

UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM ENGENHARIA CIVIL E AMBIENTAL

Área de concentração: Infraestrutura e Meio Ambiente

Dissertação de Mestrado

COLHEITA DE *Spirulina platensis* VIA BIOFLOCULAÇÃO
FÚNGICA E USO DA BIOMASSA EM BIOPROCESSOS

Mateus Torres Nazari

Passo Fundo

2021



CIP – Catalogação na Publicação

N335c Nazari, Mateus Torres
Colheita de *Spirulina platensis* via biofloculação fúngica e uso da biomassa em bioprocessos [recurso eletrônico] / Mateus Torres Nazari. – 2021.
8 MB.; PDF.

Orientadora: Profa. Dra. Luciane Maria Colla.
Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil e Ambiental) – Universidade de Passo Fundo, 2021.

1. Biocombustíveis. 2. Biomassa. 3. Alga. 4. Spirulina.
I. Colla, Luciane Maria, orientadora. II. Título.

CDU: 620.91

Catalogação: Bibliotecária Jucelei Rodrigues Domingues - CRB 10/1569

COLHEITA DE *Spirulina platensis* VIA BIOFLOCULAÇÃO FÚNGICA E USO DA
BIOMASSA EM BIOPROCESSOS

Mateus Torres Nazari

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Engenharia
Civil e Ambiental da Universidade de Passo
Fundo, como parte dos requisitos para
obtenção do título de Mestre em Engenharia.

Data da aprovação: 18 de fevereiro de 2021.

Membros da banca examinadora:

Profa. Dra. Luciane Maria Colla

Orientadora

Profa. Dra. Rosana de Cassia de Souza

Universidade de Santa Cruz – UNISC

Prof. Dr. Christian Oliveira Reinehr

Universidade de Passo Fundo – UPF

Prof. Dr. Vandrê Barbosa Brião

Universidade de Passo Fundo – UPF

Passo Fundo, fevereiro de 2021

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família, especialmente aos meus pais, aos meus amigos, à minha orientadora e a todos aqueles que, em tempos tão obscuros, ainda acreditam na ciência e no poder que uma **educação inclusiva** tem sobre a vida de uma pessoa.

“Vocês vão perceber do que o ser humano é capaz quando a ele é dada uma oportunidade!”

Luiz Inácio Lula da Silva

AGRADECIMENTOS

Ao finalizar mais uma etapa da minha jornada acadêmica, quero agradecer a todos que, de alguma forma, foram essenciais para que esse momento chegasse.

Aos meus pais, irmãs, amigos e família em geral, obrigado pelo apoio, suporte, amor, amizade e incentivo de sempre. Vocês tem minha eterna gratidão!

À minha orientadora, Luciane Colla, obrigado pelos ensinamentos, oportunidades, incentivos, paciência, por ter me recebido tão bem e acreditado em mim. Tens minha admiração e eterna gratidão pela parceria e por ter impactado tanto na minha formação.

À Universidade de Passo Fundo, ao PPGEng, à CAPES e políticas públicas de concessão de bolsas, recursos e infraestrutura, as quais foram fundamentais ao desenvolvimento deste trabalho e durante toda minha jornada acadêmica.

A todos os integrantes do Laboratório de Bioquímica e Bioprocessos - UPF, colegas e professores do PPGEng e PPGCTA por compartilharem comigo todos os momentos que a execução de uma dissertação pode gerar. Obrigado por toda ajuda, paciência, troca de conhecimento, risadas, cafés e amizade, vocês foram essenciais nessa jornada e pelo êxito deste trabalho.

Em suma, gratidão a todos aqueles que contribuíram de forma direta ou indireta para que esse aspirante a cientista alcançasse mais um objetivo de vida. Obrigado por tanto!

RESUMO

Microalgas podem ser cultivadas visando utilizar sua biomassa para produzir biocombustíveis ou para obtenção de produtos de alto valor agregado. Embora a produção de biocombustíveis a partir de microalgas apresente vantagens em relação às outras matérias-primas, sua aplicação em larga escala ainda esbarra em aspectos econômicos. Diante disso, estudos têm buscado formas de reduzir custos de produção, principalmente na etapa de colheita, que é ainda é relatada como um dos gargalos da produção de microalgas para diferentes aplicações em virtude do tamanho reduzido das células microalgais e da sua alta estabilidade coloidal no meio de cultivo. Dentre as diversas técnicas existentes, a biofloculação evidencia-se como alternativa promissora frente aos métodos tradicionais de colheita, uma vez que é viável em termos de custo, execução, eficiência e, sobretudo, por ser um método ambientalmente mais adequado. A partir da elaboração de um artigo de revisão, verificou-se que fungos filamentosos podem ser empregados como agentes biofloculantes de cultivos algais em virtude da interação mútua ocorrida pela diferença de cargas entre os microrganismos. Contudo, estudos abordando aplicações para a biomassa resultante de processos de biofloculação mediada por fungos são escassos, especialmente sobre bioetanol. Sendo assim, esta dissertação objetivou implementar diferentes bioprocessos para realizar a colheita de células de *Spirulina platensis* através da utilização de biomassa de *Aspergillus niger* como agente biofloculante. Além disso, foi realizado aumento de escala desse processo de separação e, da biomassa alga:fungo resultante, visou-se produzir bioetanol. Estes objetivos foram divididos e apresentados neste documento em forma de quatro capítulos, os quais contém os artigos resultantes desta dissertação. Foi possível determinar as melhores condições experimentais para produzir biomassa de *Aspergillus niger* via fermentação submersa utilizando dois subprodutos agroindustriais como substrato. Contudo, uma baixa atividade amilolítica foi obtida, inviabilizando a utilização das amilases produzidas pelo fungo na etapa de sacarificação enzimática. Em relação à biofloculação, verificou-se a viabilidade de utilizar biomassa de *Aspergillus niger* como agente biofloculante de *Spirulina platensis*, uma vez que, em algumas condições experimentais, toda biomassa microalgal foi colhida em duas horas e, sem nenhuma adição de químicos, cerca de 90% de eficiência foi alcançada. Além disso, foi estudado um aumento de escala do processo de biofloculação de 20 vezes, que resultou em uma eficiência de colheita superior a 95%. Em relação à produção de bioetanol, não foi possível gerar esse biocombustível com a biomassa biofloculada. Sendo assim, estudos futuros devem avaliar métodos de ruptura celular e de sacarificação de biomassas provenientes de biofloculação, a fim de que se torne possível produzir bioetanol a partir da matriz *Spirulina+Aspergillus*. Todos os aspectos abordados por este trabalho visavam contribuir para aumentar a sustentabilidade da produção de *Spirulina*, principalmente no que tange o conceito de biorrefinaria integrada e os objetivos do desenvolvimento sustentável da Organização das Nações Unidas.

Palavras-chave: *Aspergillus niger*, Biofloculante, Microalga, Fermentação submersa, Bioetanol, Biorrefinaria integrada.

ABSTRACT

Microalgae can be cultivated aiming to use their biomass to produce biofuels or to obtain high value-added bioproducts. Although the production of biofuels from microalgae has numerous advantages over other feedstocks, its large-scale application is still limited by economic aspects. In this sense, studies have been aimed to reduce production costs, especially to optimize the harvesting, which is reported as one of the most limitations in third-generation biofuels. Among the techniques commonly used, bioflocculation is a promising alternative and eco-friendly method, based on its viability in terms of cost, execution, and efficiency. From a review article developed, it was verified that filamentous fungi can be used as bioflocculants of microalgae due to the mutual interaction that occurred by charge differences between these microorganisms. However, there is a lacking of studies addressing applications for biomass resulting from fungal-mediated bioflocculation processes, especially for bioethanol. Thus, this work aimed to implement different bioprocesses to harvest *Spirulina platensis* cells using *Aspergillus niger* biomass as a bioflocculant. Besides, the bioflocculation process was scaled-up and, from the resulting algae:fungus biomass, the aim was to produce bioethanol. These aims were divided and presented in this document in four chapters, which contain the articles resulting from this dissertation. It was possible to determine the best experimental conditions to produce *Aspergillus niger* biomass under submerged fermentation using two agro-industrial by-products as substrate. However, a low amylolytic activity was obtained, making it impossible to use the amylases produced by the fungus in the saccharification step. Regarding bioflocculation, *Aspergillus niger* biomass is a viable bioflocculant of *Spirulina platensis*, since all microalgal biomass was harvested in two hours in some experimental conditions, and a ~90% efficiency has been achieved without any addition of chemicals. Also, a 20-fold scale increase of the bioflocculation process was studied, which resulted in a harvesting efficiency greater than 95%. Regarding bioethanol, it was not possible to produce this biofuel using the bioflocculated biomass. Therefore, further studies should evaluate methods of cell disruption and saccharification of biomasses from bioflocculation, to make it possible to produce bioethanol from this matrix. All these aspects explored in this work aimed to contribute to the sustainability of *Spirulina* cultivations, especially for the concept of integrated biorefinery and the United Nations Sustainable Development Goals.

Keywords: *Aspergillus niger*, Bioflocculant, Microalgae, Submerged fermentation, Bioethanol, Integrated biorefineries.

1. INTRODUÇÃO GERAL

A energia é um dos principais pilares da economia de um país, sendo fundamental ao desenvolvimento de uma sociedade. Dentre as fontes energéticas, os combustíveis fósseis são um dos mais utilizados (Gautam et al., 2019; Netravali; Chabba, 2003). Além de aspectos quantitativos, a dependência pela matriz fóssil causa diversos impactos adversos no meio ambiente. Uma variedade de poluentes são gerados e emitidos através do uso de derivados do petróleo, tais como óxidos de nitrogênio (NOx), óxidos de enxofre (SOx), monóxido de carbono (CO), compostos orgânicos voláteis (COV's) e outras partículas (Grist, 2016). Com isso, esse setor contribui negativamente para emissão de gases de efeito estufa (Basu et al., 2014; Hook; Tang, 2013; Papanikolaou, 2016; Şahin et al., 2019;), ocorrência de chuvas ácidas (Hsu; Robinson, 2019), contaminação do solo (Grist, 2016; Haroni et al., 2019; Konieczny; Krzyśko-Łupicka, 2019), além de alteração da qualidade das águas superficiais e subterrâneas (Bruckberger et al., 2019; Grist, 2016; Iheony et al., 2019; Papanikolaou, 2016).

Como alternativa a essa matriz, é fundamental o desenvolvimento de estratégias para produção de biocombustíveis que sejam mais eficientes e sustentáveis (Acheampong et al., 2017; Escobar et al., 2009; Nizami et al., 2017; Zabed et al., 2019). Os biocombustíveis podem ser classificados de acordo com suas tecnologias de produção, como sendo de primeira (1G), segunda (2G) e terceira geração (3G), a qual contempla as microalgas (Abdulkareem-Alsultan et al., 2020).

As microalgas são superiores às culturas tradicionais, pois apresentam crescimento mais rápido que a biomassa comum (de cinco a dez vezes) e uma produtividade de óleo ($L\ ha^{-1}$) superior a 10 vezes (Rempel et al., 2019; Singh; Gu, 2010). Além disso, não competem com a produção de alimentos por terras agricultáveis, visto que podem ser cultivadas em locais inóspitos e ainda são capazes de utilizar águas salobras, do mar ou efluentes como fonte de nutrientes (Bhattacharya et al., 2017; Ishika et al., 2017; Ishika et al., 2018; Nguyen et al., 2019; Reinehr; Costa, 2006; Salla et al., 2016; Vanthoor-Koopmans et al., 2013; Zhou et al., 2012). As microalgas ainda realizam biofixação de carbono e podem ser empregadas para remover nutrientes e contaminantes emergentes de efluentes (Matamoros et al., 2016; Rashid et al., 2018; Xiong et al., 2018). Outra vantagem consiste no fato de que, através de processos paralelos à produção dos biocombustíveis, outros bioprodutos de alto valor agregado podem obtidos a partir de biomassas algais, o que contribui para sua sustentabilidade (Anthony et al., 2013; Costa et al., 2019; De Souza et al., 2019; Pancha et al., 2019; Yu et al., 2015).

Contudo, autores relatam que a etapa de colheita, a qual consiste na separação da biomassa do meio de cultivo, representa de 20% a 30% do seu custo de produção, sendo este um fator

limitante para o uso comercial das microalgas em diversas finalidades (Alam et al., 2016; Barros et al., 2015; González-Fernández et al., 2012; Grima et al., 2003; Mata et al., 2010; Rashid et al., 2018; Ruan et al., 2019). O tamanho das células microalgais contribui para uma alta estabilidade coloidal na suspensão líquida, inviabilizando o emprego da sedimentação simples como técnica de colheita. Assim, outros métodos de colheita vêm sendo estudados e, embora a coagulação/floculação seja uma estratégia eficiente, esta técnica pode demandar altas quantidades de coagulantes e floculantes, elevando os custos de produção e que podem ainda causar a contaminação da biomassa com metais tóxicos (Alam et al., 2016; Liu et al., 2017; Nguyen et al., 2019; Ummalyma et al., 2017).

Diante disso, é necessária a busca por métodos de colheita alternativos, que facilitem a utilização da biomassa microalgal para a obtenção de biocombustíveis e outros biocompostos. Dentre as novas tendências de métodos de separação de biomassa microalgal, a biofloculação tem sido explorada pela comunidade científica nos últimos anos em função de ser uma técnica mais sustentável e que não requer a adição de produtos químicos (Alam et al., 2016; Chatsungnoen; Chisti, 2016; Chen et al., 2018; Luo et al., 2019; Nazari et al., 2020; Nguyen et al., 2019; Ndikubwimana et al., 2014; Salim et al., 2011; Ummalyma et al., 2017; Zhou et al., 2013).

A biofloculação consiste em um método de floculação em que se adicionam agentes biológicos ao invés de produtos químicos (Chen et al., 2018). Estudos comprovam a eficiência da biofloculação de microalgas através da sua interação com diferentes microrganismos, tais como bactérias, microalgas autofloculantes, leveduras e fungos (Alam et al., 2016; Nazari et al., 2020; Rashid et al., 2018; Ummalyma et al., 2017). Para Chen et al. (2018), a biofloculação de microalgas através da utilização de fungos é um método de colheita viável. Isso deve-se ao fato de que as microalgas possuem grande capacidade de interação com fungos devido à diferença de cargas entre eles (Rashid et al., 2018). A literatura reporta que fungos filamentosos, como *Aspergillus sp.*, podem ser empregados na biofloculação devido à sua capacidade de auto-peletização e alta eficiência na colheita de microalgas (Gultom; Hu, 2013; Xie et al., 2013).

O cultivo de fungos para diferentes aplicações é realizado em fermentação em estado sólido ou fermentação submersa (Martin et al., 2019; Rao et al., 2007). Para tal, é possível utilizar resíduos ou subprodutos agroindustriais como substrato para o desenvolvimento de fungos (Adejuwon et al., 2019). Esses materiais que poderiam causar impactos ambientais negativos, são fonte nutricional para fungos produzirem uma série de bioprodutos, como as enzimas amilolíticas (Colla et al., 2020; Mahmood et al., 2016; Shukla; Kar, 2006).

Nessa perspectiva, como forma de complementar projetos já desenvolvidos e gerar novos conhecimentos na área de biocombustíveis 3G, este trabalho foi realizado vinculado ao Programa

de Pós-Graduação em Engenharia Civil e Ambiental da Universidade de Passo Fundo, na linha de pesquisa de “Infraestrutura Sustentável”. Ao explorar a temática de biofloculação de cultivos algais através da utilização de fungos filamentosos cultivados a partir de subprodutos agroindustriais, esta dissertação objetivou contribuir para o estado da arte, especialmente ao conceito de biorrefinarias integradas. Sobretudo, se buscou inserir os preceitos da sustentabilidade nos diferentes bioprocessos propostos por este trabalho e, assim, contribuir para o alcance de alguns objetivos do desenvolvimento sustentável (ODS) da Organização das Nações Unidas (ONU), especialmente o ODS 7 (energia limpa e acessível), ODS 13 (ação contra a mudança global do clima), ODS 12 (consumo e produção responsáveis) e ODS 11 (cidades e comunidades sustentáveis).

Em função de direitos de exclusividade cedidos às revistas, este documento apresenta somente informações gerais sobre os artigos desenvolvidos no contexto desta dissertação. O Capítulo I contempla um artigo de revisão sobre técnicas tradicionais aplicadas à colheita microalgas, mas com ênfase à biofloculação, especialmente mediada por fungos. O Capítulo II reporta a produção de biomassa fúngica e enzimas amilolíticas via fermentação submersa, utilizando dois subprodutos agroindústrias como substrato. O Capítulo III contém um artigo experimental sobre a utilização de biomassa fúngica do fungo *Aspergillus niger* como agente biofloculante de cultivos de *Spirulina platensis*. O Capítulo IV aborda um estudo sobre aumento de escala da biofloculação entre *Spirulina platensis* e *Aspergillus niger*, além de um ensaio de sacarificação e fermentação alcoólica para aplicação da biomassa biofloculada.

1.1 REFERÊNCIAS

Abdulkareem-Alsultan, G., Asikin-Mijan, N., Lee, H. V., & Taufiq-Yap, Y. H. (2020). Biofuels: Past, Present, Future. In *Innovations in Sustainable Energy and Cleaner Environment* (pp. 489-504). Springer, Singapore.

Acheampong, M., Ertem, F. C., Kappler, B., & Neubauer, P. (2017). In pursuit of Sustainable Development Goal (SDG) number 7: Will biofuels be reliable?. *Renewable and sustainable energy reviews*, 75, 927-937.

Adejuwon, A. O., Tsygankova, V. A., & Obayemi, O. S. (2019). α -Amylase Production Using *Aspergillus vadensis* Isolated From Pulverized Cocoa Seeds. *Life Science Journal*, 16(8).

Alam, M. A., Vandamme, D., Chun, W., Zhao, X., Foubert, I., Wang, Z., & Yuan, Z. (2016). Biofloculation as an innovative harvesting strategy for microalgae. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 15(4), 573-583.

Anthony, R. J., Ellis, J. T., Sathish, A., Rahman, A., Miller, C. D., & Sims, R. C. (2013). Effect of coagulant/flocculants on bioproducts from microalgae. *Bioresource technology*, 149, 65-70.

Barros, A. I., Gonçalves, A. L., Simões, M., & Pires, J. C. (2015). Harvesting techniques applied to microalgae: a review. *Renewable and sustainable energy reviews*, 41, 1489-1500.

Basu, S., Roy, A. S., Mohanty, K., & Ghoshal, A. K. (2014). CO₂ biofixation and carbonic anhydrase activity in *Scenedesmus obliquus* SA1 cultivated in large scale open system. *Bioresource technology*, 164, 323-330.

Bhattacharya, A., Mathur, M., Kumar, P., Prajapati, S. K., & Malik, A. (2017). A rapid method for fungal assisted algal flocculation: critical parameters & mechanism insights. *Algal research*, 21, 42-51.

Bruckberger, M. C., Morgan, M. J., Walsh, T., Bastow, T. P., Prommer, H., Mukhopadhyay, A., ... & Puzon, G. J. (2019). Biodegradability of legacy crude oil contamination in Gulf War damaged groundwater wells in Northern Kuwait. *Biodegradation*, 30(1), 71-85.

Chatsungnoen, T., & Chisti, Y. (2016). Harvesting microalgae by flocculation–sedimentation. *Algal Research*, 13, 271-283.

Chen, J., Leng, L., Ye, C., Lu, Q., Addy, M., Wang, J., Liu, J., Chen, P., Ruan, R., & Zhou, W. (2018a). A comparative study between fungal pellet-and spore-assisted microalgae harvesting methods for algae bioflocculation. *Bioresource technology*, 259, 181-190.

Colla, L. M., Kreling, N.E., Nazari, M.T., Manfredini, P., Machado, T.S., Costa, J. A. V., Scapini, T., Camargo, A. F., Preczeski, K. P., Stefanski, F. S., Cavalcante, B. D. M., Fongaro, G., & Treichel, H. Use and Applications of *Aspergillus niger* for the Development of Enzymes and Products of Biotechnological Interest. In: *Aspergillus niger: Pathogenicity, Cultivation and Uses*. Nova Science Publishers, 2020.

Costa, J. A. V., de Freitas, B. C. B., Lisboa, C. R., Santos, T. D., de Fraga Bruschi, L. R., & de Moraes, M. G. (2019). Microalgal biorefinery from CO₂ and the effects under the Blue Economy. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 99, 58-65.

De Souza, M. P., Hoeltz, M., Gressler, P. D., Benitez, L. B., & Schneider, R. C. (2019). Potential of microalgal bioproducts: general perspectives and main challenges. *Waste and Biomass Valorization*, 10(8), 2139-2156.

Escobar, J. C., Lora, E. S., Venturini, O. J., Yáñez, E. E., Castillo, E. F., & Almazan, O. (2009). Biofuels: environment, technology and food security. *Renewable and sustainable energy reviews*, 13(6-7), 1275-1287.

Gautam, P., Kumar, S., & Lokhandwala, S. (2019). Energy-aware intelligence in megacities. In *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering* (pp. 211-238). Elsevier.

González-Fernández, C., Sialve, B., Bernet, N., & Steyer, J. P. (2012). Impact of microalgae characteristics on their conversion to biofuel. Part II: Focus on biomethane production. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 6(2), 205-218.

- Grima, E. M., Belarbi, E. H., Fernández, F. A., Medina, A. R., & Chisti, Y. (2003). Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics. *Biotechnology advances*, 20(7-8), 491-515.
- Grist, M. (2016). Environmental Management and Technology in Oil Refineries. In *Environmental Technology in the Oil Industry* (pp. 375-392). Springer, Cham.
- Gultom, S. O., & Hu, B. (2013). Review of microalgae harvesting via co-pelletization with filamentous fungus. *Energies*, 6(11), 5921-5939.
- Haroni, N. N., Badehian, Z., Zarafshar, M., & Bazot, S. (2019). The effect of oil sludge contamination on morphological and physiological characteristics of some tree species. *Ecotoxicology*, 28(5), 507-519.
- Höök, M., & Tang, X. (2013). Depletion of fossil fuels and anthropogenic climate change—A review. *Energy policy*, 52, 797-809.
- Hsu, C. S., & Robinson, P. R. (2019). Petroleum System and Occurrence. In *Petroleum Science and Technology* (pp. 67-82). Springer, Cham.
- Iheonye, C., Osuji, L. C., & Onyema, M. O. (2019). Petroleum contamination of Sombreiro River in Akuku-Toru Local Government Area Rivers State, Nigeria, revealed by Chemical Fingerprinting of Aliphatic Hydrocarbons. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 23(5), 805-809.
- Ishika, T., Moheimani, N. R., & Bahri, P. A. (2017). Sustainable saline microalgae co-cultivation for biofuel production: a critical review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 78, 356-368.
- Ishika, T., Bahri, P. A., Laird, D. W., & Moheimani, N. R. (2018). The effect of gradual increase in salinity on the biomass productivity and biochemical composition of several marine, halotolerant, and halophilic microalgae. *Journal of Applied Phycology*, 30(3), 1453-1464.
- Konieczny, M., & Krzyśko-Łupicka, T. (2019). The influence of stimulation techniques on the microbiological changes and n-alkane transitions in the soil contaminated of petroleum-derived substances. *Water, Air, & Soil Pollution*, 230(4), 81.
- Liu, C., Hao, Y., Jiang, J., & Liu, W. (2017). Valorization of untreated rice bran towards bioflocculant using a lignocellulose-degrading strain and its use in microalgal biomass harvest. *Biotechnology for biofuels*, 10(1), 90.
- Luo, S., Wu, X., Jiang, H., Yu, M., Liu, Y., Min, A., ... & Ruan, R. (2019). Edible fungi-assisted harvesting system for efficient microalgae bio-flocculation. *Bioresource technology*, 282, 325-330.
- Mahmood, S., Shahid, M. G., Nadeem, M., Irfan, M., & Syed, Q. (2016). Production and optimization of α -amylase from *Aspergillus niger* using potato peel as substrate. *Pak. J. Biotechnol*, 13(2), 101-109.

- Martin, M. F., Okpo, E. A., & Andy, I. E. (2019). Microbial amylases: A review. *World News of Natural Sciences. An International Scientific Journal*, 22.
- Mata, T. M., Martins, A. A., & Caetano, N. S. (2010). Microalgae for biodiesel production and other applications: a review. *Renewable and sustainable energy reviews*, 14(1), 217-232.
- Matamoros, V., Uggetti, E., García, J., & Bayona, J. M. (2016). Assessment of the mechanisms involved in the removal of emerging contaminants by microalgae from wastewater: a laboratory scale study. *Journal of hazardous materials*, 301, 197-205.
- Nazari, M. T., Freitag, J. F., Cavanhi, V. A. F., & Colla, L. M. (2020). Microalgae harvesting by fungal-assisted bioflocculation. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 19, 369-388.
- Ndikubwimana, T., Zeng, X., Liu, Y., Chang, J. S., & Lu, Y. (2014). Harvesting of microalgae *Desmodesmus* sp. F51 by bioflocculation with bacterial bioflocculant. *Algal Research*, 6, 186-193.
- Netravali, A. N., & Chabba, S. (2003). Composites get greener. *Materials today*, 4(6), 22-29.
- Nguyen, T. D. P., Le, T. V. A., Show, P. L., Nguyen, T. T., Tran, M. H., Tran, T. N. T., & Lee, S. Y. (2019). Bioflocculation formation of microalgae-bacteria in enhancing microalgae harvesting and nutrient removal from wastewater effluent. *Bioresource technology*, 272, 34-39.
- Nizami, A. S., Rehan, M., Waqas, M., Naqvi, M., Ouda, O. K., Shahzad, K., ... & Pant, D. (2017). Waste biorefineries: enabling circular economies in developing countries. *Bioresource technology*, 241, 1101-1117.
- Pancha, I., Chokshi, K., & Mishra, S. (2019). Industrial wastewater-based microalgal biorefinery: a dual strategy to remediate waste and produce microalgal bioproducts. In *Application of Microalgae in Wastewater Treatment* (pp. 173-193). Springer, Cham.
- Papanikolaou, A. (2016). Tanker design and safety: historical developments and future trends. In *Environmental technology in the oil industry* (pp. 285-320). Springer, Cham.
- Rao, D. M., Swamy, A. V. N., & SivaRamaKrishna, G. (2007). Bioprocess technology strategies, production and purification of amylases: An overview. *The Internet Journal of Genomics and Proteomics*, 2(2), 30-34.
- Rashid, N., Park, W. K., & Selvaratnam, T. (2018). Binary culture of microalgae as an integrated approach for enhanced biomass and metabolites productivity, wastewater treatment, and bioflocculation. *Chemosphere*, 194, 67-75.
- Reinehr, C. O., & Costa, J. A. V. (2006). Repeated batch cultivation of the microalga *Spirulina platensis*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22(9), 937-943.
- Rempel, A., de Souza Sossella, F., Margarites, A. C., Astolfi, A. L., Steinmetz, R. L. R., Kunz, A., Treichel, H. & Colla, L. M. (2019). Bioethanol from *Spirulina platensis* biomass and the use of residuals to produce biomethane: an energy efficient approach. *Bioresource technology*, 288, 121588.

- Ruan, R., Zhang, Y., Chen, P., Liu, S., Fan, L., Zhou, N., ... & Anderson, E. (2019). Biofuels: introduction. In *Biofuels: Alternative feedstocks and conversion processes for the production of liquid and gaseous biofuels* (pp. 3-43). Academic Press.
- Şahin, Ü. A., Onat, B., & Ayvaz, C. (2019). Climate Change and Greenhouse Gases in Turkey. In *Recycling and Reuse Approaches for Better Sustainability* (pp. 201-214). Springer, Cham.
- Salla, A. C. V., Margarites, A. C., Seibel, F. I., Holz, L. C., Brião, V. B., Bertolin, T. E., Colla, L. M. & Costa, J. A. V. (2016). Increase in the carbohydrate content of the microalgae *Spirulina* in culture by nutrient starvation and the addition of residues of whey protein concentrate. *Bioresource technology*, 209, 133-141.
- Salim, S., Bosma, R., Vermuë, M. H., & Wijffels, R. H. (2011). Harvesting of microalgae by bio-flocculation. *Journal of applied phycology*, 23(5), 849-855.
- Shukla, J., & Kar, R. (2006). Potato peel as a solid state substrate for thermostable α -amylase production by thermophilic *Bacillus* isolates. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22(5), 417-422.
- Singh, J., & Gu, S. (2010). Commercialization potential of microalgae for biofuels production. *Renewable and sustainable energy reviews*, 14(9), 2596-2610.
- Ummalyma, S. B., Gnansounou, E., Sukumaran, R. K., Sindhu, R., Pandey, A., & Sahoo, D. (2017). Bioflocculation: an alternative strategy for harvesting of microalgae—an overview. *Bioresource technology*, 242, 227-235.
- Vanthoor-Koopmans, M., Wijffels, R. H., Barbosa, M. J., & Eppink, M. H. (2013). Biorefinery of microalgae for food and fuel. *Bioresource technology*, 135, 142-149.
- Yu, X., Chen, L., & Zhang, W. (2015). Chemicals to enhance microalgal growth and accumulation of high-value bioproducts. *Frontiers in microbiology*, 6, 56.
- Xie, S., Sun, S., Dai, S. Y., & Yuan, J. S. (2013). Efficient coagulation of microalgae in cultures with filamentous fungi. *Algal Research*, 2(1), 28-33.
- Xiong, J. Q., Kurade, M. B., & Jeon, B. H. (2018). Can microalgae remove pharmaceutical contaminants from water?. *Trends in biotechnology*, 36(1), 30-44.
- Zabed, H. M., Akter, S., Yun, J., Zhang, G., Awad, F. N., Qi, X., & Sahu, J. N. (2019). Recent advances in biological pretreatment of microalgae and lignocellulosic biomass for biofuel production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 105, 105-128.
- Zhou, W., Cheng, Y., Li, Y., Wan, Y., Liu, Y., Lin, X., & Ruan, R. (2012). Novel fungal pelletization-assisted technology for algae harvesting and wastewater treatment. *Applied biochemistry and biotechnology*, 167(2), 214-228.
- Zhou, W., Min, M., Hu, B., Ma, X., Liu, Y., Wang, Q., ... & Ruan, R. (2013). Filamentous fungi assisted bio-flocculation: a novel alternative technique for harvesting heterotrophic and autotrophic microalgal cells. *Separation and Purification Technology*, 107, 158-16

2 CAPÍTULO I

O Capítulo I refere-se a um artigo de revisão, intitulado **“Microalgae harvesting by fungal-assisted bioflocculation”** (<https://doi.org/10.1007/s11157-020-09528-y>). Esse trabalho foi publicado na revista “Reviews in Environmental Science and Bio/Technology”, a qual possui Qualis A1 (Engenharias I) e Fator de Impacto de 4,957.

3 CAPÍTULO II

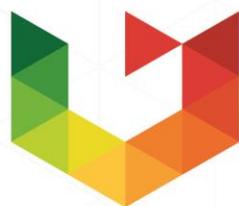
O Capítulo II aborda um artigo de experimental, intitulado **“Simultaneous production of fungal biomass and amyolytic enzymes under submerged fermentation using agro-industrial by-products”**. Originalmente, um resumo desse trabalho foi submetido e apresentado no “e-Latin Food 2020 Congress”, sendo selecionado para publicação em formato completo na “Revista Internacional de Investigación e Innovación Tecnológica”, com atual status de revisão.

4 CAPÍTULO III

O Capítulo III trata de outro artigo de experimental, intitulado **“Harvesting of *Spirulina platensis* using an eco-friendly fungal bioflocculant produced from agro-industrial byproduct”** (<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124525>). Esse trabalho foi publicado na revista “Bioresource Technology”, a qual possui Qualis A1 (Engenharias I) e Fator de Impacto de 7,539.

5 CAPÍTULO IV

O Capítulo IV é um estudo sobre aumento de escala da biofloculação entre *Spirulina platensis* e *Aspergillus niger*, além de um ensaio de sacarificação e fermentação alcohólica para aplicação da biomassa biofloculada resultante. No momento, esse trabalho está em fase de finalização.



UPF

UNIVERSIDADE
DE PASSO FUNDO

UPF Campus I - BR 285, São José
Passo Fundo - RS - CEP: 99052-900
(54) 3316 7000 - www.upf.br