram minha visão profissional e acadêmica ao longo desta trajetória.

Por fim, aos meus colegas, pela parceria nas salas de aula e nos trabalhos em equipe. A convivência com vocês enriqueceu não apenas minha formação, mas também a minha vida pessoal.

RESUMO

Com a necessidade de desenvolvimento de processos mais sustentáveis e menos agressivos ao meio ambiente e à saúde humana, a produção de biofloculantes e sua aplicação em sistemas de tratamento de água têm sido amplamente estudadas. O presente trabalho teve como objetivo avaliar os principais métodos de extração de biofloculantes dos meios de cultivo, reunindo seus mecanismos, parâmetros operacionais, assim como seu potencial econômico e ecológico, de modo a auxiliar futuras pesquisas de desenvolvimento de processos industriais e obtenção de novos biofloculantes. Este trabalho qualifica-se como uma pesquisa básica e descritiva, de natureza qualitativa, configurando-se como uma revisão integrativa da literatura científica. Os resultados indicam que os métodos físicos e as extrações salinas ou aquosas preservam a integridade estrutural das macromoléculas. Em contrapartida, tratamentos alcalinos e EDTA, apesar do alto rendimento bruto, causam lise celular e contaminação. Conclui-se que a viabilidade das técnicas reside no balanço de suas propriedades operacionais. Os métodos brandos apresentam a vantagem de recuperar polímeros extracelulares de alta pureza e atividade funcional, mas trazem como desvantagem um menor rendimento bruto ou cinéticas lentas. Já os métodos severos oferecem a vantagem de altos rendimentos nominais em frações fortemente ligadas, porém têm a severa desvantagem de induzir lise celular, degradar a estrutura macromolecular e gerar resíduos químicos secundários. Diante desses trade-offs, as rotas físicas assistidas por ultrassom ou micro-ondas e as extrações salinas consolidam-se como as mais promissoras, pois conciliam integridade estrutural, eficiência energética e princípios da Química Verde. Por fim, investigações posteriores devem focar em análises de ciclo de vida (ACV) e viabilidade econômica em escala industrial, além de desenvolver protocolos padronizados para o aproveitamento de resíduos agroindustriais locais e de plantas nativas do Cerrado.

Palavras-chave: biofloculantes, métodos de extração, sustentabilidade industrial, tratamento de água, revisão integrativa.

ABSTRACT

With the need to develop more sustainable processes that are less aggressive to the environment and human health, the production of bioflocclulants and their application in water treatment systems have been widely studied. The present study aimed to evaluate the main methods of extracting bioflocclulants from culture media, gathering their mechanisms, operational parameters, as well as their economic and ecological potential, in order to assist future research on the development of industrial processes and obtaining new bioflocclulants. This work qualifies as basic and descriptive research, of a qualitative nature, configured as an integrative review of scientific literature. The results indicate that physical methods and mild saline or aqueous extractions preserve the structural integrity of macromolecules. In contrast, alkaline treatments and EDTA, despite higher crude yields, cause cell lysis and contamination. It is concluded that the viability of the techniques resides in the balance of their operational properties. Mild methods present the advantage of recovering extracellular polymers of high purity and functional activity, but bring as a disadvantage lower crude yields or slow kinetics. On the other hand, harsh methods offer the advantage of high nominal yields in tightly bound fractions, but have the severe disadvantage of inducing cell lysis, degrading the macromolecular structure, and generating secondary chemical wastes. Given these trade-offs, physical routes assisted by ultrasound or microwaves, along with saline extractions, consolidate as the most promising since they reconcile structural integrity, energy efficiency, and Green Chemistry principles. Finally, subsequent investigations should focus on life cycle assessments (LCA) and economic viability on an industrial scale, as well as developing standardized protocols for utilizing local agro-industrial wastes and native plants from the Cerrado biome.

Keywords: bioflocclulants, water treatment, extraction methods, integrative review, industrial sustainability.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
1.1	CONTEXTUALIZAÇÃO.....	12
1.1.1	Floculantes sintéticos.....	12
1.1.2	Química Verde.....	13
1.1.3	Obstáculos para o scale-up da produção industrial de biofloculantes.....	13
1.2	OBJETIVOS.....	14
1.2.1	Objetivo geral.....	14
1.2.2	Objetivos específicos.....	14
2	METODOLOGIA.....	15
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	16
3.1	FLOCULAÇÃO.....	16
3.2	TIPOS DE FLOCULANTES.....	16
3.3	BIOFLOCULANTES.....	17
3.3.1	Definição.....	17
3.3.2	Processo de produção.....	18
3.3.3	Composição química das SPE.....	19
4	TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO DE BIOFLOCULANTES.....	21
4.1	EXTRAÇÃO FÍSICA.....	21
4.1.1	Extração por ultrassom.....	21
4.1.2	Extração por micro-ondas.....	23
4.2	EXTRAÇÃO QUÍMICA.....	24
4.2.1	Extração por solvente.....	24
<i>4.2.1.1</i>	<i>Extração em água.....</i>	<i>24</i>
<i>4.2.1.2</i>	<i>Extração em etanol.....</i>	<i>25</i>
<i>4.2.1.3</i>	<i>Extração em solução salina.....</i>	<i>27</i>
4.2.2	Tratamento alcalino.....	28
4.2.3	Extração por resina de troca iônica.....	31
4.2.4	Extração por ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA).....	33
4.3	COMPARAÇÃO ENTRE MÉTODOS.....	36
5	PERSPECTIVAS FUTURAS.....	41
6	CONCLUSÃO.....	42
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Tipos de floclulantes e exemplos.....	17
Tabela 2. Biofloclulantes baseados em microrganismos.....	18
Tabela 3. Relação entre os componentes das SPE e suas implicações para a extração.....	20
Tabela 4. Comparações entre métodos de extração.....	37
Tabela 5. Variáveis críticas dos diferentes métodos de extração.....	38

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CER	Cation exchange resin
CPC	Cloreto de cetilpiridíneo
kHz	Quilohertz
kW.L ⁻¹	Quilowatts por litro
SPE	Substâncias poliméricas extracelulares
SSV	Sólidos suspensos voláteis
SV	Sólidos voláteis

1 INTRODUÇÃO

1.1 CONTEXTUALIZAÇÃO

1.1.1 Floclantes sintéticos

Segundo a Organização Mundial da Saúde (2018), “o saneamento seguro é essencial para a saúde, desde a prevenção de infecções até a melhoria e manutenção do bem-estar mental e social”. Além disso, a precariedade no manejo de rejeitos não é apenas um risco à saúde pública, mas também ao meio ambiente. De acordo com a UNESCO (2015), "a falta de saneamento e a gestão precária de excrementos têm um impacto prejudicial no meio ambiente". Assim, o tratamento de água e de esgoto é parte fundamental da vida nas cidades, sendo o pilar principal do saneamento básico e atividade essencial para a saúde pública, preservação ambiental e desenvolvimento econômico da sociedade.

Conforme BOTERO et al. (2009), o processo de tratamento de água consiste em “operações de coagulação, floculação (as quais utilizam sulfato de alumínio e/ou cloreto férrico como floclantes), decantação e filtração para a clarificação da água, seguida de correção de pH, desinfecção e, em alguns casos, de fluoretação”. A etapa de floculação, por sua vez, tem o papel de aglomerar partículas de diferentes tamanhos, promovendo sua sedimentação e posterior separação da água que está sendo tratada. Segundo BERNARDO et al. (2005), a floculação corresponde ao processo no qual “são fornecidas condições para facilitar o contato e a agregação de partículas previamente coaguladas, visando a formação de flocos com tamanho e massa específica que favoreçam sua remoção”.

Esta etapa é historicamente realizada com uso de floclantes sintéticos, que são mais econômicos e disponíveis, mas podem causar impactos negativos ao meio-ambiente. YOU et al. (2017) salienta que floclantes inorgânicos costumam ser ineficientes, necessitando de uma alta dosagem para funcionarem adequadamente, além de contaminarem a biomassa com sais metálicos. Além disso, LI et al. (2008) destacam que, embora os floclantes sintéticos sejam amplamente utilizados em razão de seu baixo custo, esses materiais não são facilmente biodegradáveis, e algum de seus monômeros, como a acrilamida, apresentam propriedades neurotóxicas e cancerígenas. Nesse contexto, torna-se necessária a busca por alternativas tecnológicas capazes de promover o tratamento de águas residuais sem os potenciais riscos ambientais e à saúde associados aos floclantes sintéticos amplamente empregados na indústria atualmente.

1.1.2 Química Verde

O desenvolvimento sustentável tem ganhado importância nas últimas décadas, na medida em que somam-se esforços para tornar os processos industriais mais verdes e sustentáveis. De acordo com CLARK (1999), nos dias atuais, o desenvolvimento sustentável é enxergado como uma meta não apenas ambiental, mas também social e econômica por governos, pela indústria e pelo público. Assim, bioprocessos têm ganhado importância com a necessidade crescente de transformar subprodutos em materiais valiosos, que substituam materiais não renováveis. Segundo DORNELAS (2026), os avanços da biotecnologia viabilizaram o emprego de diversos microrganismos como plataformas celulares capazes de transformar matérias-primas renováveis em produtos de alto valor agregado.

Uma alternativa aos floculantes sintéticos amplamente investigada são os biofloculantes, definidos como agentes floculantes naturais obtidos a partir de matérias-primas renováveis. Segundo SILVA, FARIAS e FERNANDES (2025), floculantes de origem biológica são substâncias obtidas a partir de organismos vivos e são caracterizadas por sua origem, desempenho, composição e biodegradabilidade. Além disso, conforme revisado por MISHRA et al. (2025), a literatura científica recente tem dedicado crescente atenção aos biofloculantes em virtude de sua baixa toxicidade, biodegradabilidade e baixo custo. Assim, essas moléculas apresentam elevado potencial para promover processos de tratamento de água e de resíduos mais sustentáveis e ecológicos, viabilizando o fechamento de ciclos em sistemas de economia circular.

1.1.3 Obstáculos para o scale-up da produção industrial de biofloculantes

Apesar do potencial dessas biomoléculas, a transição dos resultados promissores obtidos em bancada para a produção em larga escala ainda enfrenta importantes entraves operacionais e econômicos, que restringem sua inserção mercadológica. Entre os principais obstáculos à produção industrial de biofloculantes destaca-se o elevado custo de produção, especialmente em comparação com floculantes tradicionais, além do baixo rendimento de determinadas cepas e da complexidade das etapas de extração e purificação. Soma-se a isso a ausência de padronização industrial, uma vez que a composição e as propriedades desses bioprodutos podem variar conforme a espécie microbiana empregada, as condições de cultivo e os métodos de extração, favorecendo variações entre lotes, inconsistência de qualidade e redução da reprodutibilidade. Além disso, a literatura indica que grande parte dos estudos ainda permanece concentrada em escala laboratorial, com aplicação prática e expansão

industrial ainda limitadas, o que compromete a viabilidade comercial dos biofloculantes em larga escala (KURNIAWAN et al., 2020; LIU et al., 2021; YANG et al., 2024).

Assim, faz-se necessário um estudo que reúna os principais métodos de extração, assim como seus mecanismos, etapas, parâmetros operacionais e vantagens econômicas e ambientais, de forma a orientar futuros estudos que se dediquem a otimizar métodos a serem utilizados em escala industrial.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo geral

Esse trabalho tem como objetivo geral analisar criticamente as principais técnicas de extração usadas para cada tipo de biofloculante utilizadas em escala laboratorial, identificando as rotas mais promissoras para a viabilidade industrial.

1.2.2 Objetivos específicos

- Classificar as técnicas de extração em métodos físicos e químicos, detalhando seus mecanismo de ação;
- Compilar parâmetros operacionais ótimos para diferentes matrizes biológicas;
- Comparar o desempenho técnico e ambiental dos biofloculantes com o dos floculantes sintéticos convencionais, com base nos princípios da Química verde e identificar os desafios técnicos para o escalonamento industrial do processo de extração.

2 METODOLOGIA

Este trabalho qualifica-se como uma pesquisa básica e descritiva com perfil qualitativo, tendo como escopo relacionar os diferentes tipos de métodos de extração encontrados na literatura, seus mecanismos, procedimentos, parâmetros operacionais e seus potenciais econômicos e ecológicos, por meio de uma revisão integrativa da literatura científica.

Para o levantamento dos estudos, a estratégia de busca foi estruturada a partir da combinação de descritores e termos livres, agrupados em dois blocos temáticos principais cruzados pelo operador booleano AND.

O primeiro bloco incluiu termos relacionados ao agente biológico e sua obtenção, tais como: 'biofloculant production' OR 'biofloculant isolation' OR 'microbial flocculants'. O segundo bloco englobou os termos voltados à aplicação e processamento, como: 'water extraction', 'ultrasound extraction', 'salt extraction', 'ethanol precipitation', 'microwave assisted extraction', 'alkaline treatment', 'EDTA extraction' e 'CER extraction'.

Como critérios de inclusão e exclusão, foram selecionados apenas artigos que apresentassem dados quantitativos de rendimento de extração e atividade floculante, assim como técnicas isoladas a fim de avaliar seus efeitos diretos.

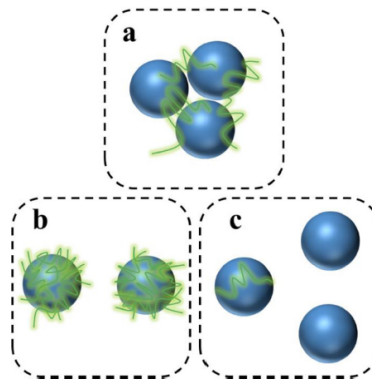
As buscas nas bases de dados Scopus, Web of Science e Google Acadêmico foram realizadas combinando-se os termos de cada bloco, permitindo o rastreamento amplo de variações das frases de pesquisa e totalizando 53 artigos revisados. Por fim, o recorte temporal de busca foi dos artigos publicados nos últimos 30 anos.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 FLOCULAÇÃO

O fenômeno de floculação consiste na agregação de partículas dispersas em uma solução, desempenhando um papel fundamental em processos de tratamento de água, nos quais é necessária a remoção de partículas suspensas por meio de sedimentação. Os mecanismos de floculação podem ser classificados em adsorção, formação de pontes e neutralização de cargas (JIANG et al., 2021). Dentre esses mecanismos, a floculação por formação de pontes é ilustrada na Figura 1:

Figura 1 - Mecanismo de formação de pontes



Fonte: JIANG et. al (2021).

O mecanismo de desestabilização por formação de pontes ocorre quando segmentos de uma cadeia polimérica se adsorvem simultaneamente em mais de uma partícula, promovendo sua agregação (SHARMA; DHULDHOYA; MERCHANT, 2006). De acordo com Jiang et al. (2021), o mecanismo de neutralização de cargas consiste na redução da repulsão elétrica entre partículas por meio da aplicação de agentes floculantes com cargas opostas para que, após a colisão provocada pelo movimento browniano, as partículas se agrupem, resultando na floculação. Já no mecanismo de adsorção, a interação entre macromoléculas e as superfícies das partículas, bem como a estrutura das camadas adsorvidas formadas, desempenham um papel fundamental na estabilidade dos sistemas coloidais (GREGORY E BARANY, 2011).

3.2 TIPOS DE FLOCULANTES

Os floculantes são classificados em dois tipos distintos, sendo eles: floculantes inorgânicos e floculantes orgânicos poliméricos. Segundo Martins et al. (2022), os floculantes

inorgânicos são comumente compostos por sais de metais multivalentes, sendo que seu uso oferece desvantagens como alta demanda de material e sensibilidade ao pH. Entretanto, apesar dessas limitações, os flocculantes inorgânicos continuam sendo amplamente empregados em processos de tratamento por apresentarem baixo custo e facilidade de uso, características que favorecem sua aplicação em diferentes contextos industriais (LEE; ROBINSON; CHONG, 2014).

Por outro lado, os flocculantes orgânicos poliméricos são vantajosos por poderem ser utilizados em baixas quantidades e podem ser classificados em catiônicos, aniônicos e anfotéricos (SHARMA; DHULDHOYA; MERCHANT, 2006).

Tabela 1 - Tipos de flocculantes e exemplos

Tipos de flocculantes	Exemplos de flocculantes
Flocculantes inorgânicos	Sulfato férrico, cloreto férrico, sulfato de alumínio, cloreto de alumínio e cloreto de titânio.
Flocculantes orgânicos poliméricos	Poli(cloreto de dimetildiamônio) (PDADMAC); cloreto de dialil dimetildiamônio (DDMAC); poliacrilamida catiônica (CPAM); ácido poliacrílico (PAA); sulfato de polivinila; óxido de polietileno (PEO); poliacrilamida (PAM).

Fonte: Gregory e Barany (2011) e Abu Bakar et al., (2021).

3.3 BIOFLOCCULANTES

3.3.1 Definição

Bioflocculantes constituem uma categoria de flocculantes orgânicos, caracterizados por serem naturais, obtidos a partir de plantas e microrganismos. Dessa forma, podem ser classificados em bioflocculantes de origem vegetal e de origem microbiana (ABU BAKAR et al., 2021). No caso dos bioflocculantes microbianos, conhecidos como substâncias poliméricas extracelulares (SPE), são naturalmente compostas por proteínas, polissacarídeos e DNA e podem ser encontrados em formas de cápsula ou como polímeros liberados no meio extracelular (ALMANSOORY; AL-BALDAWI; HAZAIMEH, 2020). A produção desses bioflocculantes ocorre a partir de diferentes fontes nutricionais, que variam desde açúcares simples a resíduos agroindustriais (SIDDEEG; TAHOON; BEN REBAH, 2020).

Na Tabela 2, são citados os meios de cultivo, fontes nutricionais e microrganismos utilizados na produção de bioflocculantes de origem microbiana.

Tabela 2 - Biofloculantes baseados em microrganismos

Fonte de carbono	Composição do meio de crescimento	Cepa microbiana
Palha de arroz	0.5 % de palha de arroz (m/v) em meio de sais minerais	<i>Pseudomonas</i> sp. HP2
Melaço de cana bruto	12% de melaço (m/v) suplementada com NaH_2PO_4 e 0.6% de extrato de levedura	<i>Bacillus velezensis</i> KY471306
Palha de milho não tratada	1% de biomassa não tratada (m/v) em meio de sais minerais	<i>Pseudomonas</i> Boreolis G 22
Farelo de trigo não tratado		
Casca de amendoim seca	20 g.L ⁻¹ de fonte de carbono, 3 g.L ⁻¹ de extrato de levedura, 1.3 g.L ⁻¹ de K_2HPO_4 , 0.2 g.L ⁻¹ de $\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e 10 g.L ⁻¹ de Na_2CO_3	<i>Bacillus agaradhaerens</i> C9
Sabugo de milho seco		
Palha de trigo seca		

Fonte: Adaptado de Siddeeg, Tahoon e Ben Rebah (2020).

3.3.2 Processo de produção

O processo de produção de biofloculantes a partir de microrganismos ocorre através das seguintes etapas: isolamento das bactérias produtoras, crescimento da cepa bacteriana, fermentação para produção do biofloculante e, por fim, purificação do produto. (AGUNBIADE *et al.*, 2022).

Durante a etapa de isolamento das bactérias produtoras, são selecionados meios adequados como fonte desses microrganismos, incluindo sedimentos, solo ou lodos ativados, considerando critérios como custo e disponibilidade (ABU BAKAR *et al.*, 2021).

Em seguida, o crescimento da cepa bacteriana ocorre em um meio de cultivo que deve fornecer fontes adequadas de carbono, nitrogênio e demais nutrientes essenciais ao metabolismo microbiano. Esse meio pode variar desde formulações sintéticas convencionais até substratos alternativos de menor custo, como diferentes tipos de águas residuais e materiais derivados de lodos, desde que sejam capazes de sustentar o crescimento celular e a biossíntese do biofloculante (BEN REBAH, MNIF e SIDDEEG, 2018; SIDDEEG, TAHOON e REBAH, 2020). Nessa etapa, diversos parâmetros operacionais influenciam diretamente o rendimento e a atividade floculante, destacando-se a relação C/N, o tamanho do inóculo, a presença de íons metálicos, o tempo de cultivo, o oxigênio dissolvido, além do pH e da temperatura, os quais devem ser ajustados conforme a cepa bacteriana e as condições do

processo fermentativo (UGBENYEN ET AL., 2012; CHEN ET AL., 2017; GOUVEIA ET AL., 2019; MALIEHE ET AL., 2022).

Por fim, a etapa de extração dos biofloculantes consiste na separação das moléculas de interesse do meio de cultivo utilizado. Os métodos de extração variam conforme a fonte de obtenção dos biofloculantes e o rendimento desejado. (ABU BAKAR et al., 2021).

3.3.3 Composição química das SPE

As substâncias poliméricas extracelulares (SPE) constituem uma matriz heterogênea composta predominantemente por polissacarídeos e proteínas, embora também incluam DNA extracelular, lipídios e outros compostos em menores proporções. Essa composição não é fixa, pois varia conforme o tipo de microrganismo, a disponibilidade de substrato e as condições ambientais, repercutindo diretamente nas propriedades físico-químicas da matriz, como hidratação, carga, adesão e estabilidade estrutural (FLEMMING; WINGENDER, 2016; OLIVA et al., 2025).

Segundo Yu, He e Shao (2009), as substâncias poliméricas extracelulares podem ser classificadas em SPE fortemente ligadas e SPE fracamente ligadas, sendo que a fração fortemente ligada apresenta maior atividade floculante, provavelmente devido ao elevado teor de macromoléculas de alta massa molecular e à presença de cátions trivalentes, como Fe^{3+} e Al^{3+} .

Tabela 3 - Relação entre os componentes das SPE e suas implicações para a extração

Macromoléculas	Características
Polissacarídeos	Apresentam numerosos grupos hidroxila, caráter predominantemente polar e elevada afinidade por água. Em termos de processamento, essa característica favorece a solubilização em meio aquoso; além disso, a recuperação de polissacarídeos frequentemente explora o fato de que esses compostos são solúveis em água, mas insolúveis em etanol, permitindo etapas de precipitação alcoólica após a extração aquosa (LIANG et al., 2024).
Proteínas	São biomoléculas anfotéricas, cuja carga líquida varia em função do pH. Próximo ao ponto isoelétrico, a carga líquida tende a zero; abaixo dele, as proteínas assumem carga positiva; e, acima dele, carga negativa. Por isso, a eficiência de extração de frações proteicas depende fortemente do pH, do tampão empregado e da intensidade do tratamento físico-químico, sendo comum o uso de abordagens alcalinas e combinadas quando se busca aumentar a liberação proteica para a fase aquosa (LAUTENBACH et al., 2021; HUI et al., 2022).

Fonte: Autoria própria (2026).

Nesse contexto, a escolha da técnica de extração é fortemente determinada pela composição química predominante da SPE. Matrizes mais ricas em polissacarídeos tendem a

responder melhor à solubilização em meio aquoso, com posterior precipitação alcoólica, uma vez que esses polímeros apresentam caráter polar, elevada afinidade por água e insolubilidade em etanol. Em contrapartida, frações mais fortemente ligadas da SPE, sobretudo quando há presença de proteínas e ácidos nucleicos extracelulares, podem demandar métodos mais intensos, como ajuste de pH, sonicação e aquecimento, agentes químicos, para provocar o desprendimento da matriz com maior rendimento. Isso se justifica porque as frações de SPE dependem da força do tratamento aplicado, e os métodos de extração afetam não apenas a eficiência da recuperação, mas também a composição de proteínas e polissacarídeos e o perfil de massa molecular do material extraído. Assim, a composição química da SPE afeta tanto a afinidade pelos solventes quanto a intensidade do método necessária para sua recuperação. (PELLICER-NÀCHER et al., 2013; HONG et al., 2017; NOUHA et al., 2018; HUANG et al., 2022; HUI; ZHOU; JIN, 2022; LIANG et al., 2024;).

Outro aspecto a ser considerado é que a funcionalidade das substâncias poliméricas extracelulares depende diretamente da preservação de sua estrutura original após a extração. Como a floculação promovida por essas macromoléculas ocorre por mecanismos em ponte e por neutralização de cargas, características como massa molecular, comprimento de cadeia, conformação estrutural e disponibilidade de grupos funcionais influenciam diretamente a atividade floculante do material extraído (TANG et al., 2014; YANG et al., 2024).

A esse respeito, o método de extração de substâncias poliméricas extracelulares de meios de produção de microorganismos não deve ser avaliado apenas com base no rendimento quantitativo, já que diferentes métodos de extração podem alterar a composição de proteínas e polissacarídeos, o perfil de massa molecular e outras propriedades funcionais da SPE. Além disso, métodos mais severos podem induzir lise celular e até superestimar a quantidade aparentemente recuperada (HONG et al., 2017; NOUHA et al., 2018)

A literatura também indica que o aquecimento pode promover desnaturação da matriz polimérica, enquanto condições alcalinas mais agressivas podem causar perturbações importantes na composição, repulsão entre moléculas e até hidrólise de polímeros, comprometendo a integridade das cadeias extraídas (NOUHA et al., 2018).

Assim, infere-se que um elevado rendimento de extração não corresponde, necessariamente, a maior atividade floculante, pois a perda de integridade estrutural tende a reduzir os sítios ativos e a capacidade de adsorção, ponteamento e neutralização de cargas requerida para a formação eficiente de flocos (TANG et al., 2014; HONG et al., 2017; NOUHA et al., 2018).

4 TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO DE BIOFLOCULANTES

A extração de biofloculantes, ou de substâncias poliméricas com potencial biofloculante, pode ser realizada por diferentes métodos, sendo eles físicos e químicos. Entre os procedimentos físicos descritos na literatura, destacam-se a ultrassonicação e a extração assistida por micro-ondas. Já entre os procedimentos químicos, inclui-se o tratamento alcalino, o uso de EDTA e de resina de troca catiônica. No caso de biofloculantes de origem vegetal, também são relatadas extrações em água, soluções salinas e solventes alcoólicos, como o etanol, dependendo da natureza do material e do composto de interesse (FRØLUND et al., 1996; OKUDA et al., 1999; SESAY; ÖZCENGİZ; SANIN, 2006; D'ABZAC et al., 2010; GARCÍA-FAYOS et al., 2016; LIU et al., 2024).

4.1 EXTRAÇÃO FÍSICA

A extração física de biofloculantes consiste em um processo de separação baseado no uso de forças mecânicas, ondas de energia ou variações térmicas, capazes de promover a desconexão das substâncias poliméricas extracelulares (SPE), e sua liberação para a solução. Esse processo ocorre sem a necessidade de alteração química dos compostos ou adição de reagentes químicos (SHENG; YU; LI, 2010).

4.1.1 Extração por ultrassom

A extração por ultrassom consiste em propagar ondas pelo meio de cultivo para provocar compressões e rarefações no meio de cultivo de modo a causar cavitação nas células microbianas. A cavitação dentro do meio de cultivo provoca agitação e altas forças hidromecânicas de cisalhamento, que desintegram a matriz celular e extraem as substâncias poliméricas extracelulares de interesse. O principal desafio associado ao uso desta tecnologia é encontrar a potência crítica que maximiza o rendimento e minimiza o rompimento celular (HAN et al., 2013; KHANAL et al., 2007). A fim de garantir uma operação econômica, os principais parâmetros do processo descrito são densidade de potência, tempo de tratamento e frequência (ZHANG et al., 2012).

Zhang et al. (2012) utilizaram extração por ultrassom para remover biofloculantes microbianos de quatro diferentes amostras de lodo ativado de quatro diferentes plantas de tratamento de esgoto municipal. Os parâmetros ótimos encontrados para a extração por ultrassom são 20kHz, 2,1 a 2,7 kW.L⁻¹ e 1 a 3 minutos de tempo de tratamento. A atividade floculante de cada amostra tratada de lodo ativado foi, respectivamente, 47,4, 56,8, 58 e

61,4%. Yu, He e Shao (2009) extraíram a fração mais fortemente ligada das substâncias poliméricas extracelulares presentes em lodo ativado por meio de extração por ultrassom. Os autores inicialmente separaram o lodo previamente peneirado/filtrado por sedimentação uma hora e meia a 4 °C, obtendo a fase sobrenadante. O produto de fundo foi novamente suspenso em uma solução tampão. Em seguida, uma fase líquida, chamada *slime*, foi separada por centrifugação a 2.000 g por 15 min e o produto de fundo foi novamente centrifugado a 5.000 g por 15 min para adquirir a fração mais livre das substâncias poliméricas de interesse. A fração restante foi então submetida ao tratamento por ultrassom por 10 minutos com uma frequência de 20 kHz e potência de 480 W. A atividade floculante das frações fortemente ligadas e mais livres foram, respectivamente, $54,1 \pm 1,4\%$ e $7,8 \pm 1,6\%$, o que sustenta a ideia de que as frações mais fortemente ligadas com maior massa molecular têm melhor atividade floculante. Han et al. (2013) testaram o efeito da variação da densidade de potência durante o tratamento por ultrassom. Os autores inicialmente separaram o licor misto do lodo a 6.000 g por 10 min e descartaram o sobrenadante. O sólido restante foi suspenso em uma solução de 0,05% NaCl (m/m) e foi tratado por ultrassom a 25 kHz por 2 minutos e, logo em seguida, centrifugado para liberar as substâncias poliméricas fracamente ligadas. Em seguida, o mesmo procedimento, composto por ressuspensão em solução salina e ultrassonicação por 2 minutos, a solução foi aquecida por 3 minutos a 60 °C e centrifugada a 11.000 g por 30 min para separar a fração fortemente ligada das SPE. A fim de verificar o impacto da ultrassonicação, os autores variaram a densidade de potência da primeira ultrassonicação entre 3,2, 6,5, 13, 35, 65, 100 e 150 W/10 mL e depois mantiveram esta constante em 3,2 W/10 mL. Em um segundo teste, mantiveram a primeira densidade de potência em um valor constante, enquanto variaram esta mesma variável entre a mesma faixa de valores de 3,2 a 150 W/10 mL. A partir destes experimentos, os autores concluíram que a potência crítica para a primeira ultrassonicação era de 35W/10 mL e para a segunda ultrassonicação era de 65 W/10 mL. Para essa determinação, os autores utilizaram a concentração de DNA como indicador da integridade celular, considerando que aumentos expressivos desse parâmetro refletem a ruptura das membranas celulares.

Khanal et al. (2007) destacam que o pré-tratamento por ultrassom apresenta características ambientalmente favoráveis, por se tratar de um processo físico que não adiciona reagentes químicos nem gera compostos tóxicos secundários. Além disso, os autores apontam vantagens como operação eficiente, design compacto e possibilidade de integração a sistemas existentes. No entanto, ressaltam que os custos de capital e operação das unidades ultrassônicas ainda representam uma limitação para sua aplicação em larga escala.

4.1.2 Extração por micro-ondas

A extração por micro-ondas baseia-se no aquecimento dielétrico do sistema extrator, decorrente da interação entre a radiação micro-ondas e moléculas polares, favorecendo a ruptura celular e a transferência de massa dos compostos extraíveis (DESTANDAU; MICHEL; ELFAKIR, 2013; VEGGI; MARTINEZ; MEIRELES, 2013). A fim de otimizar a operação desse método de extração, os principais parâmetros que afetam esse método de extração são o tempo de extração e a potência utilizada no aparelho de micro-ondas (LAU; KIEW, 2019).

Lau e Kiew (2019) extraíram biofloclantes de cascas de banana a partir do método de extração assistido por micro-ondas. Inicialmente, os autores lavaram e cortaram as cascas de banana e as secaram por 1 h a 100 °C e depois os trituraram para então formar um pó. O pó foi então misturado com 100 mL de água destilada e colocado em um micro-ondas por diferentes tempos, potência do micro-ondas e concentração de pó de banana. A solução foi então filtrada e usada em testes de floculação. A extração por aquecimento de uma segunda amostra foi feita para comparação a 70 °C por 1,5 h em altas velocidades de agitação (500 - 700 rpm). Segundo os autores, a atividade floclante dos biofloclantes pela extração assistida por micro-ondas e por aquecimento foram, respectivamente, 45,16 e 16,18%, o que demonstra que o método de extração assistido por micro-ondas foi superior ao de aquecimento. Zheng et al. (2011) avaliaram a extração assistida por micro-ondas de polissacarídeos de abóbora por meio de experimentos unifatoriais e metodologia de superfície de resposta. Inicialmente, investigaram isoladamente os efeitos da temperatura, do tempo de extração e da razão líquido-sólido sobre o rendimento. Posteriormente, aplicaram modelagem estatística para analisar a interação entre essas variáveis e otimizar o processo. Os resultados mostraram que a razão líquido-sólido foi o fator de maior influência e que as condições ótimas de extração foram aproximadamente 29 min, 79 °C e 22 mL·g⁻¹ de polissacarídeos de abóbora, com rendimento experimental de 16,76% ± 0,38, em concordância com o valor previsto pelo modelo.

Com base no estudo de Lau e Kiew (2019), a extração assistida por micro-ondas pode ser considerada uma alternativa mais econômica que o aquecimento convencional, por demandar menor tempo de processamento e menor consumo energético. Segundo Lee et al. (2018), a extração por micro-ondas mostrou-se mais vantajosa que a extração convencional, sobretudo em termos econômicos, por requerer menor quantidade de matéria-prima,

equipamentos menores, menor demanda térmica e menor custo operacional em maiores escalas de produção.

4.2 EXTRAÇÃO QUÍMICA

A extração química é caracterizada por empregar compostos que desestabilizam as forças de ligação entre a SPE e as células, acelerando o processo de dissolução dessa matriz (SHENG; YU; LI, 2010). Assim, estes métodos servem para solubilizar as substâncias extracelulares e separá-las da biomassa celular, embora o principal desafio seja selecionar reagentes que minimizem a lise celular para evitar a contaminação da amostra com compostos intracelulares.

4.2.1 Extração por solvente

A extração por solvente baseia-se na utilização de um solvente capaz de favorecer a recuperação do biofloculante presente no sobrenadante, normalmente após a remoção das células microbianas, contribuindo para sua concentração e posterior purificação. Trata-se, portanto, de uma abordagem amplamente utilizada na etapa de obtenção do produto, cuja aplicação pode variar conforme as características do biofloculante e os objetivos do processo de extração e purificação (Yang et al., 2024).

4.2.1.1 Extração em água

A extração aquosa de biofloculantes ocorre porque a água atua como solvente capaz de penetrar na matriz do meio de cultivo, hidratar os grupos funcionais polares presentes nesses biopolímeros, como hidroxila, carboxila e amino, e favorecer sua dissolução e transferência para a fase líquida. Esse processo é particularmente relevante porque os biofloculantes microbianos são, em geral, polímeros extracelulares compostos principalmente por polissacarídeos, proteínas e glicoproteínas, ricos em grupos hidrofílicos (Selepe et al., 2024; Zhang et al., 2018). Nesse contexto, o aumento da temperatura intensifica a extração porque eleva a energia cinética molecular, aumenta a mobilidade das cadeias poliméricas e a difusão das moléculas no meio aquoso, além de enfraquecer interações intermoleculares, inclusive ligações de hidrogênio, que mantêm os polissacarídeos e outros biopolímeros associados à matriz biológica. Além, temperaturas mais elevadas podem romper interações que prendem esses compostos ao material de origem, facilitando sua liberação para a água (Lu et al., 2023; Tepsongkroh et al., 2023).

Os principais parâmetros que influenciam esse método incluem o tempo de mistura, a velocidade de agitação, a temperatura e a proporção de água/biomassa (LEE et al., 2015).

Konucu et al. (2022) aplicaram a extração aquosa para obtenção de biofloculantes a partir de sementes de *Moringa Oleifera Lam.*, uma planta originária do Sul da Ásia. No procedimento, os autores misturaram 2 g do pó da semente em 100 mL de água destilada e misturaram durante 30 min a temperatura ambiente. Em seguida, a solução foi filtrada e usada em diferentes dosagens para a floculação de microalgas, sendo que a etapa adicional de extração em água dos biofloculantes das sementes aumentou a atividade floculante para 91%, embora tenha provocado o aumento da dosagem necessária de biofloculantes para atingir essa maior eficiência. Choi et al. (2020), por sua vez, utilizaram a extração térmica, para extrair biofloculantes a partir de lodo ativado. Inicialmente, os produtos microbianos solúveis presentes em 50 mL de lodo ativado foram separados por centrifugação em alta velocidade (6.000 g) a 4 °C por 10 min. Em seguida, a extração térmica em água foi realizada a 60 °C por 30 min. Por fim, a solução foi centrifugada mais uma vez a 10.000 g por 20 min a 4 °C e em seguida filtrada por uma membrana de 0,2 µm. Nesse estudo, a extração térmica teve a melhor performance, extraíndo um biofloculante com remoção de biomassa de 87,24%. Lee et al. (2015) realizaram a extração aquosa de biofloculantes a partir de *Hibiscus/Abelmoschus esculentus*, avaliando variáveis como temperatura, tempo, proporção de solvente (m/m) e velocidade de agitação. As condições ótimas foram 70 °C, 2 h, proporção de solvente de 2,5 (m/m) e 200 rpm, com um rendimento de extração de 2,38%, semelhante a de outros polissacarídeos (0,69 - 3,66%). Os biofloculantes extraídos apresentaram uma eficiência de remoção de sólidos superior a 98%. Esse método é considerado ambientalmente sustentável e econômico, uma vez que utiliza apenas água como solvente, em substituição a outros solventes potencialmente mais agressivos ao meio ambiente (LEE et al., 2015).

4.2.1.2 Extração em etanol

A precipitação em etanol consiste em adicionar etanol ao sobrenadante contendo o biofloculante, reduzindo a polaridade e a constante dielétrica do meio. Fisicamente, isso compromete a camada de hidratação ao redor das cadeias poliméricas, diminui sua solvatação em água e favorece a aproximação intermolecular, com aumento de interações entre cadeias, agregação e consequente precipitação do biopolímero (TAI et al., 2020; YADAV et al., 2024; LI et al., 2024).

Os principais parâmetros que influenciam a eficiência desse processo de isolamento centram-se na quantidade proporcional de álcool etílico utilizado, além do pH e do tempo de extração (FUJITA ET AL., 2000).

Wan et al. (2014) isolaram uma cepa de fungo presente em lodo ativado identificada como *Geotrichum Candidum* capaz de produzir substâncias com potencial floculante. O meio de cultivo foi composto com 30 g de sacarose, 0.01 g de FeSO_4 , 1 g K_2HPO_4 , 1 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0.5 g KCl, 1 g NaNO_3 , 0.5 g MgSO_4 e o pH foi ajustado para 8. A fermentação foi realizada a 180 rpm e 28 °C. Em seguida, o meio de cultura foi centrifugado por 20 min a 12.000 rpm para remover células. O sobrenadante foi, então, misturado com três volumes de etanol e deixado durante a noite a 4 °C, seguido da recuperação do precipitado por centrifugação a 4.000 rpm por 15 min. O precipitado foi lavado em etanol (75%) e depois dialisado em água destilada por 24 h e depois liofilizado para obter o biofloculante parcialmente purificado. A atividade floculante foi máxima depois de um dia de cultivo atingindo 90%. Fujita et al. (2000) produziu biofloculantes por meio da bactéria *Citrobacter* sp. TKF04. O processo inicia-se com o preparo do meio de cultivo e a etapa de fermentação. O meio base utilizado contém sulfato de amônio, fosfato dipotássico, cloreto de sódio, sulfato de magnésio heptahidratado, cloreto de cálcio, cloreto férrico e extrato de levedura. A esse meio, adicionou-se acetato de sódio e propionato de sódio como fontes exclusivas de carbono. O pH inicial da solução é ajustado para 7,2, utilizando hidróxido de sódio ou ácido clorídrico. A incubação ocorre a uma temperatura de 30 °C sob agitação constante de 120 rpm. Durante a fase logarítmica de crescimento celular, a bactéria sintetiza e secreta o biofloculante diretamente no fluido extracelular. Após o período de cultivo, inicia-se a etapa de recuperação biológica e separação química. O caldo fermentado é centrifugado a 21.000 g por 10 minutos para decantar e remover a biomassa celular. O sobrenadante resultante é misturado com dois volumes de etanol gelado e mantido sob refrigeração a 4 °C durante toda a noite para promover a precipitação. O precipitado polimérico é recuperado por nova centrifugação, dissolvido em água deionizada e tem seu pH acidificado para próximo de 2,0 com ácido clorídrico. Essa solução é submetida a uma diálise em água deionizada ou purificada por meio de uma membrana de celulose para a eliminação de sais minerais remanescentes. O material retido na diálise é congelado e liofilizado, gerando o biofloculante em sua forma bruta como um pó branco. A atividade floculante medida foi superior a 90%.

Li et al. (2009) produziram um biofloculante a partir de *Bacillus Bacillus circulans* X3. O meio de cultivo foi preparado com 10 g de glicose, 0.44 g de uréia, 5 g de K_2HPO_4 e 2 g de KH_2PO_4 , e o pH foi ajustado para 8.0. Para purificar o biofloculante, o caldo de cultivo

viscoso foi inicialmente centrifugado a 5.000 g por 30 min com o objetivo de remover todas as células bacterianas em suspensão. Na sequência, o sobrenadante obtido foi concentrado em um evaporador rotativo até atingir 20% do seu volume original, sendo logo depois submetido a uma diálise em água deionizada, realizada sob refrigeração a 4 °C durante toda a noite. Após a diálise, adicionaram-se três volumes de etanol anidro gelado a 4 °C ao caldo para promover a primeira precipitação do polímero. O precipitado resultante foi isolado e redissolvido em água deionizada, recebendo em seguida uma solução de cloreto de cetilpiridínio (CPC) a 10% sob agitação constante. Essa mistura foi deixada em repouso por algumas horas até que o complexo formado entre o biofloculante e o CPC decantasse. Esse complexo foi coletado por centrifugação e completamente dissolvido em uma solução de cloreto de sódio (NaCl) 0,5 M. Para recuperar o polímero isolado do CPC, adicionaram-se novamente três volumes de etanol anidro gelado a 4 °C. O novo precipitado obtido foi lavado repetidamente por três vezes com etanol 75% e, em seguida, passou por um processo de liofilização para a obtenção do biofloculante bruto. A atividade floculante do biopolímero foi de 99%.

4.2.1.3 Extração em solução salina

A extração em solução salina consiste em submeter a biomassa a uma solução contendo sais, de modo que os íons presentes no meio promovam interações eletrostáticas das moléculas do biofloculante, provocando o efeito de *salting-in*, isto é, a dissolução das moléculas ativas na água em um meio salino (OKUDA *et al.*, 1999).

Os principais parâmetros que influenciam esse método são a concentração salina, a velocidade e o tempo de agitação, bem como a temperatura do processo (BEHERA; BALASUBRAMANIAN, 2019).

Hendrawan *et al.* (2016) extraíram biofloculantes a partir da planta DYT, uma planta originária da Indonésia, utilizando soluções de $MgCl_2$. Após a secagem das folhas, o material foi submetido à extração em água pura e em soluções salinas com concentrações de 0,01 M, 0,1 M e 1 M. Após nove dias de maceração, as soluções foram filtradas e avaliadas quanto à atividade floculante. Os resultados indicaram aumento da atividade floculante de 14,44 para 44,44% com o incremento da concentração de $MgCl_2$, sugerindo que concentrações mais elevadas de $MgCl_2$ favorecem a extração dos compostos ativos do material floculante. De forma semelhante, Behera e Balasubramanian (2019), utilizaram, soluções salinas para extrair biofloculantes a partir de diferentes matérias-primas vegetais, incluindo folhas de nim, sementes de moringa, cascas de laranja, cascas de romã e cascas de banana. As amostras

foram submetidas à extração por 15 min a 37 °C e 100 rpm. A recuperação de biomassa obtida pela floculação promovida pelos bioflocculantes extraídos variou entre 40 e 60%, para a maioria dos materiais avaliados, alcançando 75% para o bioflocculante derivado de *Moringa oleifera*.

A obtenção de bioflocculantes por meio da extração assistida por sal (NaCl) destaca-se como uma alternativa de baixo custo e alinhada aos princípios da Química Verde. Além de dispensar uso de reagentes mais agressivos, o método favorece a liberação dos componentes ativos presentes nas plantas, podendo superar as limitações observadas na extração exclusivamente aquosa. Nesse contexto, Behera e Balasubramanian (2019) realizaram um estudo de avaliação do ciclo de vida (ACV) e uma análise de custo comparando a quitosana, sulfato de alumínio e flocculante natural obtido da planta *Moringa oleifera*. Os autores identificaram que os custos para flocular e extrair uma tonelada métrica de algas utilizando quitosana é de \$ 9,02, reduzindo para \$ 0,28 com o uso de sulfato de alumínio e para apenas \$ 0,037 com o flocculante natural. Além disso, o bioflocculante apresentou menor consumo energético e menor impacto ambiental, avaliado por meio das emissões de gases de efeito estufa (GHG), quando comparado aos flocculantes convencionais.

4.2.2 Tratamento alcalino

A extração por tratamento alcalino consiste em submeter a biomassa a um meio fortemente básico, geralmente com NaOH, a fim de promover a hidrólise alcalina e a desesterificação de componentes poliméricos, desagregar a matriz extracelular e/ou causar lise celular parcial, aumentando a solubilização e a liberação de polissacarídeos e proteínas com atividade flocculante para o sobrenadante (LIU et al., 2017; LI; LI; WANG, 2018; ARTIFON et al., 2022).

Os principais parâmetros que afetam esse método de extração são a concentração de base, a temperatura e a concentração de microrganismos (ARTIFON et al., 2022).

Artifon et al. (2022) utilizaram a hidrólise alcalina para extrair bioflocculantes a partir da levedura da cerveja. O processo começou com a coleta da biomassa de levedura residual de cerveja obtida após o processo de fermentação industrial. Para limpar o material, a biomassa foi lavada duas vezes utilizando água destilada. Em seguida, ela foi concentrada a uma proporção de 30% em massa e armazenada sob refrigeração a 4 °C até o momento dos experimentos. Para realizar a extração do bioflocculante, os cientistas utilizaram o método de hidrólise alcalina. O procedimento em laboratório foi conduzido dentro de tubos do tipo Falcon, onde misturou-se 10 mL de água destilada, uma quantidade específica de massa de

levedura e 2 mL de solução de hidróxido de sódio (NaOH). Essa mistura foi colocada em um banho termostático por um período de até 1 hora para promover a quebra das células. Quando os testes exigiam a temperatura máxima de 100 °C, o procedimento passava a ser feito em uma manta de aquecimento acoplada a um condensador para evitar a evaporação do líquido. Para descobrir as condições perfeitas de extração, foi aplicado um planejamento estatístico do tipo fatorial completo, avaliando três variáveis simultaneamente: a concentração do NaOH, a massa de levedura e a temperatura do banho. Após a realização do planejamento estatístico, analisando a capacidade de remoção de cor do produto gerado, os pesquisadores determinaram cientificamente que as melhores condições do sistema eram: concentração de 2 M de NaOH, 3 g de massa de levedura e temperatura de 100 °C. Por fim, ao realizarem um estudo cinético para avaliar o tempo de reação sob essas condições, descobriu-se que a liberação máxima do biofloculante ocorria em apenas 5 minutos de hidrólise. Deixar o material aquecendo por mais tempo causava o efeito contrário, degradando as proteínas e os açúcares devido ao excesso de exposição ao calor e à base forte. Em sistemas contendo Rodamina (um efluente têxtil), obteve-se uma remoção de cor de 80 a 82%, enquanto em sistemas contendo Flavina (um corante sintético), obteve-se uma remoção de cor acima de 93%.

Li, Li e Wang (2018) extraíram substâncias poliméricas extracelulares a partir de lodo ativado granular. O processo começou com a etapa de preparação e limpeza da biomassa. Uma amostra de 50 mL de lodo granular aeróbio foi colocada em uma centrífuga e submetida a uma rotação de 5000 g por 10 min a uma temperatura controlada de 4 °C. Após essa rotação, o líquido sobrenadante foi descartado. O pellet de lodo que sobrou no fundo do tubo foi ressuspenso em uma solução salina de NaCl a 0,9% até atingir novamente o volume original. Esse ciclo completo de centrifugação, descarte e ressuspensão foi repetido por mais 3 vezes consecutivas para garantir a limpeza total da amostra. Com o lodo devidamente limpo, iniciou-se a etapa específica de extração química por hidrólise alcalina. Para isso, adicionou-se uma solução de NaOH de concentração 1 M à amostra, ajustando o sistema para atingir o pH estável de 11. Essa mistura foi mantida sob agitação mecânica constante a 80 rpm durante o período de 10 min, mantendo-se a temperatura resfriada a 4 °C para promover a liberação das substâncias poliméricas extracelulares. Por fim, o material extraído passou pela etapa de separação e análise final. A mistura alcalina foi levada a uma centrifugação de alta força a 12.500 g durante 20 min. O líquido sobrenadante resultante foi coletado e filtrado através de uma membrana fina com poros de 0,22 µm. O filtrado final obtido foi encaminhado para as análises químicas laboratoriais para a quantificação exata dos teores de proteínas,

polissacarídeos e ácidos nucleicos extraídos do lodo. Segundo os autores, o método com NaOH foi superior na quantidade bruta de biopolímeros extraídos. Contudo, ele falhou na proteção da integridade celular, já que a alta alcalinidade (pH 11) provocou uma hidrólise química agressiva nas amostras. Isso causou a ruptura das membranas das bactérias por lise celular, o que fez com que o DNA interno fosse liberado e contaminou o SPE com restos celulares.

Liu *et al.* (2017) extraiu biofloculantes a partir de resíduos de batata e aplicou na remoção de cinzas voláteis de carvão. O processo começou com a preparação da matéria-prima a partir de resíduos de batata obtidos de uma indústria de amido. Após passarem por um processo de secagem natural ao ar livre, os resíduos foram triturados em pó e passados por uma peneira de malha 60, sendo armazenados em temperatura ambiente. Para a extração do biofloculante, o pó foi misturado a uma solução de NaOH na concentração de 0,48 M, mantendo uma proporção de resíduo de 42,09 g.L⁻¹. Adicionalmente, inseriu-se 0,4 g.L⁻¹ de sulfato de magnésio MgSO₄.7H₂O ao meio. Essa mistura foi submetida a um tratamento térmico sob aquecimento direto a 100 °C durante exatamente 25,27 min. Essas condições específicas foram previamente otimizadas por meio de uma metodologia de superfície de resposta para garantir o máximo rendimento de extração do biopolímero. Após o término do aquecimento e o resfriamento do sistema, iniciou-se a etapa de purificação e isolamento do produto. A suspensão foi levada a uma centrífuga a 10.000 rpm por 10 min para a separação e descarte dos resíduos sólidos que não foram dissolvidos. O líquido sobrenadante remanescente foi coletado e misturado a dois volumes de etanol absoluto resfriado, induzindo a precipitação química do biofloculante. Por fim, o precipitado gerado foi isolado através de uma nova centrifugação a 10.000 rpm por 5 min. O sólido recuperado passou por duas etapas consecutivas de lavagem com uma solução de etanol a 75%. O material limpo foi submetido a um processo de liofilização, gerando o produto final em pó seco com um rendimento máximo estabelecido em 58,77%. O biofloculante extraído da batata apresentou uma excelente performance no tratamento do efluente industrial, alcançando uma eficiência máxima de 93,44% na remoção de cinzas voláteis de carvão. Esse resultado de pico foi obtido com uma dosagem otimizada de apenas 8,3 mg/L do biopolímero, sendo que o sistema manteve um desempenho robusto, superior a 90%, na faixa de 4,2 a 41,7 mg.L⁻¹. Concentrações superiores a esse limite causaram uma piora na clarificação devido à repulsão eletrostática gerada pelo excesso de cargas negativas do floculante. O sucesso dessa performance foi atribuído à forte presença de grupos funcionais carboxila e hidroxila em sua

estrutura macromolecular de 4.781 kDa, os quais atuaram em conjunto com os íons Mg^{2+} por meio de mecanismos de neutralização de carga e formação de pontes químicas.

Esse método caracteriza-se como uma estratégia potencialmente mais sustentável, mas não intrinsecamente verde, pois, embora favoreça a recuperação de biopolímeros a partir de resíduos, o tratamento alcalino com bases fortes, como o hidróxido de sódio, envolve substâncias corrosivas e, em geral, demanda etapas adicionais de neutralização e purificação, o que pode elevar a geração de resíduos, o consumo de reagentes e a demanda energética. Assim, à luz dos princípios da química verde, sua sustentabilidade deve ser avaliada pelo conjunto do processo, e não apenas pelo uso da base em si. (UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2026; AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, s.d.; HUANG et al., 2022)

4.2.3 Extração por resina de troca iônica

A extração por resina de troca iônica baseia-se na remoção seletiva de cátions presentes na matriz do lodo, particularmente cátions bivalentes responsáveis pela estabilização dos flocos microbianos. A retirada desses íons, promove a desestabilização da estrutura flocular, favorecendo a liberação das substâncias poliméricas extracelulares associadas à biomassa (FRØLUND et al., 1996; COMTE; GUIBAUD; BAUDU, 2006).

Entre os principais parâmetros que influenciam a eficiência do processo destacam-se a quantidade de resina de troca catiônica adicionada, a intensidade de agitação/cisalhamento e o tempo de extração, uma vez que o rendimento de SPE tende a aumentar com a elevação desses fatores, dentro de determinadas faixas operacionais (FRØLUND et al., 1996).

Comte, Guibaud e Baudu (2006) avaliaram a extração de SPE de lodos ativados usando resinas de troca catiônica, analisando dois lodos com diferentes características. Inicialmente, as amostras foram centrifugadas a 4.300 g por 10 min, e o material sólido recuperado foi ressuspenso em água pura. Na sequência, a suspensão foi agitada a 600 rpm com a resina “Dowex 50X8” por 1 h a 4 °C. Após a extração, foram realizadas etapas sucessivas de centrifugação a 20.000 g por 20 min e a 10.00 g por 15 min, ambas a 4 °C. Posteriormente, 100 mL de solução de SPE contidos em uma membrana de diálise foram colocados em 1 L de água por 24 h a 4 °C para purificar as substâncias de interesse. Os autores concluíram que o uso isolado da resina de troca catiônica (CER) mostrou-se um método de baixa eficiência para a extração de SPE em comparação com métodos químicos e térmicos, produzindo rendimentos de apenas 21 mg de SPE/g de SSV no lodo A e 23 mg de SPE/g de SSV no lodo B, correspondendo a recuperações de 2,5% e 3,1% respectivamente.

Os autores concluíram que, embora o método seja capaz de extrair SPE sem a utilização de reagentes agressivos, seu desempenho quantitativo mostrou-se limitado. Resultados distintos foram observados por D'Abzac et al. (2010), que investigaram a extração de SPE a partir de 4 lodos distintos usando resina de troca catiônica. Após a lavagem das amostras, a resina Dowex foi misturada por 1 h a 600 rpm com o lodo ativado. As amostras foram então centrifugadas a 20.000 g por 20 min a 4 °C e as SPE coletadas foram armazenadas a 4 °C. O uso isolado da resina de troca catiônica foi apontado como o método físico mais eficiente para a extração de SPE de lodos granulares anaeróbios, embora ainda inferior aos métodos químicos em termos de rendimento total. Os autores verificaram que a resina apresentou rendimentos de extração de $39,9 \pm 1,5\%$ para o lodo Eerbeek, $27,4 \pm 1,5\%$ para Emmtec, $12,9 \pm 0,6\%$ para Nedalco e $13,9 \pm 0,5\%$ para Revico. Além disso, os baixos teores de ácidos nucleicos observados com valores em torno de $0,160 \pm 0,007$ a $0,014 \pm 0,001$ mg g⁻¹ de SSV indicaram ausência de lise celular significativa durante o processo. Entretanto, a técnica apresentou seletividade para proteínas, evidenciada pelas razões proteína/polissacarídeo, especialmente elevadas em alguns lodos, como no Nedalco ($13,2 \pm 2,5$) em comparação ao controle ($2,4 \pm 0,2$). Assim, a conclusão dos autores foi que a CER isolada representa a melhor alternativa entre os métodos físicos, por aliar maior rendimento relativo e menor risco de contaminação química do extrato, ainda que os métodos químicos extraíam maiores quantidades totais de SPE. Em outro estudo realizado por Frølund et al. (1996), os autores avaliaram o uso de resinas de troca iônica para extrair substâncias poliméricas extracelulares de dois lodos distintos. Os autores deixaram os lodos sedimentar por 1,5 h a 4 °C e o sobrenadante foi recolhido. O lodo concentrado tinha a concentração de 8 a 11 g.L⁻¹. Em seguida, o lodo concentrado foi lavado e centrifugado a 2.000 g por 15 min a 4 °C. O corpo de fundo foi então suspenso em 500 mL de água com um tampão consistindo de 2 mM Na₃PO₄, 4 mM de NaH₂PO₄, 9 mM de NaCl e 1 mM de KCl a pH 7. Em seguida, 300 mL de lodo foram transferidos para um béquer com defletores e a resina de troca catiônica foi adicionada. A suspensão foi, então, misturada a 4 °C e as SPE extraídas foram separadas por centrifugação a 12.000 g por 1 min. O sobrenadante foi separado e centrifugado duas vezes a 12.000 g por 15 min a 4 °C. O efeito de condições experimentais foi determinado variando a quantidade de resina de 6,5 - 105 gramas por grama de sólido volátil, intensidade de agitação de 100 a 1.100 rpm e tempo de extração de 30 min a 17 h. Os resultados demonstraram que a extração com resina de troca catiônica superou os métodos baseados em hidróxido de sódio e aquecimento em termos de rendimento e de mínima destruição das células. Além disso, para 17 h de extração, a CER apresentou rendimento aproximadamente duas vezes maior que os

demais métodos comparados. Em termos quantitativos, a extração com CER alcançou 243 ± 7 mg/g SV de proteína, 126 ± 1 mg/g SV de compostos húmicos, 48 ± 1 mg/g SV de carboidratos e $6,1 \pm 0,2$ mg/g SV de ácidos urônicos, ao passo que o método com NaOH obteve 96 ± 4 , 22 ± 2 e $3,1 \pm 0,3$ mg/g SV, e o método por aquecimento a 80°C obteve 121 ± 3 , 8 ± 2 e $2,2 \pm 0,2$ mg/g SV, respectivamente, para esses componentes. Os autores também concluíram que a extração com CER não promoveu degradação significativa dos SPE, embora a lise celular tenha sido observada em tempos superiores a 1–2 h. Ainda assim, esse efeito não foi considerado relevante para comprometer a composição do extrato, pois a biomassa celular representava apenas cerca de 10–15% da fração orgânica total do lodo. Por conta disso, os autores propuseram duas estratégias: uma extração branda, com 0,5 a 1 h, 600 rpm e cerca de 70 g CER/g SV, e uma extração efetiva, com no mínimo 12 h, 900 rpm e aproximadamente 70 g CER/g SV, quando o objetivo é maximizar a recuperação de SPE.

De modo geral, a extração por resina de troca catiônica destaca-se como uma alternativa promissora para a recuperação de SPE, sobretudo por operar sob condições brandas de operação e apresentar elevada seletividade, reduzindo a necessidade de reagentes químicos agressivos. Essas características conferem ao método potencial para atender aos princípios da Química Verde, favorecendo processos mais sustentáveis e energeticamente eficientes (Beschkov, 2020). Entretanto, sua aplicação em larga escala ainda enfrenta limitações associadas ao custo das resinas, ao consumo de soluções tampão e à demanda energética requerida para a regeneração e reutilização do material adsorvente (Lavoie et al., 2023).

4.2.4 Extração por ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA)

A extração por EDTA consiste em promover a quelação de cátions divalentes, especialmente Ca^{2+} e Mg^{2+} , que desempenham um papel fundamental na estabilização da matriz celular microbiana ao promoverem ligações entre as SPE e a superfície celular. A remoção desses íons reduz a estabilidade estrutural dos agregados microbianos e favorece a liberação das SPE para o meio líquido, possibilitando sua recuperação. Entretanto, em concentrações mais elevadas, o EDTA também pode aumentar a lise celular por desestabilização da membrana e alteração da pressão osmótica (NGUYEN ET AL., 2016).

A eficiência desse método é influenciada por diversos fatores operacionais, incluindo a concentração do EDTA, o tempo de incubação, a temperatura, a concentração de sólidos presentes no lodo e a disponibilidade de cátions divalentes na matriz, além das condições

complementares de sonicação, quando utilizadas (COMTE; GUIBAUD; BAUDU, 2006; NGUYEN *et al.*, 2016).

Nguyen et al. (2016) investigaram a extração de biofloculantes a partir de lodos de bio-filtração usando EDTA como agente extrator. Inicialmente, o lodo foi lavado duas vezes com água destilada e concentrado até atingir 25 g.L⁻¹ de sólidos suspensos por litro por meio de centrifugação. Em seguida, uma solução de 20 g.L⁻¹ de EDTA foi adicionada à biomassa concentrada, sendo a mistura submetida à agitação e incubada por 3 h a 4 °C. Após a extração, o material foi centrifugado a 6.000 g por 15 min e o sobrenadante foi recuperado. Os resultados mostraram que o método de extração por EDTA foi o mais eficiente dentre todos os métodos utilizados, visto que extraiu-se 6.244 mg.L⁻¹ e 83% de atividade floculante. Adicionalmente, os autores verificaram ainda que a concentração ótima de EDTA era de 5 g.L⁻¹, condição na qual foi possível alcançar até 94% da atividade floculante. Resultados semelhantes foram reportados por Comte, Guibaud e Baudu (2006), que também extraíram biofloculantes a partir de lodo ativado utilizando EDTA de dois lodos diferentes A e B. O procedimento experimental envolveu centrifugação dos lodos a 4.300 g por 10 min, seguida da ressuspensão dos sólidos coletados em água pura. Posteriormente, as amostras foram incubadas com uma solução de 2% de EDTA por 3 h a 4 °C e submetidas a duas etapas sucessivas de ultracentrifugação, a 20.000 g por 20 min e 10.000 g por 15 min. Os autores observaram rendimentos de extração de 96 ± 5 mg SPE g⁻¹ SSV e 100 ± 5 mg SPE g⁻¹ SSV para os lodos A e B, respectivamente, correspondendo a uma recuperação de aproximadamente 19%. Esses valores foram significativamente superiores aos obtidos pelos métodos físicos avaliados no estudo. Contudo, os autores ressaltam que a avaliação do EDTA não deve se basear apenas na quantidade extraída, pois a análise por infravermelho indicou contaminação do extrato pelo próprio reagente, o que pode comprometer a caracterização bioquímica e alterar as propriedades do SPE; assim, a principal conclusão é que o EDTA é eficiente para aumentar a extração, mas sua escolha metodológica exige cautela quanto à qualidade do material obtido. D'Abzac et al. (2010) também extraíram SPE de lodos ativados utilizando EDTA de quatro lodos distintos, sendo eles Nedalco, Revico Emmtec e Eerbeek, em referência ao local onde foram extraídos. O protocolo consistiu na lavagem prévia do lodo granular anaeróbio com água deionizada, seguida da adição de solução de EDTA a 2% em volume equivalente ao da amostra, com incubação por 3 h a 4 °C. Após a extração, o material foi centrifugado, o sobrenadante foi coletado como extrato de SPE e armazenado para posterior caracterização físico-química, bioquímica e espectroscópica. Os resultados indicaram que o método com EDTA apresentou alto rendimento de extração em comparação

com os métodos físicos, alcançando $101,8 \pm 5,4\%$ para o lodo Eerbeek, $70,1 \pm 0,6\%$ para Nedalco e $21,9 \pm 0,0\%$ para Revico; para Emmtec, esse ensaio não foi determinado. Entretanto, os autores ressaltam que esses resultados devem ser interpretados com cautela, porque a análise por infravermelho, os teores de carbono orgânico e, sobretudo, os rendimentos acima de 100% indicaram carry-over do EDTA para o extrato, isto é, contaminação do SPE pelo próprio reagente extrator. Além disso, no caso do EDTA, os extratos apresentaram baixos teores bioquímicos medidos e não foi possível considerar adequadamente os valores de proteínas e substâncias húmicas, pois o EDTA interfere nas análises colorimétricas. Ainda assim, os autores observaram que o método não indicou lise celular anormal, já que os teores de ácidos nucleicos permaneceram baixos, como $0,151 \pm 0,006$ mg/g de SSV em Eerbeek, $0,092 \pm 0,003$ mg/g de SSV em Nedalco e $0,007 \pm 0,002$ mg/g de SSV em Revico. Assim, a conclusão foi que o EDTA é eficiente para extrair grande quantidade aparente de SPE, mas o extrato obtido pode ficar contaminado pelo reagente, comprometendo a avaliação confiável da composição e das propriedades do material.

Sob a perspectiva técnico-econômica, Nguyen et al. (2016) destacaram que a viabilidade do método depende diretamente da otimização da concentração de EDTA utilizada. Embora o reagente seja altamente eficiente na solubilização e recuperação de biofloculantes, seu uso em concentrações excessivas pode elevar os custos operacionais e aumentar a necessidade de etapas posteriores de purificação. Nesse contexto, a identificação de concentrações ótimas, capazes de maximizar a recuperação e a atividade floculante sem consumo excessivo de reagente, constitui uma estratégia fundamental para tornar o processo mais economicamente viável e operacionalmente sustentável.

4.3 COMPARAÇÃO ENTRE MÉTODOS

Uma comparação dos métodos de extração pesquisados pode ser visto na Tabela 4 abaixo:

Tabela 4 - Comparações entre métodos de extração

Método de extração	Parâmetros operacionais críticos	Potencial econômico	Potencial ambiental
Extração por ultrassom	Densidade de potência, tempo de tratamento e frequência	Possuem custos de capital e operação elevados.	Não utiliza compostos químicos e não gera resíduos secundários.
Extração assistida por micro-ondas	Potência e tempo de tratamento	Menores custos de energia e de matéria-prima, do que a extração convencional.	Demanda menos consumo energético de utilidades.
Extração aquosa	Tempo de extração, velocidade de agitação, temperatura e proporção água/biomassa	Utiliza apenas água, não dependendo de outras matérias-primas.	Utiliza apenas água ao invés de solventes mais agressivos.
Precipitação por etanol	pH, tempo de extração e proporção etanol/biomassa	Apresenta custo elevado devido ao elevado volume de solvente gelado demandado.	É considerado um solvente relativamente verde quando comparado à outros solventes.
Extração salina	Concentração salina, velocidade, tempo de extração e temperatura.	Maior eficiência de extração, baixo custo de matéria-prima e baixo consumo energético	Demanda menos consumo energético de utilidades
Tratamento alcalino	Concentração de base, temperatura e concentração de microorganismos	É um reagente amplamente utilizado na indústria.	Gera resíduos corrosivos que exigem neutralização.
Extração por resina de troca catiônica	Proporção de resina/biomassa, velocidade de agitação e tempo de extração	Gera economia de tempo e energia, mas é limitado devido ao alto custo de resinas	Permite a regeneração das resinas e gera economia de energia.
Extração por EDTA	Concentração de EDTA, tempo de extração, temperatura, concentração de microrganismos e disponibilidade de cátions	Trata-se de um reagente amplamente utilizado na indústria com baixos custos.	Apresenta baixa biodegradabilidade e pode apresentar riscos ambientais, como remobilização de metais pesados.

Fonte: Autoria própria (2026).

Por meio da revisão bibliográfica realizada, foi possível verificar as principais variáveis operacionais que influenciam a eficiência dos métodos de extração de biofloculantes e SPE. O conhecimento desses parâmetros é fundamental para a otimização dos processos envolvidos, permitindo o estabelecimento de condições capazes de equilibrar custos energéticos com rendimentos de processo, de modo a encontrar as faixas de operação mais

econômicas. Nesse contexto, a definição de faixas ótimas de operação requer a avaliação criteriosa dos trade-offs existentes entre ganhos de rendimento e incrementos nos custos energéticos, frequentemente associados ao aumento de temperaturas, bem como nos custos de matérias-primas decorrentes da utilização de maiores proporções de solvente e concentrações de reagentes em relação à biomassa processada. As diferentes variáveis críticas dos métodos de extração estudados podem ser vistos na Tabela 5, mostrada abaixo:

Tabela 5 - Variáveis críticas dos diferentes métodos de extração

Método de extração	Parâmetros operacionais críticos
Extração por ultrassom	P_d , t e f
Extração assistida por micro-ondas	P e t
Extração aquosa	t , T , N e $R_{S/F}$
Precipitação por etanol	t , T , N e $R_{S/F}$
Extração salina	t , T , N e C_S
Tratamento alcalino	X , T e C_{NaOH}
Extração por resina de troca catiônica	t , N e $R_{R/B}$
Extração por EDTA	t , T e C_{EDTA}

Fonte: Autoria (2026).

Com relação aos métodos individuais de extração investigados nesta revisão, cada rota operacional apresenta particularidades e gargalos técnicos específicos que determinam a viabilidade do bioproduto. No âmbito dos métodos físicos, a extração por ultrassom baseia-se na cavitação acústica e no cisalhamento hidrodinâmico para romper as interações da matriz extracelular. A literatura evidencia a existência de uma janela crítica de potência operacional: enquanto potências inferiores falham em solubilizar as frações poliméricas fortemente ligadas, que possuem maior massa molecular e melhor atividade floclante, excessos energéticos provocam a lise celular instantânea, resultando na contaminação do extrato por DNA e proteínas intracelulares. De maneira análoga, a extração assistida por micro-ondas destaca-se pelo aquecimento dielétrico direto de moléculas polares, o que promove uma transferência de massa e calor drasticamente superior aos métodos térmicos convencionais. Essa cinética acelerada reduz o tempo de processo de horas para minutos, mitigando a desnaturação térmica

das proteínas ativas e otimizando o balanço energético global da operação. Por sua vez, a extração aquosa e térmica adota uma abordagem puramente verde e de baixo custo operacional, baseada na redução das forças de ligação de hidrogênio através do incremento controlado da temperatura. O controle rigoroso deste parâmetro é imperativo, visto que o superaquecimento pode desencadear a hidrólise de cadeias polissacarídicas longas, comprometendo o mecanismo de formação de pontes na floculação. No que tange às abordagens químicas, a extração em solução salina fundamenta-se no efeito de *salting-in*, em que a força iônica do meio incrementa a solubilidade de macromoléculas por interações eletrostáticas. Análises de Avaliação de Ciclo de Vida (ACV) reportadas na literatura ratificam o elevado custo-benefício ecológico e financeiro dessa rota, posicionando-a como uma alternativa substancialmente mais econômica que o uso de polímeros comerciais convencionais. Em contrapartida, o tratamento alcalino com bases fortes (como o NaOH) comumente atinge os maiores rendimentos quantitativos brutos de extração. Contudo, essa eficiência é acompanhada pela severa degradação da integridade celular sob pH elevado, gerando um bioproduto com alto teor de impurezas e demandando etapas subsequentes de neutralização química que violam os preceitos da Química Verde. Adicionalmente, as técnicas fundamentadas na desestabilização da matriz por quelação iônica revelam comportamentos distintos. O uso de resina de troca catiônica (CER) atua no sequestro seletivo de cátions divalentes Ca^{2+} e Mg^{2+} , preservando a estrutura nativa das frações proteicas sem induzir a lise celular. O principal entrave ao seu emprego industrial, todavia, reside na lenta cinética do processo (que frequentemente ultrapassa 12 horas de agitação) e nos custos associados à regeneração das resinas. Similarmente, a extração por EDTA opera por quelação química agressiva e exhibe rendimentos nominais elevados; contudo, pesquisadores alertam para o fenômeno de *carry-over*, no qual o agente quelante remanescente contamina o extrato isolado e interfere negativamente em ensaios analíticos e colorimétricos posteriores. Por fim, o isolamento definitivo das biomoléculas por meio da precipitação por etanol atua reduzindo a constante dielétrica e a camada de solvatação das cadeias poliméricas. Embora consolidada como o padrão-ouro em escala laboratorial devido à sua simplicidade operacional, a técnica representa um severo gargalo de *scale-up* na bioengenharia industrial, uma vez que demanda volumes massivos de solvente gelado (geralmente em proporções de 2:1 a 3:1).

Os resultados de atividade floclante encontrados nos artigos revisados podem ser vistos na Tabela 6, mostrada abaixo:

Tabela 6 - Resultados de atividade flocculante dos artigos revisados

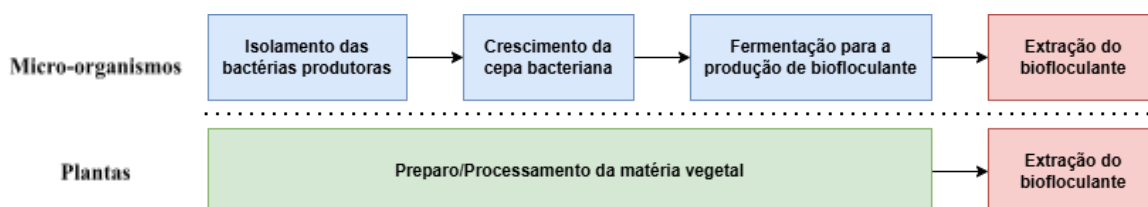
Método de extração	Fonte do bioflocculante	Atividade flocculante	Autores
Extração por ultrassom	Lodo ativado	54,1 ± 1,4% 7,8 ± 1,6%	Yu, He e Shao (2009)
Extração por ultrassom	Lodo ativado de 4 estações de tratamento de esgoto	47,4%, 56,8%, 58,0% e 61,4%	Zhang et al. (2012)
Extração assistida por micro-ondas	Cascas de banana	45,16%	Lau e Kiew (2019)
Extração aquosa	<i>Abelmoschus esculentus</i>	98%	Lee et al. (2015)
Extração aquosa	Lodo ativado	87,24%	Choi et al. (2020)
Extração aquosa	Sementes de <i>Moringa oleifera</i>	91%	Konucu et al. (2022)
Precipitação por etanol	Meio de cultivo de <i>Citrobacter sp. TKF04</i>	> 90%	Fujita et al. (2000)
Precipitação por etanol	Meio de cultivo de <i>Bacillus circulans X3</i>	99%	Li et al. (2009)
Precipitação por etanol	Meio de cultivo de <i>Geotrichum candidum</i>	90%	Wan et al. (2014)
Extração salina	Planta DYT, originária da Indonésia	14,44 - 44,44%	Hendrawan et al. (2016)
Extração salina	Folhas de nim, sementes de <i>Moringa oleifera</i> , cascas de laranja, cascas de romã e cascas de banana	40 - 75 %	Behera e Balasubramanian (2019)
Tratamento alcalino	Resíduos de batata	93,44%	Liu et al. (2017)
Tratamento alcalino	Levedura residual de cerveja	80-82% 93%	Artifon et al. (2022)
Extração por EDTA	Lodos de biofiltração	83% 94%	Nguyen et al. (2016)

Fonte: Autoria (2026).

Por meio da tabela, é possível verificar que é difícil comparar as atividades flocculantes diretamente, visto que as fontes de bioflocculante são diferentes umas das outras, assim como os bioflocculantes extraídos, que variam em sua composição e propriedades. Desse modo, estudos futuros devem comparar métodos de extração utilizados para uma mesma fonte de bioflocculante, de modo a comparar seus efeitos na eficiência de extração de diferentes frações de bioflocculantes, assim como nas propriedades funcionais destas biomoléculas, como a atividade flocculante.

O padrão observado entre os fluxogramas dos diferentes métodos estudados pode ser visto na Figura 2, mostrada a seguir:

Figura 2 - Fluxograma de produção de biofloculantes



Fonte: Autoria própria (2026).

A síntese da literatura revisada aponta para duas rotas principais no desenvolvimento de biofloculantes, diferenciadas pela natureza de sua matéria-prima e pelas técnicas de processamento aplicadas. A primeira via baseia-se na produção microbiana, um processo biotecnológico clássico que se inicia com o isolamento de bactérias produtoras a partir de matrizes ambientais, seguido pelo crescimento controlado da cepa e por uma etapa de fermentação em biorreatores. Essa rota destaca-se na literatura pela alta reprodutibilidade e pelo controle rigoroso de parâmetros operacionais, embora exija processos de downstream intensivos, onde a centrifugação desempenha um papel crucial na separação da biomassa celular antes da purificação final. Em contrapartida, a segunda via fundamenta-se na produção a partir de plantas, alinhando-se aos preceitos da Química Verde ao focar no preparo e processamento direto da matéria vegetal. Essa abordagem foca no aproveitamento de polímeros naturais e resíduos agrícolas por meio de operações de tratamento mecânico iniciais, como a moagem e a trituração, que preparam o material para a extração do biofloculante, vindo a filtração logo em seguida para a remoção de fibras insolúveis do extrato obtido, reduzindo custos operacionais ao dispensar a etapa fermentativa. Ambas as rotas convergem para a extração final do biofloculante, um gargalo tecnológico onde os métodos de separação física específicos de cada via determinam a viabilidade econômica do escalonamento industrial.

Por fim, assim como verificado na literatura, foi possível perceber através da pesquisa que métodos mais brandos são usados para extração de substâncias poliméricas extracelulares fracamente ligadas às matriz celulares, enquanto métodos mais agressivos são usados para extrair frações fortemente ligadas às células, sendo que há de haver um equilíbrio na

agressividade da extração de modo que não ocorra a lise celular e a contaminação dos bioprodutos com materiais intracelulares.

5 PERSPECTIVAS FUTURAS

Este trabalho permitiu analisar aplicações de diferentes métodos de extração de biofloculantes, assim como otimização das variáveis operacionais e também elencar métodos promissores no quesito de seu potencial econômico e ecológico. Apesar disso, não foi possível encontrar muitos estudos econômicos, assim como análises rigorosas de ciclo de vida das biomoléculas analisadas, de modo que é difícil fazer afirmações com relação ao real potencial ecológico e econômico dos processos analisados.

Assim, pesquisas futuras devem focar em desenvolver avaliações econômicas e avaliações do ciclo de vida de cada processo em escala industrial, analisando de forma minuciosa os impactos ambientais provocados pelos processos existentes e pelos novos processos propostos, assim como os custos associados com a operação e investimentos dos mesmos. Além disso, um tópico de grande utilidade a ser explorado seria ainda a possibilidade de extrair biofloculantes de resíduos agroindustriais comumente encontrados na agroindústria do Centro-Oeste brasileiro, assim como de plantas encontradas no Cerrado, sendo importante o estabelecimento de protocolos padronizados de extração para as biomassas específicas da região Centro-Oeste, integrando a otimização de parâmetros operacionais a ensaios de toxicidade do efluente tratado.

6 CONCLUSÃO

Diante do exposto, conclui-se que os biofloculantes apresentam elevado potencial como biomoléculas capazes de substituir floculantes sintéticos convencionais, frequentemente associados à toxicidade e a impactos ambientais negativos. Os diversos métodos de extração disponíveis permitem a recuperação eficiente dessas biomoléculas, destacando-se a extração salina e os métodos físicos assistidos por ultrassom e micro-ondas, que se alinham aos princípios da Química Verde por dispensarem solventes agressivos e tóxicos, operarem sob condições relativamente brandas e apresentarem potencial para aplicação econômica em larga escala devido aos ganhos de eficiência obtidos.

Ademais, a classificação das técnicas de extração evidenciou que os métodos químicos, como o tratamento alcalino e a utilização de EDTA, embora proporcionem maiores rendimentos na recuperação de substâncias poliméricas extracelulares (SPE) fortemente ligadas, podem promover riscos de lise celular, contaminação do bioproduto e degradação polimérica, comprometendo a integridade estrutural, a massa molecular e os sítios ativos responsáveis pelos mecanismos de neutralização de cargas e formação de pontes. Em contrapartida, os métodos físicos e as extrações aquosas ou salinas preservam melhor as características funcionais das macromoléculas, resultando em biofloculantes com maior atividade e pureza.

Por fim, a consolidação mercadológica dos biofloculantes ainda é limitada pela escassez de estudos robustos de Avaliação de Ciclo de Vida (ACV) e de viabilidade econômica, tornando necessários futuros trabalhos que aprofundem esses aspectos e contribuam para a transição segura, sustentável e competitiva dessa tecnologia da escala laboratorial para a aplicação industrial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABU BAKAR, Siti Nur Hatika et al. A review of the production process of bacteria-based polymeric flocculants. *Journal of Water Process Engineering*, v. 40, art. 101915, 2021. Acesso em: 25/05/2026.
- AGUNBIADE, Mayowa et al. Biofloculant produced by *Bacillus velezensis* and its potential application in brewery wastewater treatment. *Scientific Reports*, v. 12, n. 10945, p. 1-12, 2022. Acesso em: 30/05/2026.
- ALMANSOORY, Asia Fadhile; AL-BALDAWI, Israa Abdulwahab; HAZAIMEH, Mohammad. Optimization of the EPS production of a bacterial floc consortium using different parameters. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, v. 23, p. 101466, 2020. Acesso em: 29/05/2026.
- AMERICAN CHEMICAL SOCIETY. 12 principles of green chemistry. [S. l.], s.d. Disponível em: <https://www.acs.org/green-chemistry-sustainability/principles/12-principles-of-green-chemistry.html>. Acesso em: 6 jun. 2026.
- ARTIFON, Wagner; MAZUR, Luciana Prazeres; SOUZA, Antonio Augusto Ulson de; OLIVEIRA, Débora de. Production of biofloculants from spent brewer's yeast and its application in the treatment of effluents with textile dyes. *Journal of Water Process Engineering*, v. 49, 102997, 2022. Acesso em: 6 jun. 2026.
- BEHERA, Bunushree; BALASUBRAMANIAN, P. Natural plant extracts as an economical and ecofriendly alternative for harvesting microalgae. *Bioresource Technology*, v. 283, p. 45–52, 2019. Acesso em: 01/06/2026.
- BEN REBAH, F.; MNIF, W.; SIDDEEG, S. M. Microbial flocculants as an alternative to synthetic polymers for wastewater treatment: a review. *Symmetry*, v. 10, n. 11, p. 556, 2018. Acesso em: 03/06/2026.
- Beschkov, V. N. Ion exchange in downstream processing in biotechnology. *Physical Sciences Reviews*, v. 5, n. 7, 2020. Acesso em: 7 jun. 2026.
- BOTERO, W. G.; SANTOS, A.; OLIVEIRA, L. C.; ROCHA, J. C. Caracterização de lodo gerado em estações de tratamento de água: perspectivas de aplicação agrícola. *Quim. Nova*, Vol. 32, No. 8, 2018-2022, 2009. Acesso em: 30 abr. 2026.
- CHEN, Z. et al. Characterization of a novel biofloculant from a marine bacterium and its application in dye wastewater treatment. *BMC Biotechnology*, v. 17, art. 84, 2017. Acesso em: 03/06/2026.
- CHOI, Oh Kyung et al. Influence of activated sludge derived-extracellular polymeric substance (ASD-EPS) as bio-flocculation of microalgae for biofuel recovery. *Algal Research*, v. 45, p. 101736, 2020. Acesso em: 01/06/2026.
- CLARK, James H. Green chemistry: challenges and opportunities. *Green Chemistry*, v. 1, n. 1, p. 1-8, 1999. Acesso em: 20/05/2026.
- COMTE, S.; GUIBAUD, G.; BAUDU, M. Relations between extraction protocols for activated sludge extracellular polymeric substances (EPS) and EPS complexation properties: Part I. Comparison of the efficiency of eight EPS extraction methods. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 38, p. 237-245, 2006. Acesso em: 6 jun. 2026.

DESTANDAU, E.; MICHEL, T.; ELFAKIR, C. Microwave-assisted extraction. In: ROSTAGNO, M. A.; PRADO, J. M. (ed.). *Natural product extraction: principles and applications*. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2013. p. 113-156. Acesso em: 4 jun. 2026.

DI BERNARDO, L.; BOTARI, A.; SABOGAL-PAZ, L. P. Uso de modelação matemática para projeto de câmaras mecanizadas de floculação em série em estações de tratamento de água. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 10, n. 1, p. 82-90, jan./mar. 2005. Acesso em: 30/04/2026.

DORNELAS, Charlys Seixas Maia. Biotecnologia de microrganismos: fundamentos, bioprocessos e aplicações na indústria e na agricultura. *Revista JRG de Estudos Acadêmicos*, v. 9, n. 20, p. 1-11, 2026. Acesso em: 20/05/2026.

D'ABZAC, P.; BORDAS, F.; VAN HULLEBUSCH, E.; LENS, P. N. L.; GUIBAUD, G. Extraction of extracellular polymeric substances (EPS) from anaerobic granular sludges: comparison of chemical and physical extraction protocols. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 85, n. 5, p. 1589-1599, 2010. Acesso em: 03/06/2026.

FLEMMING, Hans-Curt; WINGENDER, Jost. EPS—then and now. *Microorganisms*, v. 4, n. 4, art. 41, 2016. Acesso em: 03/06/2026.

FRØLUND, B.; PALMGREN, R.; KEIDING, K.; NIELSEN, P. H. Extraction of extracellular polymers from activated sludge using a cation exchange resin. *Water Research*, v. 30, n. 8, p. 1749-1758, 1996. Acesso em: 03/06/2026.

FUJITA, Masanori; IKE, Michihiko; TACHIBANA, Shinya; KITADA, Go; KIM, Shin Myoung; INOUE, Zensuke. Characterization of a bioflocculant produced by *Citrobacter* sp. TKF04 from acetic and propionic acids. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, v. 89, n. 1, p. 40-46, 2000. Acesso em: 5 jun. 2026.

GARCÍA-FAYOS, B.; ARNAL, J. M.; SANCHÓ, M.; RODRIGO, I. Moringa oleifera for drinking water treatment: influence of the solvent and method used in oil-extraction on the coagulant efficiency of the seed extract. *Desalination and Water Treatment*, v. 57, n. 48-49, p. 23397-23404, 2016. Acesso em: 03/06/2026.

GOUVEIA, J. G. et al. Optimization of bioflocculant production by *Bacillus* spp. from sugarcane crop soil or from sludge of the agroindustrial effluent. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, v. 36, n. 2, p. 627-637, 2019. Acesso em: 03/06/2026.

GREGORY, John; BARANY, Sandor. Adsorption and flocculation by polymers and polymer mixtures. *Advances in Colloid and Interface Science*, v. 169, n. 1, p. 1-12, 2011. Acesso em: 29/05/2026.

HAN, Xiaomeng; WANG, Zhiwei; ZHU, Chaowei; WU, Zhichao. Effect of ultrasonic power density on extracting loosely bound and tightly bound extracellular polymeric substances. *Desalination*, v. 329, p. 35-40, 2013. Acesso em: 4 jun. 2026.

HENDRAWAN et al. Study of $MgCl_2$ salt effects on bioflocculant DYT extraction through maceration method. In: *AIP Conference Proceedings*. AIP Publishing LLC, 2016. Acesso em: 01/06/2026.

HONG, Phuc-Nguon; HONDA, Ryo; NOGUCHI, Mana; ITO, Tomohiro. Optimum selection of extraction methods of extracellular polymeric substances in activated sludge for effective extraction of the target components. *Biochemical Engineering Journal*, v. 127, p. 136-146, 2017. Acesso em: 03/06/2026.

HUANG, Lei; JIN, Yinie; ZHOU, Danheng; LIU, Linxin; HUANG, Shikun; ZHAO, Yaqi; CHEN, Yucheng. A review of the role of extracellular polymeric substances (EPS) in wastewater treatment

systems. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, v. 19, n. 19, p. 12191, 2022. Acesso em: 6 jun. 2026.

HUI, Wenlong; ZHOU, Jiti; JIN, Ruofei. Proteins recovery from waste activated sludge by thermal alkaline treatment. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, v. 10, n. 2, art. 107311, 2022. Acesso em: 03/06/2026.

JIANG, Xincheng et al. Biopolymer-based flocculants: a review of recent technologies. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 28, 2021. Acesso em: 28/05/2026.

KHANAL, Samir Kumar; GREWELL, David; SUNG, Shihwu; VAN LEEUWEN, J. Hans. Ultrasound applications in wastewater sludge pretreatment: a review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, v. 37, n. 4, p. 277-313, 2007. Acesso em: 4 jun. 2026.

KONUCU, Merve et al. *Moringa oleifera* Lam. as a Bioflocculant for Harvesting Microalgae Grown on Agricultural Wastewaters for Feed Production. *Applied Sciences*, v. 12, n. 24, p. 12968, 2022. Acesso em: 01/06/2026.

KURNIAWAN, S. B. et al. Challenges and opportunities of biocoagulant/bioflocculant application for drinking water and wastewater treatment and its potential for sludge recovery. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, v. 17, n. 24, 9312, 2020. Acesso em: 03/06/2026.

LAU, Zhi Eng; KIEW, Peck Loo. Microwave-assisted extraction of banana peel bio-flocculant and its potential in wastewater treatment. *Global Journal of Engineering and Technology Advances*, v. 1, n. 1, p. 1–9, 2019. Acesso em: 4 jun. 2026.

LAUTENBACH, Vanessa; HOSSEINPOUR, Saman; PEUKERT, Wolfgang. Isoelectric Point of Proteins at Hydrophobic Interfaces. *Frontiers in Chemistry*, v. 9, art. 712978, 2021. Acesso em: 03/06/2026.

Lavoie, J.; Fan, J.; Pourdeyhimi, B.; Boi, C.; Carbonell, R. G. Advances in high-throughput, high-capacity nonwoven membranes for chromatography in downstream processing: A review. *Biotechnology and Bioengineering*, 2023. Acesso em: 7 jun. 2026.

LEE, C. S.; ROBINSON, J.; CHONG, M. F. A review on application of flocculants in wastewater treatment. *Process Safety and Environmental Protection*, v. 92, n. 6, p. 489–508, 2014. Acesso em: 03/06/2026.

LEE, Chai Siah et al. Optimisation of extraction and sludge dewatering efficiencies of bio-flocculants extracted from *Abelmoschus esculentus* (okra). *Journal of Environmental Management*, v. 157, p. 320-325, 2015. Acesso em: 31/05/2026.

LEE, Chai Siah; CHONG, Mei Fong; BINNER, Eleanor; GOMES, Rachel; ROBINSON, John. Techno-economic assessment of scale-up of bio-flocculant extraction and production by using okra as biomass feedstock. *Chemical Engineering Research and Design*, v. 132, p. 358-369, 2018. Acesso em: 4 jun. 2026.

LI, K. et al. In the process of polysaccharide gel formation: a review of the role of competitive relationship between water and alcohol molecules. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 281, pt. 3, art. 136398, 2024. Acesso em: 5 jun. 2026.

LI, W. W. et al. Flocculation behavior and mechanism of an exopolysaccharide from the deep-sea psychrophilic bacterium *Pseudoalteromonas* sp. SM9913. *Bioresource Technology*, v. 99, n. 12, p. 6893-6899, 2008. Acesso em: 18/05/2026.

LI, Yajing; LI, Zhu; WANG, Shaopo. Analysis of characteristics extracellular polymeric substances extracted from aerobic granular sludge by different methods. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, v. 199, 032060, 2018. Acesso em: 6 jun. 2026.

LI, Zhong; CHEN, Ruo-Wei; LEI, Heng-Yi; SHAN, Zhong; BAI, Tao; YU, Qiang; LI, Hua-Liang. Characterization and flocculating properties of a novel bioflocculant produced by *Bacillus circulans*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 25, p. 745-752, 2009. Acesso em: 5 jun. 2026.

LIANG, Lihui et al. Research progress on the polysaccharide extraction and antibacterial activity. *Annals of Microbiology*, v. 74, art. 17, 2024. Acesso em: 03/06/2026.

LIU, C. et al. Recent advances and perspectives in efforts to reduce the production and application cost of microbial flocculants. *Bioresources and Bioprocessing*, v. 8, art. 38, 2021. Acesso em: 03/06/2026.

LIU, H.; FANG, H. H. P. Extraction of extracellular polymeric substances (EPS) of sludges. *Journal of Biotechnology*, v. 95, n. 3, p. 249-256, 2002. Acesso em: 03/06/2026.

LIU, J.; ZHANG, Z.; DENG, Y.; CHEN, G. Effect of extraction method on the structure and bioactivity of polysaccharides from activated sludge. *Water Research*, v. 253, 121196, 2024. Acesso em: 03/06/2026.

LIU, Weijie; HAO, Yan; JIANG, Jihong; LIU, Cong; ZHU, Aihua; ZHU, Jingrong; DONG, Zhen. Biopolymeric flocculant extracted from potato residues using alkaline extraction method and its application in removing coal fly ash from ash-flushing wastewater generated from coal fired power plant. *AIMS Environmental Science*, v. 4, n. 1, p. 27-41, 2017. Acesso em: 6 jun. 2026.

LU, Xu. Changes in the structure of polysaccharides under different extraction methods. *eFood*, v. 4, n. 2, e82, 2023. Acesso em: 7 jun. 2026.

MALIEHE, T. S. et al. Isolation of a marine bacterium and application of its bioflocculant in wastewater treatment. *Microbiology Research*, v. 13, n. 3, p. 584-597, 2022. Acesso em: 03/06/2026.

MARTINS, Giuliano S.; BATISTA, Ana Maria M.; SIQUEIRA, Juliano C. de; SINISCALCHI, Luciene A. B.; ORÉFICE, Rodrigo L. Aplicação de polímeros na floculação de rejeito de caulim: efeitos da variação de concentração e tipo de floculante. *Química Nova*, v. 45, n. 5, p. 543-549, 2022. Acesso em: 29/05/2026.

MISHRA, Bishwambhar et al. Industrial wastewater treatment using extracellular polymer substances/bioflocculants: a review. *Applied Water Science*, v. 15, n. 58, p. 1-20, 2025 (p. 1). Acesso em: 20/05/2026.

NGUYEN, Viet Hoang et al. Impact of extraction methods on bio-flocculants recovered from backwashed sludge of bio-filtration unit. *Journal of Environmental Management*, v. 180, p. 344-350, 2016. Acesso em: 6 jun. 2026.

NOUHA, Klai; KUMAR, Ram Saurabh; BALASUBRAMANIAN, Sellamuthu; TYAGI, Rajeshwar Dayal. Critical review of EPS production, synthesis and composition for sludge flocculation. *Journal of Environmental Sciences*, v. 66, p. 225-245, 2018. Acesso em: 03/06/2026.

OKUDA, Tetsuji et al. Improvement of extraction method of coagulation active components from *Moringa oleifera* seed. *Water Research*, v. 33, n. 15, p. 3373-3378, 1999. Acesso em: 01/06/2026.

OLIVA, Rebeca Leme et al. Constituent of extracellular polymeric substances (EPS) produced by a range of soil bacteria and fungi. *BMC Microbiology*, v. 25, art. 298, 2025. Acesso em: 03/06/2026.

PELLICER-NÀCHER, Carles et al. Critical assessment of extracellular polymeric substances extraction methods from mixed culture biomass. *Water Research*, v. 47, n. 15, p. 5564-5574, 2013. Acesso em: 03/06/2026.

SELEPE, Tlou Nelson; MALIEHE, Tsolanku Sidney. Bioflocculation of pollutants in wastewater using flocculant derived from *Providencia huaxiensis* OR794369.1. *BMC Microbiology*, v. 24, art. 39, 2024. Acesso em: 7 jun. 2026.

SESAY, M. L.; ÖZCENGİZ, G.; SANIN, F. D. Enzymatic extraction of activated sludge extracellular polymers and implications on bioflocculation. *Water Research*, v. 40, n. 7, p. 1359-1366, 2006. Acesso em: 03/06/2026.

SHARMA, B. R.; DHULDHOYA, N. C.; MERCHANT, U. C. Flocculants—an Ecofriendly Approach. *Journal of Polymers and the Environment*, v. 14, p. 195–202, 2006. Acesso em: 28/05/2026.

SHENG, G.-P.; YU, H.-Q.; LI, X.-Y. Extracellular polymeric substances (EPS) of microbial aggregates in biological wastewater treatment systems: A review. *Biotechnology Advances*, v. 28, n. 6, p. 882-894, 2010. Acesso em: 01/06/2026.

SIDDEEG, S. M.; TAHOON, M. A.; BEN REBAH, F. Agro-industrial waste materials and wastewater as growth media for microbial bioflocculants production: a review. *Materials Research Express*, v. 7, p. 012001, 2020. Acesso em: 03/06/2026.

SILVA, R. M. P. da; FARIAS, B. S. de; FERNANDES, S. S. From Natural to Industrial: How Biocoagulants Can Revolutionize Wastewater Treatment. *Processes*, v. 13, n. 6, p. 1706, 2025. Acesso em: 21/05/2026.

TAI, Y. et al. Research progress on the ethanol precipitation process of traditional Chinese medicine. *Chinese Medicine*, v. 15, art. 84, 2020. Acesso em: 5 jun. 2026.

TANG, Wei; SONG, Liyan; LI, Dou; QIAO, Jing; ZHAO, Tiantao; ZHAO, Heping. Production, Characterization, and Flocculation Mechanism of Cation Independent, pH Tolerant, and Thermally Stable Bioflocculant from *Enterobacter* sp. ETH-2. *PLOS ONE*, v. 9, n. 12, e114591, 2014. Acesso em: 03/06/2026.

TEPSONGKROH, Benjarat; THAIHUTTAKIJ, Chuttida; SUPAWONG, Supattra; JANGCHUD, Kamolwan. Impact of high pressure pre-treatment and hot water extraction on chemical properties of crude polysaccharide extract obtained from mushroom (*Volvariella volvacea*). *Food Chemistry: X*, v. 19, art. 100864, 2023. Acesso em: 7 jun. 2026.

UGBENYEN, A. M. et al. Thermostable bacterial bioflocculant produced by *Cobetia* spp. isolated from Algoa Bay (South Africa). *International Journal of Environmental Research and Public Health*, v. 9, n. 6, p. 2108-2120, 2012. Acesso em: 03/06/2026.

UNESCO. Relatório Mundial das Nações Unidas sobre o Desenvolvimento dos Recursos Hídricos 2015: Água para um Mundo Sustentável. Paris: UNESCO, 2015. 139 p. Disponível em: unesco.org. Acesso em: 24 abr. 2026.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Basics of green chemistry. Washington, DC, 2026. Disponível em: <https://www.epa.gov/greenchemistry/basics-green-chemistry>. Acesso em: 6 jun. 2026.

VEGGI, P. C.; MARTINEZ, J.; MEIRELES, M. A. A. Fundamentals of microwave extraction. In: CHEMAT, F.; CRAVOTTO, G. (ed.). *Microwave-assisted extraction for bioactive compounds: theory and practice*. Boston: Springer, 2012. p. 15-52. Acesso em: 4 jun. 2026.

WAN, Yingxin; WU, Liping; TANG, Peijing; ZHANG, Jingyi. Composition of extracellular polymeric substances produced by *Geotrichum* sp. J-5. *Asian Journal of Chemistry*, v. 26, n. 2, p. 592-596, 2014. Acesso em: 5 jun. 2026.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Guidelines on sanitation and health. Geneva: World Health Organization, 2018. 220 p. Disponível em: who.int. Acesso em: 24 abr. 2026.

YADAV, M. K. et al. Methods for detection, extraction, purification, and characterization of exopolysaccharides of lactic acid bacteria—A systematic review. *Foods*, v. 13, n. 22, art. 3687, 2024. Acesso em: 5 jun. 2026.

YANG, Yang; JIANG, Cancan; WANG, Xu; FAN, Lijing; XIE, Yawen; WANG, Danhua; YANG, Tiancheng; PENG, Jiang; ZHANG, Xinyuan; ZHUANG, Xuliang. Unraveling the Potential of Microbial Flocculants: Preparation, Performance, and Applications in Wastewater Treatment. *Water*, v. 16, n. 14, art. 1995, 2024. Acesso em: 03/06/2026.

YOU, Lijun et al. Fabrication of a cationic polysaccharide for high performance flocculation. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 520, p. 841–849, 2017. Acesso em: 18/05/2026.

YU, Guang-Hui; HE, Pin-Jing; SHAO, Li-Ming. Characteristics of extracellular polymeric substances (EPS) fractions from excess sludges and their effects on bioflocculability. *Bioresource Technology*, v. 100, p. 3193-3198, 2009. Acesso em: 4 jun. 2026.

ZHANG, Qing-Wen; LIN, Li-Gen; YE, Wen-Cai. Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. *Chinese Medicine*, v. 13, art. 20, 2018. Acesso em: 7 jun. 2026.

ZHANG, Zhiqiang; DAI, Xiaoqing; WANG, Chunhui; QI, Wanqi; LI, Xiangrong; ZHANG, Jiao; XIA, Siqing. Ultrasound-promoted extraction of cheap microbial flocculant from waste activated sludge. *Environmental Technology*, (s. l.), p. 1-6, nov. 2012. Acesso em: 4 jun. 2026.

ZHENG, Xianzhe; YIN, Fangping; LIU, Chenghai; XU, Xiangwen. Effect of process parameters of microwave assisted extraction (MAE) on polysaccharides yield from pumpkin. *Journal of Northeast Agricultural University (English Edition)*, v. 18, n. 2, p. 79-86, 2011. Acesso em: 4 jun. 2026.