

# UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS

# DESENVOLVIMENTO DE TECNOLOGIA INOVADORA COM NANOFIBRAS POLIMÉRICAS PARA BIOFIXAÇÃO DE CO2 EM CULTIVO MICROALGAL

Ma. BRUNA DA SILVA VAZ Engenheira de Alimentos

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. MICHELE GREQUE DE MORAIS

Orientadora

RIO GRANDE, RS

2019

# UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS

# DESENVOLVIMENTO DE TECNOLOGIA INOVADORA COM NANOFIBRAS POLIMÉRICAS PARA BIOFIXAÇÃO DE CO<sub>2</sub> EM CULTIVO MICROALGAL

# Ma. BRUNA DA SILVA VAZ Engenheira de Alimentos

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Engenharia e Ciência de Alimentos

## Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. MICHELE GREQUE DE MORAIS

Orientadora

# RIO GRANDE, RS

2019

## Ficha catalográfica

V393d Vaz, Bruna da Silva. Desenvolvimento de tecnologia inovadora com nanofibras poliméricas para biofixação de CO<sub>2</sub> em cultivo microalgal / Bruna da Silva Vaz. – 2019. 159 f.
Tese (doutorado) – Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Rio Grande/RS, 2019. Orientadora: Dra. Michele Greque de Morais.
1. Adsorvente Físico 2. Biofixação 3. *Chlorella Fusca* LEB 111
4. Dióxido de Carbono 5. *Electrospinning* 6. Nanotecnologia I. Morais, Michele Greque de II. Título.

Catalogação na Fonte: Bibliotecário José Paulo dos Santos CRB 10/2344

## APROVAÇÃO

Tese defendida por Bruna da Silva Vaz aprovada em 22 de março de 2019, pela Comissão Examinadora constituída pelos membros:

hichili ais Profa. Dra. Michele Greque de Morais - FURG

Prof. Dr. Jorge Alberto Vieira Costa - FURG

Tuliana Botelho Mourg Dra. Juliana Botelho Moreira - FURG

Profa. Dra. Michele da Rosa Andrade Zimmermann de Souza - FURG

Prof. Dr. Paulo Fernando Marques Duarte Filho - UNIPAMPA

Dedico este trabalho aos meus pais e ao meu namorado por todo amor, compreensão e apoio em todos os momentos da minha vida.

## AGRADECIMENTOS

## À Deus,

Por guiar meus passos e iluminar o meu caminho, me amparando nos momentos de dificuldades e me dando forças para superá-los e alcançar meus objetivos.

#### Aos meus pais Jaqueline da Silva Vaz e Wanderni Lemos Vaz,

pelo amor incondicional, pelos princípios, valores e educação que me transferiram que permitiram que eu chegasse até aqui. Amo vocês!

#### Ao meu namorado Diego de Borba Nascimento,

pela amizade, amor, carinho, companheirismo e compreensão. Obrigada por todo incentivo e por sempre estar ao meu lado. Te amo muito!

#### A minha prima Jéssica Vaz,

por todo carinho e atenção com meus pais, e por sempre estar presente com eles na minha ausência.

#### Aos meus amigos(as), afilhados(as) e irmãs na fé (Aldeia),

pela amizade, carinho e apoio em todas as vezes que precisei, e pelas palavras de estímulo e orações. Vocês são muito importantes na minha vida e têm um lugar muito especial no meu coração.

#### À minha querida orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Michele Greque de Morais,

por ter me proporcionado os primeiros passos nesta trajetória desde a graduação, pela confiança, oportunidades, ensinamentos, conselhos, dedicação, carinho e amizade. Tenho enorme carinho por ti e te admiro como profissional e pela pessoa maravilhosa que és.

#### Aos colegas do MIBI e do LEB,

em especial a Etiele, Juliana, Ana Luiza, Letícia, Suelen, Jéssica Duarte, Kricelle, Camila, Jéssica Teixeira e Raphael pelas amizades, por todo apoio e ajuda, e pelos momentos de alegria que me proporcionaram.

## À minha amiga Tabita Veiga,

pela convivência, amizade e por ser uma excelente companheira de apê.

Ao Prof. Dr. Luiz Antonio de Almeida Pinto e a Pós-Doc Janaína Gonçalves, pelas contribuições com o trabalho.

## À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Elessandra da Rosa Zavareze e ao Prof. Dr. Alvaro Guerra Dias,

pela disponibilidade para utilização do laboratório no Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial da UFPEL e pelo empréstimo da fonte de *electrospinning*.

## A iniciante científica Duna Mastrantonio,

pela competência, dedicação e responsabilidade na realização do trabalho.

## Aos Técnicos do Centro de Microscopia Elêtronica da Zona Sul Caroline e Rudmar,

por sempre que precisei disponibilizaram a utilização dos equipamentos e pelos momentos de descontração.

## Aos técnicos Roque Zílio e Adriano Arruda,

pela disposição e ajuda na solução de problemas.

## À Universidade Federal do Rio Grande e Programa de Pós-Graduação,

pelo ensino de qualidade, pela estrutura e recursos disponibilizados.

#### Aos membros da Banca Examinadora,

Pela disponibilidade e contribuições valiosas para melhoria do trabalho.

## À CAPES,

pelo apoio financeiro.

## As pessoas que contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho,

gostaria de agradecer a todos que diretamente ou indiretamente contribuíram para esta conquista.

Muito obrigada!

"Fazer o que você gosta é Liberdade. Gostar do que você faz é Felicidade."

Frank Tyger

## LISTA DE TABELAS

## CAPÍTULO II

**Tabela 1 -** Principais diferenças entre fisiossorção e quimiossorção.45

## **CAPÍTULO III**

## ARTIGO 1 - TECNOLOGIA INOVADORA DE NANOFIBRA PARA MELHORAR A BIOFIXAÇÃO DE DIÓXIDO DE CARBONO NO CULTIVO DE MICROALGAS

ARTIGO 2 - CULTIVO DE ALGAS VERDES COM NANOFIBRAS COMO ADSORVENTE FÍSICO DE CO<sub>2</sub>: AVALIAÇÃO DA BIOFIXAÇÃO DO GÁS E PRODUÇÃO DE MACROMOLÉCULAS

ARTIGO 3 - FIXAÇÃO FÍSICA E BIOLÓGICA DE CO<sub>2</sub> COM NANOFIBRAS POLIMÉRICAS EM CULTIVOS OUTDOOR DE *Chlorella fusca* LEB 111

## LISTA DE FIGURAS

## CAPÍTULO II

Figura 1 - Cultivos de microalgas em fotobiorreatores abertos e fechados	35
Figura 2 - Esquema da fotossíntese: fixação de CO2 e acúmulo de carbono nas	s células das
microalgas	
Figura 3 - Microscopia Eletrônica de Varredura de nanofibras desenvolvidas	utilizando a
técnica de <i>electrospinning</i>	
Figura 4 - Desenho esquemático da técnica de <i>electrospinning</i>	
Figura 5 - Esquema de <i>electrospinning</i> com múltiplas agulhas	40
Figura 6 - Etapas da cinética de adsorção	47
Figura 7 - Principais tipos característicos de Isotermas de adsorção	49

## **CAPÍTULO III**

## ARTIGO 1 - TECNOLOGIA INOVADORA DE NANOFIBRA PARA MELHORAR A BIOFIXAÇÃO DE DIÓXIDO DE CARBONO NO CULTIVO DE MICROALGAS

Figura 1 - Nanopartículas de Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (a) e nanofibras com 10% PAN/DMF contendo Figura 2 - Curvas de distribuição do tamanho dos poros das nanofibras com diferentes concentrações de NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (a) e isotermas de adsorção e dessorção de N<sub>2</sub> das nanofibras com diferentes concentrações de NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (b) ( $\Delta$  - 10% PAN/DMF;  $\circ$  - 10% PAN/DMF + 2% Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>; ◊ - 10% PAN/DMF + 4% Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>; ∇ -10% PAN/DMF + 6% Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>; ▷ - 10% PAN/DMF Figura 3 - Espectros de FTIR das nanofibras 10% PAN/DMF contendo (a) sem NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, (b) 10% NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, (c) 8% NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, (d) 6% NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, (e) 4% NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, (f) 2% NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>....70 Figura 4 - Capacidade de adsorção das nanofibras 10% PAN/DMF (q, mg g<sup>-1</sup>) com diferentes Figura 5 - Cinética da capacidade de adsorção (q) de CO<sub>2</sub> em nanofibras com 4% de NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> **Figura 6** - Isotermas de adsorção de CO<sub>2</sub> em nanofibras com 4% de NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (T= 20°C, C<sub>0</sub> $\cong$ 0-570 mg/L, m=50 mg, qe: capacidade de adsorção no equilíbrio, Ce: concentração de CO2 no Figura 7 - Perfil do pH em função do tempo de cultivo de *Chlorella fusca* LEB 111 (°) com 

ARTIGO 2 - CULTIVO DE ALGAS VERDES COM NANOFIBRAS COMO ADSORVENTE FÍSICO DE CO<sub>2</sub>: AVALIAÇÃO DA BIOFIXAÇÃO DO GÁS E PRODUÇÃO DE MACROMOLÉCULAS

 ARTIGO 3 - FIXAÇÃO FÍSICA E BIOLÓGICA DE CO<sub>2</sub> COM NANOFIBRAS POLIMÉRICAS EM CULTIVOS OUTDOOR DE *Chlorella fusca* LEB 111

## **CAPÍTULO V**

Figura A1 - Nanofibras co	m 5% (m v <sup>-1</sup> )	de PA	AN/ DMF.					.159
Figura A2 - Nanofibras	poliméricas	10%	(m v <sup>-1</sup> )	de PAN/D	MF com	4%	(m v <sup>-1</sup>	) de
NPsFe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>						•••••		159
Figura A3 - Nanofibras cultivos	poliméricas	com	biomassa	microalga	l adsorvi	da ao	final	dos .159

CAPÍTULO I	.17
RESUMO GERAL	.19
ABSTRACT	.21
1 INTRODUÇÃO GERAL	.23
2 OBJETIVOS	.25
2.1 OBJETIVO GERAL	.25
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	.25
CAPÍTULO II	.27
3 REVISÃO DA LITERATURA	.29
3.1 MICROALGAS	.29
3.2 SISTEMAS E CONDIÇÕES DE CULTIVO PARA MICROALGAS	.31
3.2.1 Nutrientes	.31
3.2.2 Temperatura, Luminosidade e pH	.32
3.2.3 Fotobiorreatores	.34
3.3 FOTOSSÍNTESE E BIOFIXAÇÃO DE CO <sub>2</sub>	.35
3.4 NANOFIBRAS POLIMÉRICAS	.37
3.4.1 Parâmetros que afetam a produção de nanofibras por electrospinning	.40
3.4.1.1 Parâmetros da solução	.40
3.4.1.2 Parâmetros do processo	.42
3.4.1.3 Parâmetros ambientais	.43
3.5 TECNOLOGIA DE ADSORÇÃO	.44
3.5.1 Cinética de adsorção	.46
3.5.2 Isotermas de equilíbrio	.48
3.6 HISTÓRICO DA LINHA DE PESQUISA	.50
CAPÍTULO III	.53
DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO	.55
ARTIGO 1 - TECNOLOGIA INOVADORA DE NANOFIRRA PARA MELHORAR	2 4
RIOFIXAÇÃO DE DIÓXIDO DE CARBONO NO CULTIVO DE MICROALGAS	57
RESUMO	50
1 INTRODUCÃO	61
2 MATERIAL E MÉTODOS	62
2 1 MATERIAIS E PREPARO DAS SOL LICÕES POLIMÉRICAS	, <b>0</b> 2
2.2 PRODUCÃO DE NANOFIRRAS POLIMÉRICAS POR $FLECTROSPINNING$	62
2.2  reduction de maintendre reduction de maintend	.02
2.5 CARACTERIZAÇÃO DAS MAROTIDIAS	.02 62
2.3.2 Análises térmicas	63
2.3.2 Caracterização estrutural	63
2.3.5 Caracterização estrutural	63
2.3.4 Caracterização textural	63
2.5 MICRO-ORGANISMO MEIO DE CUI TIVO E CONDIÇÕES DE CUI TIVO	.05 64
2.5 MICRO-ORGANISMO, MEIO DE COLTIVO E CONDIÇÕES DE COLTIVO 2.6 DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS PARÂMETROS DE CRESCIMENTO	-0. F
$BIOFIX \Delta C \tilde{\Delta} O DF C O_{2}$	65
2.7  ANAI ISF FSTATISTICA	66
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	.00
4  CONCLUSÃO	78
5 REFERÊNCIAS BIRI IOCRÁFICAS	78
5 KEI EKEIVLAS DIDLIVUKAFIVAS	0

# SUMÁRIO

ADGODVENTE EÍGICO DE CO AVALLAÇÃO DA DIOENVAÇÃO DO	COMO
ADSORVENTE FISICO DE CO2: AVALIAÇÃO DA BIOFIXAÇÃO DO	GÁS E
PRODUÇÃO DE MACROMOLÉCULAS	
RESUMO	
1 INTRODUÇÃO	
2 MATERIAL E MÉTODOS	
2.1 MICRO-ORGANISMO E MEIO DE CULTIVO	
2.2 ADSORVENTE FÍSICO	
2.3 CONDIÇÕES DE CULTIVO	
2.4 DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS	
2.4.1 Concentração de biomassa	
2.4.2 pH, alcalinidade e carbono inorgânico dissolvido (CID)	
2.5 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS DE CRESCIMENTO	
2.6 TAXA DE BIOFIXAÇÃO DE CO <sub>2</sub>	
2.7 COLHEITA DA BIOMASSA	
2.8 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL	
2.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA	
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	
3.1 ESTUDO DA ADIÇÃO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE NANO	FIBRAS
ADSORVEDORAS DE CO2 LIVRES OU RETIDAS NO MEIO DURANTE 5 DL	AS 93
3.2 EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE NANOFIBRAS NO CULTIVO DE C. fu	ısca LEB
111 POR 15 DIAS	
4 CONCLUSÃO	103
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	103
5 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	103
5 REFERÈNCIAS BIBLIOGRÀFICAS	103 FIBRAS
5 REFERÈNCIAS BIBLIOGRÀFICAS ARTIGO 3 - FIXAÇÃO FÍSICA E BIOLÓGICA DE CO <sub>2</sub> COM NANO POLIMÉRICAS EM CULTIVOS OUTDOOR DE <i>Chlorella fusca</i> LEB 111	103 FIBRAS 109
5 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	103 FIBRAS 109 111
5 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS ARTIGO 3 - FIXAÇÃO FÍSICA E BIOLÓGICA DE CO <sub>2</sub> COM NANO POLIMÉRICAS EM CULTIVOS OUTDOOR DE <i>Chlorella fusca</i> LEB 111 RESUMO	FIBRAS 109 111 113
5 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	FIBRAS FIBRAS 109 111 113 114
<ul> <li>5 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</li> <li>ARTIGO 3 - FIXAÇÃO FÍSICA E BIOLÓGICA DE CO2 COM NANO POLIMÉRICAS EM CULTIVOS OUTDOOR DE Chlorella fusca LEB 111</li> <li>RESUMO</li> <li>1 INTRODUÇÃO</li></ul>	<b>FIBRAS</b> <b> 109</b> <b> 111</b> <b> 113</b> <b> 114</b> .O 114
<ul> <li>5 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS</li> <li>ARTIGO 3 - FIXAÇÃO FÍSICA E BIOLÓGICA DE CO2 COM NANO POLIMÉRICAS EM CULTIVOS OUTDOOR DE Chlorella fusca LEB 111</li> <li>RESUMO</li> <li>1 INTRODUÇÃO</li></ul>	<b>FIBRAS</b> <b>FIBRAS</b> <b>109</b> <b>111</b> <b>113</b> <b>114</b> .O 114 .O 114
<ul> <li>5 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</li> <li>ARTIGO 3 - FIXAÇÃO FÍSICA E BIOLÓGICA DE CO2 COM NANO POLIMÉRICAS EM CULTIVOS OUTDOOR DE Chlorella fusca LEB 111</li> <li>RESUMO</li> <li>1 INTRODUÇÃO</li></ul>	<b>FIBRAS FIBRAS 109 111 113 114 .</b> O 114 <b>.</b> O 114 <b>.</b> 115 <b>.</b> 116
<ul> <li>5 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</li> <li>ARTIGO 3 - FIXAÇÃO FÍSICA E BIOLÓGICA DE CO2 COM NANO POLIMÉRICAS EM CULTIVOS OUTDOOR DE Chlorella fusca LEB 111</li> <li>RESUMO</li> <li>1 INTRODUÇÃO</li></ul>	<b>FIBRAS FIBRAS 109 111 113 114 .</b> O 114 <b>.</b> O 114 <b>.</b> I15 <b>.</b> I16 <b>.</b> I17
<ul> <li>5 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS</li> <li>ARTIGO 3 - FIXAÇÃO FÍSICA E BIOLÓGICA DE CO2 COM NANO POLIMÉRICAS EM CULTIVOS OUTDOOR DE Chlorella fusca LEB 111</li> <li>RESUMO</li> <li>1 INTRODUÇÃO</li></ul>	<b>FIBRAS FIBRAS 109 111 113 114 .</b> O 114 <b>.</b> O 114 <b>.</b> O 115 <b>.</b> 116 <b>.</b> 117 <b>.</b> 117
<ul> <li>5 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</li> <li>ARTIGO 3 - FIXAÇÃO FÍSICA E BIOLÓGICA DE CO2 COM NANO POLIMÉRICAS EM CULTIVOS OUTDOOR DE Chlorella fusca LEB 111</li> <li>RESUMO</li> <li>1 INTRODUÇÃO</li></ul>	<b>FIBRAS FIBRAS 109 111 113 114 .</b> O 114 <b>.</b> O 114 <b>.</b> O 114 <b>.</b> O 117 <b>.</b> 116 <b>.</b> 117 <b>.</b> 118
<ul> <li>5 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS</li> <li>ARTIGO 3 - FIXAÇÃO FÍSICA E BIOLÓGICA DE CO2 COM NANO POLIMÉRICAS EM CULTIVOS OUTDOOR DE Chlorella fusca LEB 111</li> <li>RESUMO</li> <li>1 INTRODUÇÃO</li></ul>	<b>FIBRAS FIBRAS 109 111 113 114 .</b> O 114 <b>.</b> O 114 <b>.</b> O 114 <b>.</b> O 117 <b>.</b> 116 <b>.</b> 117 <b>.</b> 118 <b>. 118</b>
5 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS ARTIGO 3 - FIXAÇÃO FÍSICA E BIOLÓGICA DE CO2 COM NANO POLIMÉRICAS EM CULTIVOS OUTDOOR DE Chlorella fusca LEB 111 RESUMO 1 INTRODUÇÃO	FIBRAS         109         111         113         114         .0       114         .0       114         .0       114         .0       114         .0       114         .0       114         .0       114         .0       114         .0       114         .0       114         .0       114         .0       114         .0       114         .0       115         .116       117         .118       118
5 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS ARTIGO 3 - FIXAÇÃO FÍSICA E BIOLÓGICA DE CO2 COM NANO POLIMÉRICAS EM CULTIVOS OUTDOOR DE Chlorella fusca LEB 111 RESUMO 1 INTRODUÇÃO 2 MATERIAL E MÉTODOS	FIBRAS         109         111         113         114
5 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS ARTIGO 3 - FIXAÇÃO FÍSICA E BIOLÓGICA DE CO2 COM NANO POLIMÉRICAS EM CULTIVOS OUTDOOR DE Chlorella fusca LEB 111 RESUMO	<b>FIBRAS 109 111 113 114</b> .0       114         .0       114         .0       114         .0       114         .0       114         .0       114         .0       114         .0       114         .0       114         .0       114         .0       114         .0       114         .0       114         .0       114         .0       114         .0       114         .0       114         .0       117         .118       129
5 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS ARTIGO 3 - FIXAÇÃO FÍSICA E BIOLÓGICA DE CO2 COM NANO POLIMÉRICAS EM CULTIVOS OUTDOOR DE Chlorella fusca LEB 111 RESUMO 1 INTRODUÇÃO	FIBRAS         109         111         113         114
5 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS ARTIGO 3 - FIXAÇÃO FÍSICA E BIOLÓGICA DE CO2 COM NANO POLIMÉRICAS EM CULTIVOS OUTDOOR DE Chlorella fusca LEB 111 RESUMO 1 INTRODUÇÃO	103         FIBRAS         109         111         113         114
5 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS ARTIGO 3 - FIXAÇÃO FÍSICA E BIOLÓGICA DE CO2 COM NANO POLIMÉRICAS EM CULTIVOS OUTDOOR DE Chlorella fusca LEB 111 RESUMO	103         FIBRAS         109         111         113         114         .0         .0         .114         .0         .115         .116         .117         .118         .129         .129         .135         .137         130
5 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS ARTIGO 3 - FIXAÇÃO FÍSICA E BIOLÓGICA DE CO2 COM NANO POLIMÉRICAS EM CULTIVOS OUTDOOR DE Chlorella fusca LEB 111 RESUMO	103         FIBRAS         109         111         113         114
5 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS ARTIGO 3 - FIXAÇÃO FÍSICA E BIOLÓGICA DE CO2 COM NANO POLIMÉRICAS EM CULTIVOS OUTDOOR DE Chlorella fusca LEB 111 RESUMO	103         FIBRAS         109         111         113         114         .0       114         .0       114         .0       114         .0       114         .0       114         .0       114         .0       114         .0       114         .0       114         .0       117         .117       117         .118       129
5 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS ARTIGO 3 - FIXAÇÃO FÍSICA E BIOLÓGICA DE CO2 COM NANO POLIMÉRICAS EM CULTIVOS OUTDOOR DE Chlorella fusca LEB 111 RESUMO 1 INTRODUÇÃO 2 MATERIAL E MÉTODOS. 2.1 MICRO-ORGANISMO, MEIO DE CULTIVO E ADAPTAÇÃO DO INÓCUL 2.2 CONDIÇÕES DE CULTIVO 2.3 DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS 2.4 PARÂMETROS DE CRESCIMENTO E BIOFIXAÇÃO DE CO2 2.5 RECUPERAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA BIOMASSA 2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	103         FIBRAS         109         111         113         114

CAPÍTULO I

#### **RESUMO GERAL**

O dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) é o principal gás do efeito estufa e sua concentração na atmosfera têm aumentado rapidamente desde o início da industrialização. As microalgas têm sido investigadas para biofixação de CO<sub>2</sub> devido a sua capacidade fotossintética que converte o CO<sub>2</sub> em biomassa. Entretanto, no cultivo a transferência do gás deve ser eficiente, pois o  $CO_2$  não dissolvido é perdido. Nanofibras poliméricas podem desempenhar papel importante na captura de CO<sub>2</sub> devido à elevada porosidade e área de superfície, sendo assim capazes de adsorver grande quantidade do gás. Além disso, nanopartículas podem ser incorporadas nestes materiais para aumentar a capacidade de adsorção. Neste contexto, o objetivo desse estudo foi desenvolver tecnologia inovadora a partir de nanofibras poliméricas para aplicação como adsorventes físicos de CO<sub>2</sub>, visando a biofixação do gás no cultivo da microalga Chlorella fusca LEB 111. A técnica de *electrospinning* foi utilizada para produção das nanofibras poliméricas 10% (m v<sup>-1</sup>) de poliacrilonitrila (PAN)/ dimetilformamida (DMF) com diferentes concentrações de nanopartículas de óxido de ferro (NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>): 0, 2, 4, 6, 8, 10% (m v<sup>-1</sup>). As nanofibras foram dispostas nos cultivos na forma livre e retidas em fotobiorreatores erlenmeyers, e os cultivos foram realizados inicialmente por 5 dias para selecionar a melhor condição de cultivo com as nanofibras adsorventes. Esses cultivos, contendo 15% de CO<sub>2</sub> (v v<sup>-1</sup>), foram realizados com 0,5 g L<sup>-1</sup> de nanofibras 10% PAN/DMF; 0,1, 0,3 e 0,5 g L<sup>-1</sup> de nanofibras 10% PAN/DMF com 4% de NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>; 0,5 g L<sup>-1</sup> de nanofibras 10% PAN/DMF com 4% NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, retidas com tela de aco inoxidável; e cultivos com e sem CO<sub>2</sub> na ausência de nanofibras. Os cultivos por 15 dias contendo 15% (v v<sup>-1</sup>) de CO<sub>2</sub> foram realizados com 0, 0,1, 0,3 e 0,5 g L<sup>-1</sup> de nanofibras 10% PAN/ DMF com 4% de NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Cultivos de C. fusca LEB 111 indoor e outdoor foram realizados em fotobiorreatores tubulares verticais por 15 dias, com 15% (v  $v^{-1}$ ) de CO<sub>2</sub> e com as nanofibras 10% PAN/DMF com 4% de NPsFe2O3 adicionadas aos cultivos nas concentrações: 0, 0,1, 0,3 e 0,5 g L<sup>-1</sup>. Nanofibras com 4% (m v<sup>-1</sup>) de NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> foram selecionadas para utilização no cultivo microalgal porque apresentaram diâmetro reduzido (434 nm), alta área de superfície específica (13,8 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>), maior volume de poros na faixa de mesooros  $(0,044 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1})$  e consequente maior capacidade de adsorção de CO<sub>2</sub> (164,2 mg g<sup>-1</sup>), comparando aos cultivos sem nanofibras. Os cultivos com as nanofibras livres apresentaram melhores resultados dos parâmetros cinéticos e de biofixação de CO<sub>2</sub>, em relação aos ensaios com as nanofibras retidas. O cultivo de C. fusca LEB 111 por 15 dias com as nanofibras promoveu aumento do acúmulo de carbono inorgânico no meio (46,6 mg L<sup>-1</sup>), da taxa de biofixação em cerca de 49% (91,7 mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>) e da produção de carboidratos (26,8% m m<sup>-1</sup>), comparado ao cultivo sem adição de nanofibras. As nanofibras poliméricas como adsorventes físicos de CO<sub>2</sub> promoveram maior capacidade de biofixação do gás pela microalga nos cultivos outdoor. No cultivo outdoor de *Chlorella* com 0,3 g L<sup>-1</sup> de nanofibras houve maiores taxa de biofixação de CO<sub>2</sub> e produção de lipídios, com aumento de aproximadamente 27 e 10,9%, respectivamente, maiores que os resultados obtidos no cultivo outdoor sem nanofibras adsorventes. Desta forma, o desenvolvimento da nova tecnologia de nanofibras poliméricas como adsorventes físicos de CO<sub>2</sub> no cultivo de microalgas é alternativa para aumentar a permanência do CO<sub>2</sub> no meio e consequentemente o tempo de contato do micro-organismo e o gás. Assim, as nanoestruturas além de maximizar a fixação do gás, promovem maior síntese de lipídios que podem ser utilizados para obtenção de bioprodutos.

**Palavras-chave:** Adsorvente físico. Biofixação. *Chlorella fusca* LEB 111. Dióxido de carbono. *Electrospinning*. Nanotecnologia.

# Development of innovative technology with polymeric nanofibers for CO<sub>2</sub> biofixation in microalgal cultivation

#### ABSTRACT

Carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) is the main greenhouse gas, and its concentration in the atmosphere has increased rapidly since the beginning of industrialization. The microalgae have been investigated for CO<sub>2</sub> biofixation due to its photoautotrophic capacity that converts CO<sub>2</sub> into biomass. However, in the cultivation the transfer of the gas must be efficient because the undissolved  $CO_2$  is lost. Polymeric nanofibers can act as an important role in the  $CO_2$  capture due to its high porosity and extensive surface area. Thus, they can be able to adsorb large amounts of CO<sub>2</sub> in the cultivation medium. In addition, nanoparticles can be incorporated into these materials to increase the adsorption capacity of the gas In this context, the objective of this study was the development of innovative technology from polymeric nanofibers for application as physical adsorbents of CO<sub>2</sub>, aiming the biofixation of the gas in the cultivation of microalgae Chlorella fusca LEB 111. The electrospinning technique was used for the production of polymeric nanofibers 10% (w  $v^{-1}$ ) polyacrylonitrile (PAN)/ dimethylformamide (DMF) with different concentrations of iron oxide nanoparticles (NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>): 0, 2, 4, 6, 8, 10% (w v<sup>-1</sup>). The nanofibers were dispersed on cultivation in the form free and retained in photobioreactors flasks, and the experiments were performed initially for 5 days to select the best growing condition with the adsorbents nanofibers. This cultivations containing 15% CO<sub>2</sub> (v v<sup>-1</sup>) were performed with 0.5 g L<sup>-1</sup> of nanofibers 10% PAN/ DMF; 0.1, 0.3 and 0.5 g L<sup>-1</sup> of nanofibers 10% PAN/ DMF with 4% NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>; 0.5 g L<sup>-1</sup> of nanofibers 10% PAN/ DMF with 4% NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, immobilized with stainless steel screen; and cultivations with and without CO<sub>2</sub> in the absence of nanofibers. The cultivations for 15 days containing 15% (v  $v^{-1}$ ) of CO<sub>2</sub> were performed with 0.1, 0.3 and 0.5 g L<sup>-1</sup> of nanofibers 10% PAN/ DMF with 4% NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> and without nanofibers. Cultivations of C. fusca LEB 111 indoor and outdoor were carried out in vertical tubular photobioreactors for 15 days, with 15% (v v<sup>-1</sup>) of CO<sub>2</sub> and with 10% of nanofibers PAN/ DMF with 4% NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> added to the cultivations at the concentrations: 0, 0, 0.1, 0.3 and 0.5 g L<sup>-1</sup>. Nanofibers with 4% (w v<sup>-1</sup>) of NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> were selected for use in microalgal cultivation because they presented reduced diameter (434 nm), high specific surface area (13.8 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>), higher pore volume in the mesopore range (0.044 cm<sup>3</sup> g<sup>-1</sup>) and consequent higher  $CO_2$  adsorption capacity (164.2 mg g<sup>-1</sup>). The cultivations with the free nanofibres showed better results of the kinetic parameters and CO<sub>2</sub> biofixation, in relation to the retained nanofiber tests. The cultivation of C. fusca LEB 111 for 15 days with the nanofibers promoted increased of the inorganic carbon accumulation in the medium (46.6 mg  $L^{-1}$ ), of the biofixation rate of about 49% (91.7 mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>) and of the carbohydrate production (26.8% w w<sup>-1</sup>), compared to the cultivation without nanofibers. The polymeric nanofibers as physical adsorbents of CO<sub>2</sub> promoted greater capacity of biofixation of the gas by the microalgae in outdoor cultivation. In the outdoor cultivation of *Chlorella* with 0.3 g  $L^{-1}$ , there were higher CO<sub>2</sub> biofixation rates and lipid production, with an increase of approximately 27 and 10,9%, respectively, higher than the results obtained in the cultivation without adsorbents nanofibers. Thus, the development of new technology of polymeric nanofibers as physical adsorbers of CO<sub>2</sub> in microalgae cultivation is an alternative to increase the permanence of the CO<sub>2</sub> in the medium and consequently the contact time of the microorganism and the gas. Thus, the nanostructures besides maximizing the fixation of the gas, promote greater synthesis of lipids that can be used to obtain bioproducts.

Keywords: Physical Adsorbent. Biofixation. *Chlorella fusca* LEB 111. Carbon dioxide. Electrospinning. Nanofibers.

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

O mundo está enfrentando grandes problemas ambientais em termos do efeito estufa e consequente aquecimento global, principalmente devido à queima do carvão mineral e esgotamento dos recursos naturais. Desse modo, há grande interesse em energia renovável a partir de fontes biológicas (COSTA; MORAIS, 2011). O dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) é o principal gás de efeito estufa e suas concentrações têm aumentado rapidamente desde o início da industrialização. Os níveis de CO<sub>2</sub> acima de 450 ppm na atmosfera terão significativos impactos sobre o nível do mar, padrões climáticos globais e sobrevivência de muitas espécies e organismos (VASUMATHI; PREMALATHA; SUBRAMANIAN, 2012). Em 2013, 36,1 milhões de toneladas de CO<sub>2</sub> foram liberados para a atmosfera a partir de fontes antropogênicas, e prevê-se que até o ano de 2100 este número tende a aumentar para quase 52 milhões de toneladas (BELBUTE; PEREIRA, 2015).

A fixação de CO<sub>2</sub> em materiais adsorventes está se tornando cada vez mais importante no campo da energia e meio ambiente (YONG; MATA; RODRIGUES, 2002). Os métodos atuais de captura de CO<sub>2</sub> de gases de combustão utilizam a adsorção, e os diferentes tipos de adsorventes utilizados incluem materiais a base de carbonos porosos (MENG; CHO; PARK, 2010), porque a adsorção do CO<sub>2</sub> nestes materiais porosos permitem a incorporação de grande quantidade do gás. Nanofibras de carbono podem ser utilizadas para adsorção de CO<sub>2</sub>. Essas nanoestruturas podem ser produzidas por *electrospinning*, que desenvolve fibras contínuas com diâmetros na ordem de nanômetros. A elevada razão de superfície em relação ao volume, grande porosidade (superior a 80%), boas propriedades mecânicas, funcionalidade ajustável e potencial para aumento de escala do processo de produção por *electrospinning* fazem as nanofibras promissoras como adsorventes avançados para a captura e armazenamento de CO<sub>2</sub> (DING; YU, 2014; PETRÍK, 2011).

Uma vantagem da técnica de *electrospinning* é que mesmo com elevada porosidade, o material é relativamente fácil de manusear, e não há ruptura. Para aumentar a capacidade de armazenamento, partículas funcionais na forma de metais ou óxidos de metais podem ser incorporados nas nanofibras, juntamente com o processo de *electrospinning*. Estas nanoestruturas compósitas funcionais melhoram a difusão e interação de moléculas, a transferência do gás ao longo da matriz e funcionalização, aumentando assim a eficiência de adsorção do gás devido ao aumento da porosidade e área de superfície do material (LUOH; RAHN, 2006; SUNDARAMURTHY et al., 2014).

Os processos biológicos tornam-se alternativa interessante no combate à poluição e na geração de novos produtos. Nesses processos o metabolismo microbiano degrada e remove poluentes, bem como os transforma em matérias-primas gerando produtos vantajosos ao meio ambiente (SCHMITZ; MAGRO; COLLA, 2012). Existem diversos micro-organismos atuantes, como bactérias, fungos, algas e microalgas. Neste cenário, destacam-se as microalgas, com inúmeras investigações biotecnológicas devido a sua importância econômica, nutricional e ecológica (MORAIS; COSTA, 2008).

Um dos métodos mais indicados para biofixação de CO<sub>2</sub> é a utilização de microalgas. A capacidade fotoautotrófica desses micro-organismos converte o CO<sub>2</sub> em biomassa, visto que são responsáveis por mais de 50% da fotossíntese do planeta (RADMANN; REINEHR; COSTA, 2007). Com isso, têm sido objeto de muitas investigações para biofixação do CO<sub>2</sub> da atmosfera (DUARTE et al., 2017; VAZ; COSTA; MORAIS, 2016a), contribuindo assim com a redução do efeito estufa. Além de minimizar os problemas ambientais, o uso de fontes alternativas de carbono como o CO<sub>2</sub> reduz os custos com esse nutriente (ELOKA-EBOKA; INAMBAO, 2017) e as microalgas produzem matéria orgânica rica em minerais, vitaminas, carboidratos, lipídios, pigmentos e proteínas, apresentando grande aplicabilidade industrial (KHAN et al., 2009).

Um dos atributos mais importantes e desejáveis para a fixação de CO<sub>2</sub> por microalgas são as altas taxas de crescimento e eficiência na utilização do CO<sub>2</sub> (BRENNAN; OWENDE, 2010). No entanto, no cultivo de microalgas a fonte de carbono deve ser suficientemente fornecida no meio de cultivo para que ocorra a assimilação adequada pelos micro-organismos fotossintéticos, de modo que o carbono não dissolvido no meio é perdido para atmosfera. Estudos relatados na literatura sobre adsorção com nanofibras (DOTTO et al., 2017; LUOH; HAHN, 2006) não envolvem a utilização das nanofibras poliméricas para adsorção de CO<sub>2</sub> no cultivo de microalgas, sendo este estudo pioneiro na área. Dessa forma, o desenvolvimento de nova tecnologia para maximizar a biofixação de CO<sub>2</sub> por microalgas é necessário, e a alternativa é o cultivo de microalgas com nanofibras poliméricas como adsorventes físicos de CO<sub>2</sub>, para aumentar o tempo de contato entre o gás e o micro-organismo.

## **2 OBJETIVOS**

## 2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver tecnologia inovadora a partir de nanofibras poliméricas para aplicação como adsorventes físicos de CO<sub>2</sub> visando aumentar a biofixação do gás no cultivo microalgal.

## 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver nanofibras poliméricas com e sem adição de nanopartículas funcionais de óxido de ferro (NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) pela técnica de *electrospinning* e, selecionar as nanofibras com potencial para adsorver gás CO<sub>2</sub>;
- Avaliar a capacidade de adsorção e dessorção de CO<sub>2</sub> das nanofibras poliméricas com NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>;
- Aplicar diferentes concentrações de nanofibras, com e sem NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, em cultivos de *Chlorella fusca* LEB 111 dispostas na forma livre e retidas e, verificar a biofixação do gás e síntese de macromoléculas;
- Cultivar *Chlorella fusca* LEB 111 com nanofibras com NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> em condições indoor e outdoor em reatores tubulares verticais, visando maximizar a biofixação de CO<sub>2</sub> e avaliar a síntese de macromoléculas.

CAPÍTULO II

## **3 REVISÃO DA LITERATURA**

#### 3.1 MICROALGAS

As microalgas desempenham papel fundamental nos ecossistemas aquáticos, sendo as responsáveis pela base da cadeia trófica. São organismos microscópicos que crescem normalmente suspensos em água e são conduzidas pelo mesmo processo fotossintético adotado por plantas superiores. As microalgas não necessitam de sistema vascular para o transporte de nutrientes, pois como são fotoautotróficas absorvem diretamente os nutrientes dissolvidos no meio. Estes micro-organismos apresentam variações morfológicas, estruturais e fisiológicas que permitem sua adaptação as mais variadas condições ambientais (COSTA; MORAIS, 2011; MORAIS et al., 2015).

Microalgas procaróticas (Cianobactérias) não possuem organelas ligadas à membrana (plastídios, mitocôndrias, núcleo, complexo de Golgi e flagelos) (JOHANSEN, 2012). As microalgas eucarióticas abrangem diversas espécies e, possuem organelas que controlam as funções celulares que permitem a sobrevivência e reprodução. As microalgas eucarióticas são classificadas em uma variedade de classes basicamente definidas por sua pigmentação, ciclo de vida e estrutura celular (KHAN et al., 2009).

A *Chlorella* sp. é um gênero de microalgas eucarióticas verdes, unicelulares, pertencente ao grupo Chlorophyta (PLAZA et al., 2009). Esta microalga possui forma esférica, globular ou elipsoidal, com diâmetros que podem variar de 2,0 μm a 10,0 μm, e pode estar presente em águas doces e marinhas (LOURENÇO, 2006), sendo considerada um dos gêneros mais estudados e cultivados no mundo (LIU; HU, 2013). A maior parte do mercado de biomassa de microalgas é representado por *Chlorella*, com produção anual de 3.000 toneladas (MASOJÍDEK; PRÁSIL, 2010).

Esta microalga foi descoberta pelos japoneses, consumidores tradicionais de algas, que costumavam apreciá-la e utilizá-la como suplemento alimentar (MORAIS et al., 2015). *Chlorella* possui o certificado GRAS (Generally Recognized As Safe) emitido pelo FDA (Food and Drug Administration), podendo ser utilizada como alimento sem apresentar riscos à saúde, quando cultivada em ambiente adequado com higiene e boas práticas de fabricação (COSTA et al., 2006; COSTA e MORAIS, 2013).

Através do processo de fotossíntese, as microalgas convertem água, CO<sub>2</sub> e luz em oxigênio e biomassa. Para seu cultivo, a fonte de carbono deve ser fornecida suficientemente para evitar limitação de crescimento. Além disso, a transferência de massa no meio de cultivo

deve ser eficiente, já que a fonte de carbono não dissolvida é perdida (SOCCOL; PANDEY; LARROCHE, 2013). A fonte de carbono necessária para o cultivo de microalgas representa cerca de 60% dos custos com nutrientes. As exigências nutricionais para o cultivo desses microorganismos podem estar disponíveis em resíduos industriais, transformando, o que é considerado um problema, em matéria-prima para a obtenção de produtos com alto valor agregado (ELOKA-EBOKA; INAMBAO, 2017).

As microalgas são micro-organismos fotossintéticos que têm a capacidade de utilizar fontes de carbono orgânico e inorgânico para o seu desenvolvimento, devido a seu metabolismo que pode ser autotrófico e heterotrófico. O metabolismo autotrófico requer apenas compostos inorgânicos, como CO<sub>2</sub>, sais e energia solar. O metabolismo heterotrófico não envolve a fotossíntese, exigindo fonte externa de compostos orgânicos como nutrientes e fonte de energia. Algumas espécies microalgais possuem capacidade de realizar fotossíntese e utilizar fontes orgânicas, sendo classificadas como mixotróficas (LEE, 1980; MORAIS et al., 2015).

Há grande interesse em energia renovável a partir de fontes biológicas. O emprego de microalgas na fixação de  $CO_2$  tem o potencial para diminuir os custos de produção de tais organismos em escala industrial. Como consequência reduz a emissão de  $CO_2$  na atmosfera, contribuindo assim para redução do efeito estufa e do aquecimento global. As microalgas são responsáveis por aproximadamente 40% da fotossíntese global, necessitando de  $CO_2$  para crescer e apresentando potencial em assimilar  $CO_2$  (JOHANSEN, 2012).

As microalgas se multiplicam e produzem uma série de compostos de interesse, incluindo carboidratos, lipídios, proteínas, minerais, vitaminas, aminoácidos essenciais e ácidos graxos poli-insaturados (NATRAH et al., 2007). Estes compostos podem ser convertidos em alimentos (LUCAS et al., 2018), biopolímeros (CASSURIAGA et al., 2018), biocombustíveis (DONG et al., 2016) e fármacos (LIU et al., 2016).

As grandes vantagens das microalgas no processo de biofixação de  $CO_2$  são a habilidade no uso direto de  $CO_2$  de plantas de energia térmica ou fontes similares; alto potencial de produtividade, maior que plantas superiores ou plantas aquáticas; curto tempo de geração; alto conteúdo de nutrientes em sua biomassa e sua capacidade de usar recursos como água salobra, salina e de dessulfurizadores, não utilizadas na criação de gado ou agricultura convencional (HENRIKSON, 1994).

Além disso, microalgas isoladas próximas às emissões de termelétricas são mais tolerantes as condições locais, apresentando maiores taxas de fotossíntese e produção de biomassa (SALIH, 2011; VAZ; COSTA; MORAIS, 2016a). O risco de impacto ambiental com

o micro-organismo nativo seria reduzido e a dependência de importar cepas, desnecessário, resultando na tolerância a altas concentrações dos gases de combustão.

## 3.2 SISTEMAS E CONDIÇÕES DE CULTIVO PARA MICROALGAS

As condições de cultivo são fatores importantes que influenciam o metabolismo dos micro-organismos, direcionando a síntese de compostos específicos. No cultivo de microalgas são aplicadas condições ótimas visando à maximização da produção de biomassa, e condições de estresse, visando o acúmulo do composto desejado. A modificação da composição bioquímica das microalgas por alterações nos nutrientes, intensidade luminosa, temperatura, pH, etc. podem conduzir a maiores produtividades de produtos de interesse (LOURENÇO, 2006; MORAIS et al., 2015). A configuração do fotobiorreator é outro fator que pode ter impacto sobre o crescimento celular e produtividade, pois dependendo da sua configuração afetam de forma significativa as condições de cultivo, tais como a temperatura, pH, transferência de massa de CO<sub>2</sub>, o acúmulo de O<sub>2</sub>, a intensidade da luz, ciclo claro/escuro e mistura adequada do reator (CAÑEDO et al., 2016; KUMAR et al., 2010).

## 3.2.1 Nutrientes

Os meios de cultivo são preparações químicas formuladas de modo a conter os nutrientes necessários para que as microalgas se multipliquem e/ou sobrevivam. Os nutrientes são fundamentais para o crescimento das microalgas, de modo que devem atender às necessidades nutricionais do micro-organismo, auxiliar no controle do processo e ter composição razoavelmente fixa (SCHMIDELL et al., 2001).

Microalgas requerem para o seu crescimento macronutrientes, tais como carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio, fósforo, cálcio, magnésio, enxofre e potássio, que são essenciais para o crescimento por serem constituintes estruturais de biomoléculas, de membranas e do meio intracelular. Além disso, esses nutrientes participam de processos de trocas de energia e regulam diversas atividades metabólicas. Os micronutrientes geralmente necessários são ferro, manganês, molibdênio, cobalto, zinco, cobre, etc. sendo importantes porque participam da estrutura e da atividade de diversas enzimas que estão envolvidas em diferentes vias metabólicas das microalgas (LOURENÇO, 2006; MORAIS et al., 2015).

A fonte de carbono é o principal nutriente necessário para o cultivo de microalgas. Alta concentração de carbono no cultivo resulta em maior crescimento e produtividade da biomassa. A concentração de nitrogênio e a relação carbono/nitrogênio também são cruciais para determinar a taxa de crescimento de microalgas e produção de compostos de interesse (MILANO, 2016). As microalgas são alternativa de produção sustentável, devido a capacidade de utilizar carbono de diferentes fontes em cultivos mixotróficos e heterotróficos. Além disso, esses micro-organismos podem absorver nitrogênio e fósforo, sendo promissores para a remoção de nutrientes inorgânicos e tratamento de águas residuais, contribuindo também com a redução da eutrofização (YANG et al., 2011).

Efluentes industriais também podem ser aproveitados para cultivo microalgal, pois são ricos em compostos como carbono e nitrogênio, o que contribui para redução de custos de produção e problemas ambientais. O uso de fontes alternativas de nutrientes, como o CO<sub>2</sub> emitido na combustão de carvão em termelétricas, além de promover a produção de biomassa, minimiza os problemas causados pela emissão desse gás, reduz os custos com esse nutriente e gera créditos de carbono (ELOKA-EBOKA; INAMBAO, 2017).

Além de CO<sub>2</sub>, a combustão do carvão emite óxidos de nitrogênio e enxofre que são responsáveis pelas chuvas ácidas. Esses componentes podem ser utilizados pelas microalgas durante a síntese de proteínas e aminoácidos sulfurados (COSTA; MORAIS, 2011) ou como fonte de nutrientes para o metabolismo microalgal (BRAGA et al., 2019; VAZ; COSTA; MORAIS, 2016a, 2016b). Nesse contexto, as microalgas têm sido estudadas para o tratamento de efluentes industriais, como o glicerol e efluentes gasosos e sólidos da combustão de carvão mineral (DUARTE; FANKA; COSTA, 2016; MORAIS et al., 2019; VAZ; COSTA; MORAIS, 2016a, 2016b), visando o tratamento alternativo desses resíduos e redução de custos do cultivo.

#### 3.2.2 Temperatura, Luminosidade e pH

A temperatura é um dos principais fatores que regulam a morfologia e fisiologia celular, bem como os subprodutos da biomassa microalgal (PANDEY, 2014). Temperaturas abaixo de 16 °C afetam os mecanismos de fixação de carbono e a atividade metabólica em geral, reduzindo o crescimento microalgal (RAS et al., 2013). Por outro lado, altas temperaturas inibem a taxa metabólica das microalgas e reduzem a solubilidade do CO<sub>2</sub>. Temperaturas acima de 35 °C são normalmente letais para muitas espécies porque diminuem a taxa de crescimento e aumentam tanto a respiração quanto a fotorrespiração (BARSANTI; GUALTIERI, 2014; ZHAO; SU 2014). Temperaturas mais elevadas são desejáveis durante o dia, pois devido a fotossíntese tem efeito favorável nas taxas de crescimento. Durante a noite, temperaturas mais baixas são desejadas no cultivo de microalgas, devido ao aumento da taxa de respiração que resulta em elevado gasto de energia celular e consequente redução da concentração de biomassa (PANDEY, 2014). As microalgas geralmente crescem em faixa de temperatura entre 15 e 30 °C com valores ótimos a 20-25 °C. No entanto, algumas espécies são mais termotolerantes, por exemplo a *Chlorella* sp. que cresce em temperatura de até 42 °C (RAZZAK et al., 2013).

A luminosidade é um dos principais parâmetros que deve ser considerado no cultivo de microalgas, uma vez que fornece toda a energia necessária para o metabolismo (CRIS et al., 2014). Durante a fotossíntese, os produtos das reações da fase clara, ATP e NADPH, são utilizados para fixar o  $CO_2$  pela enzima ribulose bifosfato carboxilase oxigenase (rubisco) no ciclo Calvin-Benson. Condições de baixa luminosidade levam a baixa concentração de biomassa e fixação de  $CO_2$ . Por outro lado, o excesso de luz aumenta a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) que são responsáveis por reações fisiológicas anormais devido ao estresse oxidativo. Isso danifica as proteínas essenciais necessárias para a transferência de elétrons durante a fotossíntese e, consequentemente, a fixação de  $CO_2$  é reduzida (MORALES; SÁNCHEZ; REVAH, 2018; SEO et al., 2017). As intensidades de luz ideais para o cultivo de microalgas variam entre 62,5 e 2000 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> entre diferentes espécies. A fonte de luz pode ser fornecida pelo sol ou por luz artificial, sendo que a luz solar natural é normalmente utilizada ao ar livre, em *raceways* ou em fotobiorreatores tubulares (WANG et al., 2014).

O controle de pH é essencial para que os componentes do meio de cultivo possam ser efetivamente absorvidos, afetando diretamente a disponibilidade de vários elementos químicos. O pH do meio de cultivo é importante para manter o crescimento de microalgas, especialmente durante o cultivo utilizando CO<sub>2</sub> como fonte de carbono, onde o crescimento das microalgas envolve o consumo do CO<sub>2</sub> dissolvido no meio, e o pH regula a distribuição das espécies inorgânicas dissolvidas (CO<sub>2</sub>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> e CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>) (KASSIM; MENG, 2017; LOURENÇO, 2006; MORAES et al., 2016). O CO<sub>2</sub> reage com a água para formar o ácido carbônico (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>). Este ácido é então dissociado em bicarbonato (HCO<sup>3-</sup>) e íons H<sup>+</sup>, e o bicarbonato pode ser dissociado em CO<sub>2</sub> ou íons carbonato (CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>), dependendo do pH do meio de cultivo. Todas estas reações são rápidas, e como as microalgas removem o CO<sub>2</sub> do meio de cultivo, são formados íons OH<sup>-</sup> e isto eleva o pH do meio. Abaixo de pH 5,0, apenas o CO<sub>2</sub> livre é predominante; entre pH 7,0 e 9,0, o bicarbonato é mais significativo e acima de pH 9,5, o carbonato prevalece (SOCCOL et al., 2013). O pH ótimo é determinado de acordo com o tipo de micro-organismo, variando de neutro a alcalino para a maioria das espécies de microalgas. Entretanto, meio ácido (pH 5-7) é favorável para o crescimento de microalgas eucarióticas. Além disso, um adequado pH também é importante para evitar a contaminação por organismos indesejáveis (RODOLFI et al., 2009).

#### **3.2.3 Fotobiorreatores**

A configuração do fotobiorreator (FBR) tem efeito importante no cultivo de microalgas, principalmente na eficiência de fixação de CO<sub>2</sub>, visto que afeta a transferência do gás para o meio e a sua utilização pelas microalgas (LI; LUO; GUO, 2013). O principal desafio com relação ao desenvolvimento de FBRs para a biofixação de CO<sub>2</sub> por microalgas é a configuração de dispositivos eficientes no fornecimento e na redução de perdas deste gás para a atmosfera (APEL; WEUSTER-BOTZ, 2015). Desse modo, a taxa de transferência de massa gás-líquido deve ser adequada para a absorção de CO<sub>2</sub> e liberação de oxigênio pelas microalgas para evitar limitação de carbono (pois o CO<sub>2</sub> não dissolvido é perdido) e/ou inibição pelo O<sub>2</sub> (OLIVIERI; SALATINO; MARZOCCHELLA, 2014). Ampla interface gás/líquido, com bolhas de gás pequenas, boa mistura e altas concentrações de CO<sub>2</sub> favorecem o transporte de CO<sub>2</sub> para dentro e de O<sub>2</sub> para fora da fase líquida (MORWEISER et al., 2010). Por outro lado, a elevada concentração de CO<sub>2</sub> leva a redução do pH nos cultivos, o que também poderá ter efeitos de inibição de algumas células de microalgas (WANG; LAN; HORSMAN, 2012).

Os biorreatores utilizados podem ser classificados em abertos ou fechados (Figura 1). Os sistemas abertos são mais fáceis de construir e operar do que a maioria dos sistemas fechados. No entanto, é necessário controlar a temperatura do meio líquido, a evaporação de água e contaminação por outros micro-organismos, assim como as variações de radiação solar que podem levar à obtenção de baixas concentrações de biomassa. Entretanto, os FBR abertos são os mais utilizados devido a viabilidade econômica (JOHANSEN, 2012). Os FBRs fechados têm atraído muito interesse, porque eles permitem melhor controle das condições de cultivo (pH, temperatura e intensidade de luz) do que sistemas abertos. Além disso, maiores produtividades volumétricas e concentrações de biomassa foram obtidas em FBRs fechados (CHEAH et al., 2015).

As vantagens da utilização de biorreatores fechados em comparação com sistemas abertos também incluem: menores perdas por evaporação; resistência à contaminação; facilidade dos procedimentos de coleta de biomassa, devido ao menor volume de meio de cultura; maior controle das trocas gasosas entre o cultivo e a atmosfera; minimização do espaço ocupado; pode ser colocado em ambientes fechados ou ao ar livre, utilizando luz solar, luz artificial ou mistura de ambas; elevada relação superfície e volume, o que ajuda a aumentar a

iluminação do sistema e a possibilidade de se obter cultivos e/ou compostos produzidos com maior grau de pureza (JOHANSEN, 2012; LOURENÇO, 2006; MORAIS et al., 2015).



Figura 1 - Cultivos de microalgas em fotobiorreatores abertos e fechados

Fotobiorreatores fechados tubulares permitem melhor distribuição de luz, e consequentemente maior eficiência fotossintética em relação aos reatores abertos *raceway* (BEZERRA et al., 2012). Os FBRs tubulares são construídos com materiais transparentes (vidro, plástico ou acrílico), que permitem que a luz possa penetrar em toda sua extensão. O diâmetro desses FBR pode alcançar até 20 cm, a fim de manter alta a razão superfície/volume, obtendo-se elevadas produtividades e eficiências de biofixação de CO<sub>2</sub> pelas microalgas. A agitação do sistema ocorre por aeração, em fluxo turbulento, a fim de evitar a decantação das células, com velocidades de 30 a 50 cm s<sup>-1</sup> (CHISTI, 2007). Estes FBRs podem utilizar luz artificial como fonte energética (geralmente fornecida por lâmpadas fluorescentes) ou luz solar, e podem ser classificados em verticais, horizontais ou inclinados e, além disso, os cultivos podem ser conduzidos em um único FBR ou em FBRs em série (WANG; LAN; HORSMAN, 2012).

## 3.3 FOTOSSÍNTESE E BIOFIXAÇÃO DE CO2

O processo mais conhecido de cultivo microalgal é o autotrófico ou também chamado fotoautotrófico. Neste sistema, a microalga utiliza a luz solar como fonte de energia e CO<sub>2</sub> como fonte de carbono para gerar energia bioquímica através da fotossíntese (PANDEY et al., 2014). A fotossíntese pode ser definida como um processo físico-químico, mediante o qual os organismos fotossintéticos sintetizam compostos orgânicos a partir de energia solar, água, dióxido de carbono e sais minerais. A reação global de fotossíntese pode ser representada pela Equação 1.

$$6CO_2 + 12H_2O + \text{energia luminosa} \rightarrow C_6H_{12}O_6 + 6O_2 + 6H_2O$$
(1)

Para o desempenho de suas funções, os seres vivos utilizam a energia química contida nas moléculas de ATP e uma fonte de poder redutor NADPH. As sínteses de ATP, a partir de ADP e fosfato (Pi), e de NADPH, a partir de NADP<sup>+</sup>, de prótons (H<sup>+</sup>) e elétrons (e<sup>-</sup>), são sempre obtidas por oxidação. Através da reação global, duas fases distintas podem ser identificadas: a fase clara (etapa fotoquímica) e a fase escura (etapa química). Na fase fotoquímica a energia radiante excita os pigmentos fotossintéticos e este estado de excitação (energia) é transferido com auxílio de água, até as moléculas de NADP e ATP (energia química).

Os produtos primários da etapa fotoquímica são o ATP e o NADPH. Nessa etapa também ocorre a liberação do oxigênio, como subproduto da dissociação da molécula de água. Na fase química, o carbono obtido a partir de uma molécula de CO<sub>2</sub> é assimilado mediante reações enzimáticas com o uso da energia armazenada nas moléculas de ATP e NADPH, terminando por formar o primeiro produto da fotossíntese, o hidrato de carbono (CH<sub>2</sub>O) (NELSON; COX, 2011). Nos procariotos, como cianobactérias, a fotossíntese ocorre em grânulos ligados à membrana plasmática. Em eucariotos como plantas e algas verdes, ocorre nos cloroplastos (CAMPBELL; FARRELL, 2006).

Quanto ao sequestro de carbono da atmosfera, as microalgas representam os organismos vivos mais eficientes na fixação de carbono. Em lagos naturais as fontes de carbono utilizadas pelas microalgas são CO<sub>2</sub> atmosférico ou carbonatos (VONSHAK, 1997). Uma das características mais atraentes da produção de biomassa de microalgas é o potencial para fixar CO<sub>2</sub> da atmosfera ou de gases de combustão. O gás de combustão, que contém além do CO<sub>2</sub>, óxidos de enxofre (SOx) e nitrogênio (NOx) pode ser usado diretamente para o crescimento de microalgas (DUARTE et al., 2017; RADMANN et al., 2011).

Para fixação de dióxido de carbono a reação líquida de 6 moléculas de  $CO_2$  para produzir  $C_6H_{12}O_6$  (Equação 1) requer a carboxilação de 6 moléculas de um intermediário principal com 5 carbonos, a ribulose-1,5-bisfosfato, para formar 6 moléculas de um intermediário instável com 6 carbonos, que então rompe-se para fornecer 12 moléculas de 3-fosfatoglicerato. Dessas 12 moléculas, duas reagem entre si para a produção de glicose. As 10 moléculas restantes de 3-fosfosfato. A via
completa da reação é cíclica e denominada de ciclo de Calvin (Figura 2) (CAMPBELL; FARRELL, 2006).

A primeira reação do ciclo de Calvin é a condensação da ribulose-1,5-bifosfato com o dióxido de carbono para formar um intermediário de seis carbonos, o 2-carboxi-3-cetorribitol-1,5-bifosfato, que rapidamente se hidrolisa para fornecer duas moléculas de 3-fosfoglicerato. A reação é catalisada pela enzima ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase (rubisco) (CAMPBELL; FARRELL, 2006). A incorporação de CO<sub>2</sub> ao 3-fosfoglicerato representa o processo real de fixação. As reações seguintes levam a redução do 3-fosfatoglicerato para formar gliceraldeído-3-fosfato. Quando ocorre a formação de gliceraldeído-3-fosfato, pode ocorrer a produção de açúcares com seis carbonos ou a regeneração da ribulose-1,5-bifosfato (MARZZOCO; TORRES, 2010).

Figura 2 - Esquema da fotossíntese: fixação de CO<sub>2</sub> e acúmulo de carbono nas células das microalgas



Fonte: ZENG et al. (2011)

# 3.4 NANOFIBRAS POLIMÉRICAS

A nanotecnologia é a ciência que envolve a obtenção, manipulação e caracterização de estruturas funcionais compostas por partículas com pelo menos uma de suas dimensões medidas

em nanômetros. Nesta escala, propriedades físicas, químicas e biológicas dos materiais são potencializadas através da redução do tamanho que proporciona maior superfície de contato e reatividade do material (ASSIS et al., 2012). Novas soluções e oportunidades surgem a partir da nanotecnologia para garantir energia e ambientes sustentáveis no futuro. As nanofibras poliméricas apresentam funcionalidades diferenciadas com respeito às suas propriedades mecânicas, elétricas e térmicas, e demonstram potencial para aplicações em diversas áreas (GONG et al., 2011). Materiais de morfologia nanofibrosa são atraentes para resolver questões energéticas e ambientais. As nanofibras utilizadas em membranas de filtração fornecem melhor eficiência do que fibras convencionais. A grande área superficial dessas nanofibras permite maior superfície de adsorção dos contaminantes do água e do ar, e aumenta o tempo útil do meio filtrante (THAVASI; SINGH; RAMAKRISHNA, 2008).

O método de *electrospinning* é a técnica mais amplamente adotada para formação de nanofibras poliméricas devido às suas vantagens, como excelente reprodutibilidade, possibilidade de manipulação das condições do processo para controle da dimensão e morfologia das fibras (Figura 3) (NAYAK et al., 2011). Além disso, permite a produção de nanofibras a partir de diversos polímeros, por exemplo, orgânicos e inorgânicos em diferentes configurações e com aditivos de interesse (THAVASI; SINGH; RAMAKRISHNA, 2008).

Figura 3 - Microscopia Eletrônica de Varredura de nanofibras desenvolvidas utilizando a técnica de *electrospinning* 



Este método produz nanofibras que variam de 10 nm a 1000 nm de diâmetro, com elevada elasticidade, resistência e área de superfície em relação ao volume, dependendo do polímero utilizado (SCHMATZ et al., 2016). A grande área de superfície dessas estruturas fornece nanofibras com volume de poros elevado e diferentes tamanhos de poros. Estes poros facilitam a incorporação de moléculas bioativas, o transporte de nutrientes e resíduos, e

permitem que as nanofibras poliméricas tornem-se importante classe de biomateriais (KAI; LIOW; LOH, 2014).

Entre os polímeros, o poliacrilonitrila (PAN), um homopolímero linear de acrilonitrila (-CH<sub>2</sub>-CH(CN)-) que contêm grupos nitrilas altamente polares, foi relatado como promissor no desenvolvimento de membranas nanofibrosas para sensores de gás CO<sub>2</sub>. Além disso, nanopartículas de óxido de ferro (NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) podem ser adicionadas ao PAN para produzir membranas compósitas com maior sensibilidade ao gás CO<sub>2</sub>, uma vez que ocorre maior adsorção do gás em função da afinidade entre moléculas de CO<sub>2</sub> e moléculas da superfície polimérica (LUOH e HAHN, 2006; KIM et al., 2007).

A Figura 4 mostra a ilustração esquemática da configuração básica do equipamento de *electrospinning*, que consiste essencialmente de uma pipeta ou seringa preenchida com solução polimérica, uma fonte de alta tensão e um coletor condutor aterrado. O capilar ligado à pipeta normalmente serve como o eletrodo que carrega eletricamente a solução polimérica e o contraeletrodo está ligado ao coletor condutor (BAJI et al., 2010). O princípio do *electrospinning* consiste na aplicação de alto potencial elétrico à solução de polímero que resulta na formação de nanofibras por meio de repulsão de cargas eletrostáticas e alongamento da solução. A solução polimérica é alimentada através de capilar em fluxo constante carregado com potencial de alta tensão (10-30 kV).



Figura 4 - Desenho esquemático da técnica de electrospinning

Fonte: ROGINA (2014)

Quando o campo elétrico produz força suficiente para vencer a tensão superficial na ponta do capilar ocorre à formação do "cone de Taylor". As nanofibras produzidas são

depositadas no coletor que pode ser estacionário ou rotativo. O solvente evapora gradualmente, resultando em nanofibras sobre coletor (BAKER et al., 2012). Interações dinâmicas entre cadeias de polímeros tais como entrelaçamento, interação hidrofóbica e ligação de hidrogênio, são essenciais para a redução do diâmetro da fibra à escala nanométrica e manutenção da formação de fibra contínua (TERADA et al., 2012). Além disso, a técnica de *electrospinning* tem potencial para aumento de escala através da multiplicação dos jatos poliméricos utilizando construções com múltiplos capilares (Figura 5) (KIRICHENKO et al., 2007).



Figura 5 - Esquema de *electrospinning* com múltiplas agulhas

Fonte: PETRÍK (2011)

## 3.4.1 Parâmetros que afetam a produção de nanofibras por electrospinning

Há diversos fatores que afetam a morfologia e diâmetro das nanofibras produzidas pela técnica de *electrospinning*, que são classificados como: parâmetros do processo, da solução e do ambiente. Parâmetros da técnica incluem o potencial elétrico aplicado, distância entre o capilar e coletor, vazão de alimentação da solução e o diâmetro do capilar. Os parâmetros da solução incluem o tipo de solvente, peso molecular do polímero, concentração de polímero, a viscosidade e a condutividade da solução. Os parâmetros do ambiente incluem a umidade relativa, temperatura e fluxo de ar (HAIDER; HAIDER; KANG, 2015). Pela manipulação adequada desses parâmetros obtêm-se nanofibras de morfologia e diâmetros desejados (BHARDWAJ; KUNDU, 2010).

#### 3.4.1.1 Parâmetros da solução

Para a formação de nanofibras ocorrer no processo de *electrospinning*, deve haver uma concentração mínima de solução (BHARDWAJ; KUNDU, 2010). A concentração de polímero não deve ser muito baixa ou muito alta, mas sim uma combinação entre máxima e mínima (KHAN et al., 2013). Quando a concentração da solução polimérica é baixa, o campo elétrico aplicado e a tensão superficial fazem com que as cadeias de polímero emaranhadas quebrem antes de alcançar o coletor. Estes fragmentos causam a formação de grânulos. O aumento da concentração da solução polimérica causa o aumento da viscosidade, que em seguida aumenta o emaranhamento entre as cadeias de polímero. Estes emaranhamentos superam a tensão superficial e, finalmente, resultam em nanofibras uniformes sem grânulos. Além disso, o aumento da concentração acima de um valor crítico, impede o fluxo da solução através da ponta da agulha que resulta em nanofibras defeituosas ou com grânulos (HAIDER; HAIDER; KANG, 2015).

O peso molecular do polímero é outro fator importante que afeta a morfologia das fibras porque tem efeito significativo sobre as propriedades reológicas e elétricas, tais como a viscosidade, a tensão superficial, a condutividade e a resistência dielétrica e, consequentemente, sobre a morfologia das fibras (ROGINA et al., 2014). Geralmente polímeros de alto peso molecular são utilizados no *electrospinning*, pois proporcionam a viscosidade desejada para a geração de fibra (BHARDWAJ; KUNDU, 2010). Mantendo a concentração fixa e reduzindo o peso molecular do polímero, há tendências para formar os grânulos, por outro lado, aumentando o peso molecular são obtidas nanofibras lisas (LI; WANG, 2013).

A viscosidade da solução polimérica afeta significativamente o diâmetro das nanofibras. Poros, microporos e estruturas com grânulos são menos propensos a se formar pelo processo de *electrospinning* se a viscosidade é alta. Se a viscosidade for muito baixa, o jato iniciado a partir do cone de Taylor será transformado em muitas gotículas e irá espirrar, resultando em estruturas com grânulos. Se a viscosidade for muito alta, então as forças viscoelásticas serão elevadas, sendo necessária uma força eletrostática maior para vencer essa viscoelasticidade e o jato será transformado em gotículas (KHAN et al., 2013).

A tensão superficial é função da composição do solvente da solução. Diferentes solventes podem contribuir com diferentes tensões superficiais. Basicamente, a tensão superficial determina os limites superiores e inferiores do *electrospinning* se todas as outras condições são fixas. Com a concentração fixa, reduzindo a tensão superficial da solução, fibras com grânulos podem ser convertidas em fibras lisas (LI; WANG, 2013). A elevada tensão

superficial de uma solução inibe o processo de *electrospinning* por causa da instabilidade dos jatos e a geração de gotículas pulverizadas (BHARDWAJ; KUNDU, 2010), e isso pode ser evitado ajustando a concentração da solução por adição de solvente ou mistura de solventes (ROGINA et al., 2014).

A condutividade da solução é determinada principalmente pelo tipo de polímero, solvente utilizado e a disponibilidade de sais ionizáveis. Com a utilização de sais iônicos a uniformidade de fibras aumenta, o diâmetro reduz e há diminuição na produção de grânulos (BHARDWAJ; KUNDU, 2010). Alta condutividade da solução pode também ser conseguida através da utilização de ácidos orgânicos como solventes (LI; WANG, 2013). Com o aumento da condutividade elétrica da solução, há diminuição significativa no diâmetro das nanofibras, enquanto que com baixa condutividade da solução, não há alongamento do jato suficiente pela força elétrica para produzir fibras uniformes e grânulos podem ser formados (BHARDWAJ; KUNDU, 2010).

A volatilidade do solvente também desempenha papel significativo na formação de nanoestruturas uma vez que influencia o processo de separação de fases (BHARDWAJ; KUNDU, 2010). Em geral, solventes voláteis facilitam a evaporação do solvente das nanofibras durante o seu trajeto da ponta da agulha ao coletor. No entanto, solventes altamente voláteis são evitados porque os seus pontos de ebulição baixos e altas taxas de evaporação causam a secagem do jato na ponta da agulha. Da mesma forma, solventes menos voláteis são evitados, porque os seus pontos de ebulição elevados evitam a evaporação durante o trajeto do jato de nanofibras (HAIDER; HAIDER; KANG, 2015).

## 3.4.1.2 Parâmetros do processo

No processo de *electrospinning* o fator crucial é a aplicação de potencial elétrico para a solução. A formação de nanofibras só ocorre quando o potencial elétrico aplicado ultrapassa o limite de tensão (cerca de ~1KV/ cm) (SHI et al., 2015). O valor crítico de potencial aplicado varia de acordo com o tipo de solução polimérica, e existe uma faixa ideal de voltagem aplicada ou intensidade do campo elétrico para um dado sistema polímero-solvente no qual a formação de nanofibras é desejável. De modo geral, com o aumento no potencial elétrico além do valor crítico, o diâmetro de nanofibras inicialmente diminui e depois aumenta (PILAY et al., 2013).

Quanto maior for o potencial aplicado maior é a força de repulsão eletrostática sobre a solução, o que favorece o alongamento do jato, e estes efeitos levam a redução do diâmetro da fibra (SHI et al., 2015). Os aumentos no diâmetro e formação de nanofibras com grânulos,

ocorrem com o aumento do potencial devido a diminuição no tamanho do cone de Taylor e aumento da velocidade do jato para a mesma taxa de fluxo (HAIDER; HAIDER; KANG, 2015). Assim o potencial elétrico influencia o diâmetro das nanofibras, mas o nível de significância varia com a concentração da solução polimérica e a distância entre a ponta da agulha e o coletor (LI; WANG, 2013).

A taxa de alimentação da solução polimérica no interior da seringa é outro importante parâmetro do processo, uma vez que influencia a velocidade do jato e a taxa de transferência do material. Geralmente, a taxa de fluxo mais baixa é recomendada, visto que o solvente terá tempo suficiente para a evaporação (BHARDAJ; KUNDU, 2010). Se a taxa for muito elevada, serão formadas fibras com grânulos e diâmetro espesso, ao invés de fibras lisas com diâmetro fino (LI; WANG, 2013). Deformação do cone de Taylor, que resulta na formação de grânulos é resultado de maior taxa de alimentação da solução. A aplicação de potencial elétrico mais elevado poderia evitar a formação de grânulos, mas consequentemente iria causar a dispersão das fibras e formação de diâmetros não uniformes. Por outro lado, taxa de alimentação mais baixa é responsável pela incapacidade de ejetar jato de solução polimérica a partir da ponta da agulha, devido à secagem da gotícula (ROGINA et al., 2014). Dessa forma, deve haver uma taxa de fluxo mínima para manter o equilíbrio entre a saída da solução polimérica e a reposição da solução durante a formação do jato. Isto permite também a formação de jato mais estável (HAIDER; HAIDER; KANG, 2015).

A composição do coletor e geometria são parâmetros importantes que afetam a morfologia de fibras (ROGINA et al., 2014). O coletor serve como substrato condutor onde as nanofibras são coletadas (BHARDWAJ; KUNDU, 2010). Geralmente, o coletor mais utilizado é a placa metálica condutora que recolhe fibras orientadas aleatoriamente. Com o uso de coletores rotativos de alta velocidade ocorre a evaporação do solvente muito mais rápido em comparação com os coletores estacionários. Além disso, como a força de rotação contribui para o alongamento do jato do polímero, maior velocidade de rotação diminui o diâmetro das fibras e estas tendem a ter morfologia e diâmetros uniformes, as quais contribuem para a resistência das amostras (BAJI et al., 2010).

O efeito da distância entre a ponta da agulha e o coletor não é tão significativo quanto os outros parâmetros, mas também pode afetar o diâmetro e a morfologia das nanofibras. Verificou-se que se a distância é muito curta, a fibra não terá tempo suficiente para solidificar antes de chegar ao coletor, por outro lado, se a distância for longa nanofibras com grânulos podem ser obtidas (LI; WANG, 2013). Nanofibras com maiores diâmetros e com defeitos são formadas quando essa distância é mantida pequena, ao passo que o diâmetro do nanofibras

diminui à medida que a distância é aumentada (RAIDER et al., 2015). Assim, deve haver uma distância ótima entre a agulha e o coletor, a qual favorece a evaporação do solvente das nanofibras (ROGINA et al., 2014).

#### 3.4.1.3 Parâmetros ambientais

Parâmetros ambientais incluem a umidade e a temperatura do ambiente, que desempenham papel significativo na determinação do diâmetro e morfologia das nanofibras por *electrospinning*. Fluxo de ar também tem efeito no diâmetro, sendo que aumenta a taxa de evaporação, resultando assim em nanofibras com grandes diâmetros (KHAN et al., 2013). O processo de eletrospinning é conduzido à temperatura ambiente e à pressão atmosférica (ROGINA et al., 2014). O aumento da temperatura resulta na diminuição do diâmetro das nanofibras, em função da diminuição da viscosidade (VRIEZE et al., 2009). Umidade causa alterações no diâmetro das nanofibras, por controlar o processo de solidificação do jato carregado. A umidade mais baixa pode secar o solvente totalmente à medida que a velocidade de evaporação do solvente é mais rápida (BHARDWAJ; KUNDU, 2010). Pelo contrário, umidade elevada levará ao diâmetro de fibras mais espesso devido às cargas sobre o jato que pode ser neutralizado e a força de alongamento que torna-se pequena (LI; WANG, 2013). O aumento da umidade provoca também o aumento no número, diâmetro, forma e distribuição dos poros (VALIZADEH; FARKHANI, 2014).

## 3.5 TECNOLOGIA DE ADSORÇÃO

A importância dos processos adsortivos tem aumentado nas últimas décadas com aplicações nas mais diversas áreas relacionadas ao meio ambiente, energia e biotecnologia. O fenômeno de adsorção é baseado na aderência de líquidos ou gases à superfície de um sólido, sendo um processo utilizado para purificação de efluentes, recuperação de solutos ou separação de componentes de uma mistura. Na adsorção ocorre uma operação de transferência de massa, a qual estuda a habilidade de certos sólidos em concentrar na sua superfície determinadas substâncias existentes em fluidos líquidos ou gasosos. Uma vez que os componentes adsorvidos concentram-se sobre a superfície externa, quanto maior for esta superfície por unidade de massa sólida, maior será a capacidade de adsorção. Com base nisso, geralmente os adsorventes são sólidos com superfícies porosas. A espécie que se acumula na interface do material é denominada de adsorvato ou adsorbato e a superfíce sólida na qual o adsorvato se acumula, é denominada de adsorvente ou adsorbente (RUTHVEN, 1984).

Dependendo da natureza das forças envolvidas, a adsorção pode ser classificada quanto a sua intensidade em dois tipos: adsorção física e adsorção química. No caso de adsorção física, a ligação do adsorvato à superfície do adsorvente envolve uma interação relativamente fraca que pode ser atribuída às forças de Van der Waalls. A quimissorção envolve a troca ou partilha de elétrons entre as moléculas do adsorvato e a superfície do adsorvente, resultando em reação química. Isso resulta essencialmente numa nova ligação química e, portanto, bem mais forte que no caso da fisissorção. A Tabela 1 apresenta as características gerais da adsorção física e química. Do ponto de vista termodinâmico, na adsorção física a entalpia para interações tais como forças de Wan der Waals é geralmente inferior a 20 kJ mol<sup>-1</sup> e para interações tais eletrostáticas varia entre 20 a 80 kJ mol<sup>-1</sup>. Na adsorção química, a entalpia de adsorção varia entre 80 e 450 kJ mol<sup>-1</sup> (ALENCAR et al., 2012; MACHADO et al., 2012).

Adsorção física	Adsorção química				
Baixo calor de adsorção	Alto calor de adsorção				
Não específica	Alta especificidade				
Adsorção em monocamadas ou multicamadas	Somente adsorção em monocamadas				
Nenhuma dissociação de espécies	Pode envolver dissociação				
adsorvidas	r oue en for en anssoeração				
Significativa apenas a temperaturas	Adsorção possível em amplas faixas de				
baixas	temperaturas				
Rápida e reversível	Pode ser lenta e irreversível				
Sem transferência de elétrons, embora	Transferência de elétrons levando à formação				
possa ocorrer polarização do sorbato	de ligação entre o adsorvente e o adsorbato				

 Tabela 1 - Principais diferenças entre fisiossorção e quimiossorção.

Fonte: RUTHVEN (1984)

Outra característica da adsorção física é que ela ocorre em toda a superfície adsorvente, por isso é denominada não localizada (ou inespecífica), ao passo que a adsorção química só pode ocorrer nos sítios ativos, sendo assim, é dita localizada. Outra maneira de se interpretar a adsorção física sugere que ela ocorre quando forças intermoleculares de atração das moléculas na fase fluida e da superfície sólida são maiores que as forças atrativas entre as moléculas do próprio fluido. Este tipo de adsorção é rápida e reversível, decorrendo da ação de forças de atração intermoleculares fracas entre o adsorvente e as moléculas adsorvidas. Como não ocorre formação ou quebra de ligações, a natureza química do adsorvato não é alterada (NASCIMENTO et al., 2014).

Os fenômenos de adsorção são resultados de uma combinação entre os tipos de forças envolvidas na adsorção física e química. Desta forma, vários fatores influenciam o processo de adsorção tais como: natureza do adsorvente, do adsorvato e das condições operacionais. As características do adsorvente incluem a área superficial, tamanho do poro, densidade, grupos funcionais presentes na superfície e hidrofobicidade do material. A natureza do adsorvato depende da polaridade, do tamanho da molécula, da solubilidade e da acidez ou basicidade. As condições operacionais incluem, principalmente, temperatura, pH e natureza do solvente (NASCIMENTO et al., 2014).

A tecnologia de adsorção é um processo importante para a separação de gases, que tem sido estudada para a captura de CO<sub>2</sub> do gás de combustão por mais de duas décadas. Alta capacidade de adsorção pode ser obtida utilizando adsorventes com elevadas propriedades texturais. Esta é uma das razões que, nos últimos anos, direcionou a pesquisa para utilização de materiais nanoporosos, cujos valores de área de superfície específica estão aumentando continuamente (GARGIULO; PEPE; CAPUTO, 2014). Para que a tecnologia seja eficiente e de custo eficaz para a captura de CO<sub>2</sub>, o adsorvente ideal deve ter as seguintes características: capacidade de adsorção elevada; alta seletividade; rápida adsorção e dessorção cinética; estabilidade química, térmica e mecânica; e reciclabilidade (WILCOX et al., 2014).

## 3.5.1 Cinética de adsorção

Os fundamentos da adsorção envolvem o estudo do equilíbrio, que determina o rendimento ou capacidade máxima de adsorção de moléculas sobre a superfície de um sólido, e o estudo da cinética ou dinâmica do processo de adsorção. A cinética controla a eficiência do processo, fornecendo informações sobre a velocidade em que as reações acontecem, e sobre os fatores que influenciam a taxa de reação (CRINI; BADOT, 2008). A cinética de adsorção é

expressa como a taxa de remoção do adsorvato na fase fluida em relação ao tempo, envolvendo a transferência de massa de um ou mais componentes para o interior da partícula do adsorvente, os quais deverão migrar através dos macroporos até as regiões mais internas desta partícula. O princípio de condução da cinética envolve diferentes processos: a) Transferência de massa externa: corresponde a transferência de moléculas da fase fluida para superfície externa da partícula adsorvente, por intermédio de uma camada de fluido que envolve a partícula; b) Difusão no poro: ocasionada pela difusão de moléculas no fluido para o interior dos poros. c) Difusão na superfície: corresponde à difusão das moléculas totalmente adsorvidas ao longo da superfície do poro (NASCIMENTO et al., 2014) (Figura 6).



Figura 6 - Etapas da cinética de adsorção

Fonte: NASCIMENTO et al. (2014)

Os modelos cinéticos pseudo-primeira ordem (PPO) e pseudo-segunda ordem (PSO) são amplamente utilizados para analisar a adsorção do adsorvato a partir de uma solução aquosa (PATEL; HOTA, 2016). O modelo PPO foi proposto por Lagergrem em 1898 baseado na lei de Newton e determina que a adsorção ocorre em consequência de gradiente de concentração entre a superfície do adsorvente e a solução, de acordo com a Equação 2 (QIU et al. 2009):

$$\frac{dq_t}{dt} = k_1(q_e - q_t) \tag{2}$$

Sendo  $q_t e q_e$  as capacidades de adsorção no instante 't' e no equilíbrio, respectivamente (mg g<sup>-1</sup>), e  $k_1$  é a constante cinética do modelo PPO (min<sup>-1</sup>). Após integrar a equação 2 em função do tempo, a equação pode ser rearranjada e a cinética de PPO pode ser representada pela Equação 3 (SKODRAS et al., 2008):

$$q_t = q_1 \left( 1 - exp(k_1 t) \right) \tag{3}$$

Onde  $q_1$  é o valor da capacidade de adsorção (mg g<sup>-1</sup>) obtido através do modelo PPO. O modelo cinético PSO inclui na mesma equação os coeficientes interno e externo de transferência de massa, e geralmente é mais utilizado em processos de quimiosorção (SKODRAS et al., 2008). Este modelo pode ser expresso de acordo com a Equação 4 (QIU et al. 2009):

$$\frac{dq_t}{dt} = k_2 (q_e - q_t)^2 \tag{4}$$

Onde  $k_2$  é a constante cinética do modelo PSO (g mg<sup>-1</sup>min<sup>-1</sup>). Após integração em função do tempo, a cinética de PSO pode ser representada pela Equação 5 (SKODRAS et al., 2008):

$$q_t = \frac{t}{\binom{1}{k_2 q_2^2} + \binom{t}{q_2}}$$
(5)

### 3.5.2 Isotermas de equilíbrio

Isotermas de adsorção são curvas e/ou equações matemáticas utilizados para descrever o comportamento da adsorção de solutos por sólidos, a temperatura constante. Uma isoterma de adsorção mostra a quantidade de determinado soluto adsorvida por uma superfície adsorvente, em função da concentração de equilíbrio do soluto. Essas isotermas são fundamentalmente importantes, pois fornecem a capacidade máxima de adsorção de determinado adsorvente (PATEL; HOTA, 2016). Blázquez et al. (2010) apresentou cinco principais tipos característicos de isotermas de adsorção em fase líquida (Figura 7). Segundo os autores, a forma da isoterma depende do adsorvente, do adsorbato e das ligações intermoleculares entre os dois.

A isoterma do tipo I apresenta um limite na capacidade de adsorção que corresponde à formação de uma camada monomolecular em adsorventes não porosos ou microporosos. As isotermas do tipo II e III descrevem a adsorção em multicamadas geralmente em adsorventes com grande variedade de tamanho de poros (macroporos). As do tipo IV são relativas a adsorção em multicamadas via condensação em mesoporos. As curvas do tipo V descrevem

comportamento similar ao tipo IV, considerando interações fortes e/ou fracas entre o adsorvente e o adsorbato (BLÁZQUEZ et al., 2010).



Figura 7 - Principais tipos característicos de Isotermas de adsorção

Fonte: Adaptado de BLÁZQUEZ et al. (2010)

As equações de isotermas são utilizadas para descrever o equilíbrio de adsorção dos dados experimentais. Há diversos modelos disponíveis de isotermas, que incluem Langmuir, Freundlich, BET, Tóth, Temkin, Redlich-Peterson, SIPs, Frumkin, Harkins-Jura, Halsey, Henderson e Dubinin-Radushkevich (CRINI; BADOT, 2008). Os modelos mais comumente utilizados para descrever as isotermas de adsorção são os modelos de Langmuir e de Freundlich. A isoterma de Freundlich é uma equação empírica utilizada para sistemas heterogêneos, que considera o processo de adsorção como multicamada com distribuição energética heterogênea de sítios ativos, acompanhado de interações entre moléculas adsorvidas (LIU et al., 2015). A heterogeneidade é caracterizada pelo fator 1/n, e a forma linear da isoterma de adsorção de Freundlich pode ser expressa pela Equação 6:

$$q_e = k_F C_e^{1/n} \tag{6}$$

Sendo que q<sub>e</sub> é a capacidade de adsorção de equilíbrio (mg g<sup>-1</sup>), C<sub>e</sub> é a concentração de equilíbrio da solução de adsorvato (mg L<sup>-1</sup>), k<sub>F</sub> é a constante de Freundlich ((mg g<sup>-1</sup>)(L mg<sup>-1</sup>)<sup>1/n</sup>) e 1/n é o fator de heterogeneidade.

O modelo de isoterma de Langmuir assume que a adsorção ocorre em locais específicos, homogêneos e energeticamente idênticos, e baseia-se na hipótese física de que a capacidade máxima de adsorção consiste de uma adsorção em monocamada em que não há interação entre as moléculas adsorvidas (AL-WAKEEL; EL MONEM; KHALIL 2015; PATEL; HOTA, 2016). Dessa forma, quando uma molécula atinge determinado sítio não ocorre adsorção adicional no mesmo local. Tendo o adsorvente uma capacidade finita de adsorver determinada substância, a saturação da monocamada (com Ce $\rightarrow\infty$ ) pode ser representada pela Equação 7 (ZHANG et al., 2010):

$$q_e = \frac{q_m k_L C_e}{1 + k_L C_e} \tag{7}$$

Sendo  $q_m$  a capacidade máxima de adsorção na monocamada (mg g<sup>-1</sup>),  $k_L$  a constante de equilíbrio de adsorção de Langmuir (L mg<sup>-1</sup>),  $q_e$  a capacidade de adsorção no equilíbrio (mg g<sup>-1</sup>) e C<sub>e</sub> a concentração de equilíbrio do adsorvato (mg L<sup>-1</sup>). Outra característica importante da isoterma de adsorção de Langmuir é o fator de separação ou fator de equilíbrio (R<sub>L</sub>), expresso pela Equação 8:

$$R_L = \frac{1}{1 + k_L C_e} \tag{8}$$

Onde valores de RL>1 indicam que o processo é desfavorável, RL=1 indicam uma isoterma linear, 0<RL<1 indicam que o processo é favorável e RL=0 indica que o processo é irreversível (PATEL; HOTA, 2016).

## 3.6 HISTÓRICO DA LINHA DE PESQUISA

Desde 1996 o Laboratório de Engenharia Bioquímica (LEB) da Universidade Federal do Rio Grande (FURG) pesquisa tecnologias para o cultivo de microalgas. Dentre as diversas pesquisas, já foram estudados cultivos descontínuos e semi-contínuos, em fotobiorreatores abertos e fechados (MOREIRA; COSTA; MORAIS, 2016); biofixação de CO<sub>2</sub> utilizando microalgas (MORAIS; RADMANN; COSTA, 2011; ROSA et al., 2016; MORAES et al., 2018) e o cultivo de microalgas com gás de combustão e com cinzas de origem termelétrica como fontes de nutrientes (BRAGA et al., 2019a, 2019b; DUARTE; FANKA; COSTA, 2016; DUARTE et al., 2017; VAZ; COSTA; MORAIS, 2016a, 2016b). Em 2004 iniciou um convênio entre o LEB, a ELETROBRÁS (Centrais Elétricas Brasileiras S. A.) e a CGTEE (Companhia de Geração Térmica de Energia Elétrica), localizada no município de Candiota – RS, para

desenvolvimento de tecnologia de biofixação do CO<sub>2</sub>, originado na combustão do carvão mineral para geração de energia elétrica, por microalgas. Como produto deste convênio foi projetada, montada e colocada em operação a Planta Piloto de Biofixação de CO<sub>2</sub> por microalgas. Foram isoladas diferentes cepas de microalgas nativas de lagoas próximas à CGTEE apresentando alta tolerância aos gases emitidos (DUARTE et al., 2017; MORAIS; COSTA, 2007; MORAIS et al., 2008; RADMANN et al, 2011). Estas microalgas foram estudadas em escala laboratorial quanto à biofixação de CO<sub>2</sub> e depois foram colocadas em operação na Planta Piloto. Em 2008, através de mais uma parceria entre o LEB e a ELETROBRÁS – CGTEE deu-se início ao projeto Aqüicultura de microalgas para a biofixação do gás carbônico gerado na queima do carvão e co-geração de biodiesel e bioprodutos de alto valor agregado. Em 2012, uma nova parceria foi estabelecida para biofixação do CO<sub>2</sub> em escala piloto, onde o novo projeto permitiu o desvio do gás carbônico antes de entrar na chaminé, por um gasoduto até os tanques de cultivo das microalgas.

A linha de pesquisa de desenvolvimento de nanofibras pelo método de *electrospinning* teve início em 2007 no LEB, onde foram desenvolvidas nanofibras utilizando biopolímeros extraídos de biomassa microalgal (MORAIS et al, 2010). Em 2014 o Laboratório de Microbiologia e Bioquímica (MIBI) da FURG em parceria com o LEB iniciou as pesquisas para produção de nanofibras para aplicações na área de alimentos, dentre outras. As pesquisas já realizadas envolvem estudos das condições do processo de *electrospinning* para desenvolvimento de nanofibras, bem como a caracterização das nanofibras formadas; a adição de compostos bioativos no desenvolvimento de nanofibras poliméricas e de *scaffolds* (FIGUEIRA et al., 2016; GONÇALVES et al., 2017; SCHMATZ et al., 2016; UEBEL et al., 2016), a atividade antimicrobiana de nanofibras produzidas com biopolímero e compostos fenólicos de origem microalgal (KUNTZLER et al., 2018a; KUNTZLER et al., 2018b) e o desenvolvimento de indicadores de pH de nanofibras contendo biocompostos de origem microalgal para aplicação em embalagens inteligentes (MOREIRA et al., 2019) e ativas (MOREIRA et al., 2018).

Neste contexto, a biofixação de CO<sub>2</sub> por microalgas através do cultivo com nanofibras poliméricas como adsorventes do gás, vem consolidar a união das duas linhas de pesquisa de nossa equipe LEB e MIBI, que são a Biotecnologia de Microalgas e Engenharia de Nanofibras, bem como contribui com nova e promissora tecnologia envolvendo bioprocessos e nanomateriais, com grande potencial para maximizar a eficiência de biofixação do CO<sub>2</sub> por microalgas e reduzir os efeitos desse gás para o meio ambiente.

CAPÍTULO III

## DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO

O trabalho foi dividido em três etapas, as quais originaram três artigos: **ARTIGO 1 -** TECNOLOGIA INOVADORA DE NANOFIBRA PARA MELHORAR A BIOFIXAÇÃO DE DIÓXIDO DE CARBONO NO CULTIVO DE MICROALGAS

# **ARTIGO 2 -** CULTIVO DE ALGA VERDE COM NANOFIBRAS COMO ADSORVENTE FÍSICO DE CO<sub>2</sub>: AVALIAÇÃO DA BIOFIXAÇÃO DO GÁS E PRODUÇÃO DE MACROMOLÉCULAS

**ARTIGO 3** - FIXAÇÃO FÍSICA E BIOLÓGICA DE CO<sub>2</sub> COM NANOFIBRAS POLIMÉRICAS EM CULTIVOS OUTDOOR DE *Chlorella fusca* LEB 111

Na primeira etapa foi estudado o desenvolvimento de nanofibras poliméricas de PAN com e sem incorporação de NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> pela técnica de *electrospinning*, onde foi avaliada a influência de diferentes parâmetros do processo de *electrospinning* na produção das nanofibras, bem como, o efeito de diferentes concentrações da solução polimérica PAN/DMF e de NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> no desenvolvimento das nanoestruturas. Nessa etapa as nanofibras foram caracterizadas através de análises microscópicas, térmicas, química e físicas, para selecionar a melhor condição para os próximos estudos. Após foi estudada a capacidade de adsorção e dessorção de CO<sub>2</sub> das nanofibras poliméricas com NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> selecionadas com base nas melhores características para adsorção. Ainda nessa etapa foram realizados estudos inciais de cultivos de Chlorella fusca LEB 111 com adição das nanofibras com NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, vizando avaliar o efeito na biofixação de CO<sub>2</sub> pela microalga. Na segunda etapa, as nanofibras foram adicionadas aos cultivos de C. fusca LEB 111 com e sem NPsFe2O3, em diferentes concentrações e dispostas livres ou retidas em fotobiorreatores erlenmeyers no meio de cultivo. Os cultivos foram realizados inicialmente por 5 dias, visando selecionar a melhor condição quanto à biofixação de CO<sub>2</sub> para cultivos posteriores. Após foram realizados cultivos por 15 dias com o objetivo de avaliar também a produção de macromoléculas pela microalga Chlorella cultivada com os adsorventes físicos de CO<sub>2</sub>. A última etapa consistiu no estudo de cultivos de Chlorella fusca LEB 111 em condições indoor e outdoor em fotobiorreatores tubulares verticais, com adição de diferentes concentrações de nanofibras poliméricas com NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, visando maximizar a biofixação do gás no cultivo e avaliar o efeito das nanofibras como adsorventes na produção de macromoléculas.

ARTIGO 1

TECNOLOGIA INOVADORA DE NANOFIBRA PARA MELHORAR A BIOFIXAÇÃO DE DIÓXIDO DE CARBONO NO CULTIVO DE MICROALGAS

#### **RESUMO**

Este trabalho teve por objetivo desenvolver nanofibras contendo nanopartículas com potencial para fixação biológica de CO<sub>2</sub> pela microalga Chlorella fusca LEB 111. A técnica de electrospinning foi utilizada para produção das nanofibras poliméricas com diferentes concentrações de nanopartículas de óxido de ferro (NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>). O polímero utilizado foi o poliacrilonitrila (PAN) e solvente dimetilformamida (DMF) (10% (m v<sup>-1</sup>)). As nanofibras com e sem NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> foram caracterizadas quanto a morfologia, tamanho, propriedades texturais e modelos de adsorção cinética e no equilíbrio, para avaliar a capacidade de adsorção (q) das nanoestruturas. Os diâmetros médios das nanofibras 10% (m v<sup>-1</sup>) PAN/DMF contendo 0, 2, 4, 6, 8, 10% (m v<sup>-1</sup>) de NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> foram 689, 480, 434, 633, 660 e 629 nm, respectivamente. Nanofibras com 4% (m v<sup>-1</sup>) de NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> foram selecionadas para utilização no cultivo microalgal porque apresentaram diâmetro reduzido (434 nm), maior volume de poros na faixa de mesoporos, maior área de superfície específica de 13,8 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup> e maior capacidade de adsorção de CO<sub>2</sub> de 164,2 mg g<sup>-1</sup>, em relação as demais nanofibras com diferentes concentrações de NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. O modelo de adsorção Pseudo-primeira-ordem (PPO) foi o mais adequado para representar os dados cinéticos de adsorção (q=336,4 mg g<sup>-1</sup>) das nanofibras com 4% NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Os dados de equilíbrio, de acordo com a isoterma de Langmuir, mostraram que as nanofibras com 4% NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> tem capacidade máxima de adsorção de CO<sub>2</sub> de 1149,3 mg g<sup>-1</sup>. A microalga C. fusca LEB 111 apresentou maior taxa de biofixação de CO<sub>2</sub> de 216,2 mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>, quando cultivada com as nanofibras contendo 4% (m v<sup>-1</sup>) de NpsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Dessa forma, a utilização das nanofibras com NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> como adsorventes físicos de CO<sub>2</sub> aumentou o tempo de contato entre o gás e o micro-organismo e, consequentemente houve maior biofixação do CO<sub>2</sub> pela microalga.

**Palavras-chave:** Adsorvente físico. Dióxido de carbono. *Chlorella fusca* LEB 111. *Electrospinning*. Fixação de CO<sub>2</sub>.

# 1 INTRODUÇÃO

O aumento da concentração de  $CO_2$  atmosférico é considerado uma das principais causas do efeito estufa, sendo as usinas termelétricas responsáveis por cerca de 22% das emissões desse gás. As microalgas são responsáveis por aproximadamente 40% da fotossíntese global, necessitando de  $CO_2$  para crescer e assim reduzir a concentração do gás na atmosfera (JOHANSEN, 2012). Entretanto, no cultivo de microalgas, a fonte de carbono deve ser suficientemente fornecida para evitar limitação de crescimento, e a transferência de  $CO_2$  no meio de cultivo deve ser eficiente, porque o  $CO_2$  não dissolvido é perdido (BABCOCK; MALDA; RADWAY, 2002).

A fixação de CO<sub>2</sub> em materiais adsorventes está se tornando cada vez mais importante no campo da energia e meio ambiente. Alta capacidade de adsorção pode ser obtida utilizando materiais com elevadas propriedades texturais, como alta porosidade. Esta é uma das razões que, nos últimos anos, direcionou a pesquisa para utilização de materiais nanoporosos (GARGIULO; PEPE; CAPUTO, 2014). Nanofibras poliméricas fabricadas por *electrospinning* têm estrutura porosa única, elevada área de superfície e propriedades mecânicas potencializadas através da redução do tamanho, assim, apresentam potencial como adsorventes avançados para a captura e armazenamento de CO<sub>2</sub> (DING; YU, 2014). O uso de nanofibras como adsorventes físicos de CO<sub>2</sub> no cultivo de microalgas pode fixar o gás no meio de cultivo, aumentando o tempo de contato com o micro-organismo. Além disso, dependendo da composição polimérica das nanofibras, após a liberação gradativa do CO<sub>2</sub>, as fibras poderiam ser utilizadas como fonte de carbono e/ou nutrientes para as microalgas.

Nanopartículas de metais ou óxidos de metais podem ser incorporadas em nanofibras para formar nanoestruturas compósitas funcionais que podem incrementar a eficiência de adsorção. Estas nanoestruturas melhoram a difusão e interação de moléculas, a transferência do CO<sub>2</sub> ao longo da matriz polimérica e funcionalização dos compostos estruturais, aumentando a eficiência de adsorção devido à elevada porosidade do material (LUOH; RAHN, 2006; SUNDARAMURTHY et al., 2014). Além dos métodos convencionais para aumentar a biofixação de CO<sub>2</sub> microalgal através da manipulação das condições de cultivo como a fixação de CO<sub>2</sub> utilizando absorventes químicos (CARDIAS; MORAIS; COSTA, 2018; ROSA et al., 2015; ROSA et al., 2016; ROSA; MORAIS; COSTA, 2018), este novo estudo sobre a biofixação de CO<sub>2</sub> utilizando nanofibras como adsorventes físicos é promissora, com a vantagem da separação da biomassa de microalgas das nanoestruturas ao final do cultivo. Além

disso, o CO<sub>2</sub> pode ficar em contato com a microalga por mais tempo e pode ser disponibilizado durante todo o cultivo, maximizando assim a biofixação do gás no cultivo de microalgas. Com base nisso, o objetivo deste estudo foi desenvolver nanofibras poliméricas contendo nanopartículas de óxido de ferro (NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) com potencial para promover a fixação biológica de CO<sub>2</sub> pela microalga *Chlorella fusca* LEB 111.

# 2 MATERIAL E MÉTODOS

## 2.1 MATERIAIS E PREPARO DAS SOLUÇÕES POLIMÉRICAS

O polímero poliacrilonitrila (PAN, PM 150,000 g mol<sup>-1</sup>) e nanopartículas de óxido de ferro (NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, ~ 50 nm de diâmetro) foram adquiridos pela Sigma-Aldrich® (USA). O solvente utilizado foi o N, N-dimetilformamida (DMF) P.A. As soluções poliméricas foram preparadas nas concentrações 5, 10 e 15% (m v<sup>-1</sup>) de PAN/DMF. As NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> foram adicionadas nas nanofibras nas concentrações 0, 2, 4, 6, 8 e 10% (m v<sup>-1</sup>). A mistura polimérica PAN/DMF foi homogeneizada em agitador magnético (FISATOM 753A, Brasil) e as NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> foram homogeneizadas por 40 min nas soluções poliméricas com banho ultrassônico (QUIMIS Q3350, Brasil).

## 2.2 PRODUÇÃO DE NANOFIBRAS POLIMÉRICAS POR ELECTROSPINNING

As nanofibras poliméricas com diferentes concentrações de nanopartículas foram produzidas pela técnica de *electrospinning*. Para definir os parâmetros do processo de *electrospinning*, as soluções poliméricas foram injetadas através de capilar com diâmetro de 0,45, 0,55, 0,70 e 0,80 mm; as distâncias do coletor ao capilar foram variadas de 100 a 180 mm; o potencial elétrico entre 15 e 25 kV e a taxa de alimentação da solução entre 100 e 2000  $\mu$ L h<sup>-1</sup>. Todo os processos foram conduzidos a 20-23 °C e umidade relativa entre 50 e 58%.

## 2.3 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOFIBRAS

## 2.3.1 Morfologia e tamanho

As formas e diâmetros das nanofibras com diferentes concentrações de nanopartículas foram avaliadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) (JEOL JSM 6610LV, Japão),

onde foram realizadas 30 medidas do tamanho do diâmetro. Antes das análises, as amostras foram recobertas com ouro através de pulverização (Denton Vacuum 111 CAR001-0038, USA). Microscopia eletrônica de transmissão (MET) (JEOL JEM 1400 120KV) foi utilizada para avaliar as formas das NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> e sua incorporação nas nanofibras.

## 2.3.2 Análises térmicas

Análises termogravimétrica (TGA) (Shimadzu DTG-60, Japan) e calorimetria diferencial de varredura (DSC) (Shimadzu DSC-60, Japan) foram realizadas para avaliar o comportamento térmico das nanofibras com diferentes concentrações de NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. A análise TGA foi conduzida de 30°C até 600 °C, com taxa de aquecimento de 10°C min<sup>-1</sup> e sob atmosfera de nitrogênio de 30 ml min<sup>-1</sup>. Para as análises DSC as amostras foram aquecidas de 25 a 400 °C, com taxa de aquecimento de 50 ml min<sup>-1</sup>.

#### 2.3.3 Caracterização estrutural

Mudanças na estrutura molecular das nanofibras poliméricas com diferentes concentrações de NpsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> foram avaliadas por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier. O espectrofotômetro (IR Prestige-21, Shimadzu Corp., Japão) foi utilizado para determinar a presença de grupos funcionais nas nanofibras com NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> com medidas na faixa de 4000 a 400 cm<sup>-1</sup>, 45 varreduras e resolução de 4 cm<sup>-1</sup>.

## 2.3.4 Caracterização textural

A área de superfície específica foi determinada pelo método de Brunauer, Emmett, Teller (BET)/N<sub>2</sub> (BRUNAUER; EMMETT; TELLER, 1938) e a distribuição de tamanho de poros pelo método de Barret, Joyner, Halenda (BJH) (BARRET; JOYNER, HALENDA, 1951) em analisador de superfície Autosorb (Quantachrome, Nova 1000e, EUA), com gás N<sub>2</sub> 5.0 como adsorvente e N<sub>2</sub> líquido como meio de refrigeração. Todas as amostras foram secas a 110°C por 24 h e depois durante 3 h sob vácuo a 300°C.

## 2.4 EXPERIMENTOS DE ADSORÇÃO/DESSORÇÃO

Para investigar o potencial adsorvente das nanoestruturas, 50 mg das nanofibras com diferentes concentrações de NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> foram mantidas em 50 mL de solução aquosa, contendo 350 mg L<sup>-1</sup> de gás CO<sub>2</sub> dissolvido (White Martins, Brasil) por uma hora. Todos os experimentos

de adsorção foram realizados em shaker termostatizado (INNOVA<sup>®</sup>, EUA) a 50 rpm com temperatura controlada a 20°C. Então, as nanofibras contendo nanopartículas que mais adsorveram CO<sub>2</sub> foram selecionadas para um estudo mais aprofundado. Curvas cinéticas (tempo de contato de 0 a 210 min) e curvas de equilíbrio de adsorção (20°C) das melhores nanofibras foram obtidas. As concentrações de CO<sub>2</sub> nas soluções aquosas foram determinadas por titulação volumétrica com hidróxido de sódio e indicador ácido-base fenolftaleína. Todos os experimentos de adsorção foram realizados em triplicata. A capacidade de adsorção ao longo do tempo ( $q_t$ , mg g<sup>-1</sup>) foi determinada pela Equação  $q_t = V (C_0 - C_t) m^{-1}$ . A capacidade de adsorção no equilíbrio ( $q_e$ , mg g<sup>-1</sup>) foi obtida através da equação  $q_e = V (C_0 - C_e) m^{-1}$ , onde C<sub>0</sub>, Ce e C<sub>t</sub> são as concentrações inicial, no equilíbrio e ao longo do tempo (mg L<sup>-1</sup>) do CO<sub>2</sub> na solução aquosa, V é o volume de solução (L) e m é a massa de adsorvente (g).

A equação do modelo pseudo-primeira ordem (PPO)  $q_t = q_1(1 - exp(-k_1t))$ e equação do modelo pseudo-segunda ordem (PSO)  $q_t=(t)((1/k_2q_2^2)+(t/q_2))^{-1}$ foram utilizadas para fazer o ajuste dos dados cinéticos, onde  $k_1$  (min<sup>-1</sup>) e  $k_2$  (g mg<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>) são as taxas constantes dos modelos PPO e PSO, respectivamente,  $q_1 e q_2$  (mg g<sup>-1</sup>) são os valores teóricos para a capacidade de adsorção. Os modelos de Freundlich ( $q_e = k_f C_e^{1/n_f}$ ) e Langmuir ( $q_e = (q_m K_L C_e)(1 + K_L C_e)^{-1}$ ) foram utilizados para ajustar os dados de equilíbrio e quantificar as propriedades de adsorção das nanofibras contendo nanopartículas, onde  $k_f$  é a constante de Freundlich (mg g<sup>-1</sup>)(mg L<sup>-1</sup>)<sup>-1/nF</sup>, 1/n<sub>F</sub> é o fator de heterogeneidade,  $q_m$  é a capacidade de adsorção máxima (mg g<sup>-1</sup>) e K<sub>L</sub> é a constante de Langmuir (L mg<sup>-1</sup>).

Para avaliar a dessorção de  $CO_2$  e reutilização das nanofibras foram realizados testes consecutivos de adsorção-dessorção. Os experimentos de dessorção foram realizados com 50 mL de solução eluente com pHs 5, 5,5 e 6 (HCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>), em triplicata. A solução eluente foi misturada com 50 mg de nanofibras (com 4% NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> e CO<sub>2</sub> adsorvido) e foi agitada a 50 rpm por 20 min a 20°C, em shaker termostatizado (INNOVA<sup>®</sup>, EUA). Os ciclos de adsorção e dessorção foram repetidos por 4 vezes.

## 2.5 MICRO-ORGANISMO, MEIO DE CULTIVO E CONDIÇÕES DE CULTIVO

O micro-organismo utilizado para cultivo foi a microalga *Chlorella fusca* LEB 111, obtida do banco de cepas do Laboratório de Engenharia Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande (FURG). O meio de cultivo utilizado para manutenção do inóculo e cultivo foi o BG 11 (RIPKA et al., 1979) modificado, onde a fonte de carbono do meio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) foi

substituída por 15% (v v<sup>-1</sup>) de gás CO<sub>2</sub> comercial (White Martins, Brazil). Para adaptação da microalga ao CO<sub>2</sub>, o inóculo foi mantido previamente em meio sem fonte de carbono com injeção de 2% (v v<sup>-1</sup>) de CO<sub>2</sub> a cada 1 h na fase clara por 7 dias.

Os cultivos descontínuos foram realizados em fotobiorreatores erlenmeyers de 0,5 L, com volume útil de 0,45 L e concentração de biomassa inicial de 0,2 g L<sup>-1</sup>. A temperatura foi mantida a 25 °C em câmara termostatizada, com fotoperíodo de 12 h claro/escuro (REICHERT; REINEHR; COSTA, 2006). A iluminância foi fornecida por lâmpadas fluorescentes do tipo luz do dia de 40 W, que fornecem uma luminosidade de 41,6  $\mu$ mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. A aeração foi realizada através de ar estéril, que foi injetado aos cultivos através de aspersor de pedra porosa, fixado na base dos biorreatores, com vazão de 0,3 vvm (mL<sub>mistura</sub> mL<sub>meio</sub><sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>). O gás foi injetado nos cultivos a cada 1 h por 1 min durante a fase clara de crescimento (12 h) (ROSA et al., 2018). As nanofibras poliméricas com 4% de NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> foram adicionadas aos cultivos na concentração de 0,5 g L<sup>-1</sup>. Os cultivos foram realizados em duplicata por 5 dias, e experimentos controle foram realizados sem a microalga.

# 2.6 DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS, PARÂMETROS DE CRESCIMENTO E BIOFIXAÇÃO DE CO<sub>2</sub>

A concentração de biomassa, monitorada diariamente, foi determinada por medida da densidade ótica a 670 nm em espectrofotômetro (UVmini 1240, SHIMADZU, Japão), com curva de calibração que correlaciona densidade ótica com peso seco de biomassa para cada microalga (RADMANN; REINEHR; COSTA, 2007). A concentração de biomassa ao final dos cultivos foi quantificada por peso seco, sendo descontada a massa de nanofibras adicionada aos cultivos (0,5 g L<sup>-1</sup>) para contabilizar o peso total somente de biomassa microalgal. O pH dos cultivos foi determinado a cada 24 h com pHmetro digital (Mettler Toledo FiveGo<sup>TM</sup>, Switzerland). Os valores de concentração de biomassa foram utilizados para determinar a concentração de biomassa máxima ( $X_{máx}$ , mg L<sup>-1</sup>) e produtividade ( $P_X$ , mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>) (SCHMIDELL et al., 2001). A produtividade da biomassa foi calculada de acordo com a equação  $P_X=(X-X_0)$  (t-t<sub>0</sub>)<sup>-1</sup>, onde X<sub>t</sub> é a concentração de biomassa (mg L<sup>-1</sup>) no tempo t (d), e X<sub>0</sub> é a concentração de biomassa (mg L<sup>-1</sup>) no tempo t<sub>0</sub> (d).

A alcalinidade foi determinada a cada 24 horas por titulação potenciométrica com pHmetro digital (Mettler Toledo FiveGo<sup>TM</sup>, Switzerland) (APHA, 1998). A concentração de carbono inorgânico dissolvido (CID, mg L<sup>-1</sup>) foi calculada pela determinação da alcalinidade e pH, seguindo as equações de equilíbrio utilizadas por Brune e Novak (1981) e Rubio et al.

(1999), como demonstrado por Rosa et al. (2015). A concentração de CID acumulado (CID<sub>ac</sub>) foi determinada pela equação  $CID_{ac}=CID_{tf} - CID_{t0}$ , onde  $CID_{tf}$  é a concentração CID no tempo final dos experimentos e  $CID_{t0}$  é a concentração no ínicio dos experimentos. A taxa de biofixação de CO<sub>2</sub> (R, mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>) foi calculada de acordo com a equação R= P<sub>X</sub> X<sub>cbm</sub> M<sub>CO2</sub> M<sub>C</sub><sup>-1</sup> (TOLEDO-CERVANTES et al., 2013), onde utilizou-se os valores de P<sub>X</sub> (mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>), as massas molares do CO<sub>2</sub> (M<sub>CO2</sub>, g mol<sup>-1</sup>) e do carbono (M<sub>C</sub>, g mol<sup>-1</sup>), e a fração de carbono (X<sub>cbm</sub>) na biomassa microalgal foi de 50% (m m<sup>-1</sup>) (CHANG; TSAI; LI, 2015).

## 2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram avaliados por análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey para comparação das médias com nível de confiança de 95%.

#### **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Nanofibras poliméricas uniformes de 689 nm (Tabela 1) foram produzidas com 10% (m  $v^{-1}$ ) de PAN com DMF, utilizando o processo de *electrospinning* com potencial elétrico de 25 kV, vazão da solução polimérica de 500 µL h<sup>-1</sup>, distância do capilar ao coletor de 140 mm e diâmetro do capilar de 0,70 mm. As condições do *electrospinning* foram definidas com base na obtenção de nanofibras uniformes e com menor diâmetro. Com 5% (p/v) de solução polimérica foram obtidas nanofibras com muitas gotas (Figura A1), e com 15% (p/v) de PAN/DMF, o polímero não solubilizou.

A adição de 2 e 4% de NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> reduziu significativamente (p<0,05) o diâmetro das nanofibras poliméricas 10% PAN/DMF. Com 4% de NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> houve redução do diâmetro das nanofibras em aproximadamente 37% em comparação com a amostra sem nanopartículas. Kim et al. (2007) obtiveram redução de 30% no diâmetro de nanofibras 10% PAN/DMF com adição de 4% NpsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Neste estudo, com a adição das nanopartículas (NPs) nessas concentrações foram obtidas nanofibras contínuas e livres de grânulos em sua estrutura. Com adição de 6% ou mais NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, os diâmetros das nanofibras poliméricas aumentaram significativamente em comparação com aqueles com adições de 4% de NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Tabela 1) devido à aglomeração de NPs ao longo da estrutura das nanofibras.

Amostras	D	AS	VP	Nanofibras
10% PAN/DMF	689±56ª	4,9	0,029	2 µm
10% PAN/DMF + 2% Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	480 ±34 <sup>b</sup>	8,6	0,044	2 µm
10% PAN/DMF + 4% Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	434±40°	13,8	0,039	
10% PAN/DMF + 6% Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	633±69 <sup>d</sup>	6,7	0,048	
10% PAN/DMF + 8% Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	660±50 <sup>ad</sup>	9,5	0,062	2 m
10% PAN/DMF + 10% Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	629±56 <sup>d</sup>	8,3	0,136	

**Tabela 1** - Diâmetros (D, nm), áreas de superfície (AS,  $m^2g^{-1}$ ) e volumes de poros (VP,  $cm^3g^{-1}$ ) das nanofibras com diferentes concentrações de NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> sob ampliação de 5500x.

Letras iguais na mesma coluna indicam que os resultados não diferem estatisticamente com nível de 95% de confiança. Tamanho médio obtido de 30 medidas em MEV.

Na Figura 1a observa-se o tamanho reduzido ( $\leq 100$  nm) das NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> que foram adicionadas em diferentes concentrações nas nanofibras. De acordo com Ding e Yu (2014) as nanopartículas podem ser incorporadas em solução polimérica para produzir nanoestruturas compósitas funcionais. Essas estruturas aumentam a eficiência de adsorção e/ou captura de CO<sub>2</sub>, devido à redução do tamanho das nanofibras e a maior porosidade do material. Dessa forma, essas NPs conduzem ao menor diâmetro do jato polimérico e assim reduzem o diâmetro das nanofibras, que consequentemente têm maior área de superfície para adsorção de CO<sub>2</sub>. Na Figura 1b podem ser observadas as NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> incorporadas na superfície e também no interior das nanofibras.

Figura 1 - Nanopartículas de Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (a) e nanofibras com 10% PAN/DMF contendo nanopartículas de Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, circuladas (b)



Essas nanopartículas além de reduzir o diâmetro e aumentar a porosidade, melhoram a difusão do adsorvato, a transferência de moléculas de CO<sub>2</sub> ao longo da matriz e funcionalização devido à formação de grupos funcionais, resultando em aumento da capacidade de adsorção. Isto ocorre devido ao tamanho reduzido das NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> e à repulsão eletrostática entre as nanofibras e nanopartículas, resultante do aumento das cargas devido à adição dessas nanoestruturas (LUOH; RAHN, 2006).

A área de superfície específica das nanofibras de 10% PAN/DMF aumentou de 4,9 m<sup>2</sup>g<sup>-1</sup> para 13,8 m<sup>2</sup>g<sup>-1</sup> quando adicionou-se 4% de NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Tabela 1), o que era esperado, pois a relação área de superfície/volume aumenta com a redução do diâmetro das nanofibras. Alta área de superfície específica é um dos principais requisitos para obtenção de adsorventes adequados, pois fornece locais de adsorção maiores e mais facilmente acessíveis, com operações de alto fluxo (HARDICK et al., 2015). Nalbandian et al. (2016) produziram nanofibras de Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> e observaram o aumento da área de superfície específica com a diminuição do diâmetro das nanofibras. Além disso, a alta área superficial das nanofibras com NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> sugere que os locais de adsorção adicionais estão disponíveis devido as nanopartículas que se ligam à superfície das nanofibras (ASMALY et al., 2015).

Nas nanofibras com 4% NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> houve aumento no volume de poros de aproximadamente 33% comparado com as nanofibras sem NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Tabela 1). A distribuição do diâmetro de poros (Figura 2a), mostrou que todas as nanofibras apresentaram volume de poros semelhantes, com diâmetros médios dos poros entre 4 e 10 nm. De Acordo com a International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC), diâmetros entre 2 e 50 nm são característicos de mesoporos. Dessa forma, estes tamanhos de poros podem permitir maior capacidade de adsorção de gás CO<sub>2</sub> em comparação com microporos (diâmetro < 2nm).

Figura 2 - Curvas de distribuição do tamanho dos poros das nanofibras com diferentes concentrações de NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (a) e isotermas de adsorção e dessorção de N<sub>2</sub> das nanofibras com diferentes concentrações de NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (b) (Δ - 10% PAN/DMF; ○ - 10% PAN/DMF + 2% Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>; ◊ - 10% PAN/DMF + 4% Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>; ∇ -10% PAN/DMF + 6% Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>; ▷ - 10% PAN/DMF + 8% Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>; □ - 10% PAN/DMF + 10% Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)



A adsorção de um gás por um material poroso é descrita quantitativamente por isotermas de adsorção. Essas isotermas caracterizam os materiais em relação aos tipos de poros presentes. Através das isotermas de adsorção/dessorção de BET/N<sub>2</sub>, comportamentos semelhantes podem ser observados entre os volumes de gás adsorvido por nanofibras com diferentes concentrações de NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Figura 2b). A Figura 2b mostra curvas de adsorção semelhantes às isotermas que, segundo a classificação IUPAC, são características de adsorventes mesoporosos (ALOTHMAN, 2012).

Os espectros de FTIR (Figura 3) indicaram as ligações C-H (2935 cm<sup>-1</sup> e 1165 cm<sup>-1</sup>) e C=N (2240 cm<sup>-1</sup>) característicos do polímero PAN. Em alguns espectros das nanofibras com NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> observou-se a ligação C=O (2361 cm<sup>-1</sup>) e uma redução na magnitude do pico C=N, que indica menos ligações C=N e, portanto, menores quantidades de PAN nas nanofibras. Essa redução pode ter ocorrido, pois as NPs estão homogeneizadas no polímero, ou devido a maior porosidade das nanofibras com NPs em comparação àquelas contendo somente PAN (LUOH; RAHN, 2006). A redução na intensidade dos picos também foi uniforme nos demais números de onda, sugerindo que as partículas de Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> foram dispersas ao longo das nanofibras. No entanto, a adição de concentrações mais altas de NPs não resultou em reduções proporcionais nas intensidades dos picos características do polímero.

**Figura 3** - Espectros de FTIR das nanofibras 10% PAN/DMF contendo (a) sem NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, (b) 10% NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, (c) 8% NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, (d) 6% NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, (e) 4% NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, (f) 2% NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>



A grande redução inicial nas intensidades características do polímero PAN e o aumento do pico da ligação C=O é o resultado do aumento súbito da área de superfície específica. Esse aumento ocorreu devido a redução dos diâmetros das nanofibras (434 nm) observada após a adição de partículas. Kim et al. (2007) observaram que a adição de 4% de NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nas nanofibras de PAN também levaram ao aumento acentuado na intensidade do pico no número de onda correspondente a ligação C=O. Este aumento implica que a adição apropriada de

nanopartículas de  $Fe_2O_3$  nas nanofibras é provavelmente benéfica para a adsorção de  $CO_2$  devido à mudança nos grupos funcionais nas nanofibras (KIM et al., 2007).

As análises termogravimétricas (TGA) mostraram padrões de perda de peso em três etapas. No início, ocorreu pequena perda de massa (4%) devido ao solvente residual DMF. As nanofibras com diferentes concentrações de NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> foram termicamente estáveis até a temperatura atingir aproximadamente 310 °C (Tabela 2). Zhu et al. (2011) e Alarifi et al. (2015) observaram que as nanofibras de PAN foram termicamente estáveis até a temperatura atingir 292 °C e 302 °C, respectivamente. Neste estudo, maior estabilidade térmica foi observada, uma vez que a perda de massa causada por reações pirolíticas das nanofibras 10% PAN ocorreu a partir de 319 °C.

**Tabela 2** - Perda de massa (P<sub>m</sub>, %), temperatura inicial de degradação (T<sub>0</sub>, °C), temperatura de máxima degradação (T<sub>máx</sub>, °C), temperatura final de degradação (T<sub>f</sub>, °C), temperatura do pico exotérmico (T<sub>p</sub>-exo, °C) e entalpia de processo exotérmico ( $\Delta$ H, Jg<sup>-1</sup>) das nanofibras 10% PAN/DMF com diferentes concentrações de NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

Amostra	TGA				DSC	
	$\mathbf{P}_{\mathrm{m}}$	To	T <sub>máx</sub>	$T_{\mathrm{f}}$	T <sub>p</sub> -exo	$\Delta H$
10% PAN/DMF	15	319	328	364	328	152
10% PAN/DMF + 2% Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	17	314	321	356	326	418
10% PAN/DMF + 4% Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	9	325	338	365	328	425
10% PAN/DMF + 6% Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	18	314	316	339	324	448
10% PAN/DMF + 8% Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	14	315	321	359	325	452
10% PAN/DMF + 10% Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	12	310	316	340	328	320

De acordo com Boulet et al. (2015), a ciclização das nanofibras de PAN prossegue antes de qualquer perda de massa, e a formação de anéis aromáticos é responsável pelo processo de ciclização. As reações de ciclização continuam até os grupos nitrila residuais não reagirem com outros grupos funcionais, e as reações pirolíticas das nanofibras de PAN continuam com efeitos mínimos de aquecimento e encolhimento (ALARIFI et al., 2015; XIAO et al., 2011). No início do segundo estágio de degradação térmica, ocorre perda de peso acentuada a partir de 310 °C para todas as amostras. As análises térmicas apresentaram resultados semelhantes, com aproximadamente a mesma perda de massa (Tabela 2), que mostra que a adição das NPs não

alterou a estrutura das nanofibras, de modo que não reduziu consideravelmente a estabilidade térmica.

No entanto, as nanofibras de menor diâmetro (434 nm) com 10% PAN/DMF e 4% de NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> apresentaram maiores temperaturas inicial, máxima e final, e menor perda de massa em comparação com as demais nanofibras. Esses efeitos ocorrem devido aos tamanhos reduzidos de diâmetro, e consequentemente as maiores áreas de superfície das nanofibras (13,8 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>). Dessa forma, a estabilidade térmica aumentou e a temperatura de degradação foi maior que a das outras nanofibras. Zhu et al. (2011) também observaram maior estabilidade térmica em fibras nanocompósitas devido a adição de NPs de ferro. Este aumento na estabilidade térmica é devido à forte interação entre os grupos eletronegativos –CN e NPs.

Através da análise de calorimetria diferencial (DSC) foram observados picos de temperatura exotérmicos. As reações exotérmicas geralmente incluem а desidrogenação/despolimerização, ciclização instantânea e reações de reticulação. O pico exotérmico é o resultado do ataque nucleofílico sobre um nitrilo seguido de reação de ciclização instantânea a estrutura conjugada prolongada, que corresponde ao processo de estabilização oxidativa exotérmica (ZHU et al., 2011). As nanofibras (com diferentes concentrações de NPs) apresentaram comportamentos térmicos semelhantes, iniciando reações exotérmicas a ~ 315°C, com pico a  $\sim 328^{\circ}$ C. Os resultados mostram que as temperaturas de reações exotérmicas não mudaram devido à adição de NPs, o que indica a estabilidade das nanofibras mesmo com adição de NPs. O aumento na quantidade de calor liberado (entalpia de calor exotérmico) nas nanofibras com NPsFe2O3 também indicam que não houve desordem conformacional intensificada devido a adição de NPs (ZHU et al., 2011). Esse aumento pode ter ocorrido devido a presença dos óxidos que podem intensificar as reações de degradação térmica.

Na Figura 4 observa-se que todas nanofibras apresentaram capacidade de adsorção, e a adição de NPs aumentou a adsorção. No entanto, a maior capacidade de adsorção de  $164,2\pm3,3$  mg g<sup>-1</sup> foi obtida com nanofibras com 4% NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Este aumento ocorreu devido às altas áreas de superfície dessas nanoestruturas (13,8%) em comparação com aquelas produzidas sob outras condições, que podem fornecer mais locais para adsorção. Baseado nestes resultados, as nanofibras com 4% NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> foram selecionadas como mais adequadas para produção de nanoestruturas adsorventes de CO<sub>2</sub> e para estudos futuros como adsorventes físicos de CO<sub>2</sub> no cultivo de microalgas para maior biofixação do gás.


**Figura 4 -** Capacidade de adsorção das nanofibras 10% PAN/DMF (q, mg g<sup>-1</sup>) com diferentes concentrações de NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

A adsorção foi rápida até cerca de 90 min, depois a taxa de adsorção estabilizou gradualmente até atingir o equilíbrio. O modelo cinético de adsorção sólido-líquido de pseudoprimeira ordem (PPO) apresentou melhor ajuste aos dados experimentais (Figura 5), conforme evidenciado pelo coeficiente de determinação ( $R^2$ =0,9925) (Tabela 3).

**Figura 5 -** Cinética da capacidade de adsorção (q) de CO<sub>2</sub> em nanofibras com 4% de NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (T= 20°C, C<sub>0</sub> $\cong$  350 mg/L, m= 50 mg)



A proximidade das capacidades de adsorção experimental  $(310,1\pm1,2 \text{ mg g}^{-1})$  e calculada  $(336,4\pm2,1 \text{ mg g}^{-1})$  também mostrou que o modelo PPO foi mais adequado para

representar os dados cinéticos (Tabela 3). Este modelo mostra que a difusão é a etapa limitante de taxa do processo de adsorção. O modelo pseudo-segunda ordem (PSO) define a quimiossorção como o passo limitante da taxa. Como o primeiro modelo forneceu melhor coeficiente de determinação do que o segundo, a taxa do processo pode ser limitada pela difusão ou fisiossorção entre o adsorvente e o adsorbato (CAI et al, 2017).

**Tabela 3 -** Parâmetros dos modelos cinéticos e isotérmicos de adsorção de CO2 em nanofibrascontendo 4% NPsFe2O3.

	Modelo Pseudo-primeira-ordem			Modelo Pseudo-segunda-ordem		
q <sub>e.exp</sub>	<b>K</b> <sub>1</sub>	qe.cal	$\mathbb{R}^2$	$K_2 x 10^3$	qe.cal	$\mathbb{R}^2$
310,1±1,2	0,0131±0,00	336,4±2,1	0,9925	0,0253±0,0004	452,7±3,4	0,9916
	Modelo Langmuir			Modelo Freundlich		
qe.exp	$q_{\rm m}$	kL	$\mathbb{R}^2$	kf	Ν	$\mathbb{R}^2$
460,3±0,9	1149,3±22,8	0,0103±0,0002	0,9940	20,83±0,3	0,744±0,004	0,9875

<sup>\*</sup>exp.: experimental; cal.: calculada.  $q_e$  é a capacidade de adsorção no equilíbrio (mg g<sup>-1</sup>);  $k_1$  é a constante da taxa de adsorção de pseudo-primeira ordem (min<sup>-1</sup>);  $k_2$  é constante de velocidade de adsorção de pseudo-segunda ordem (g mg<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>);  $q_m$  é a capacidade de adsorção máxima (mg g<sup>-1</sup>);  $K_L$  é a constante de Langmuir relacionada a energia de adsorção (L mg<sup>-1</sup>); kf é a constante de Freundlich (mg g<sup>-1</sup>)(mg L<sup>-1</sup>)<sup>-1/nF</sup>; n é o fator de heterogeneidade relacionado a intensidade de adsorção;  $R^2$  é o coeficiente de determinação.

Isotermas de adsorção (Figura 6) foram determinadas para avaliar a interação entre o  $CO_2$  e as nanofibras, e estimar a capacidade de adsorção máxima das nanofibras. Os dados experimentais foram ajustados aos modelos de isotermas de Langmuir e Freundlich, pois estes modelos são os mais comumente utilizados para descrever interações entre fase sólido-fluído entre adsorvente e o adsorvato (CAI et al., 2017).

Com base no maior valor do coeficiente de determinação ( $R^2=0,9940$  - Tabela 3), o modelo de Langmuir forneceu o melhor ajuste dos dados experimentais e, portanto, é o mais adequado para representar os dados de equilíbrio. Segundo o modelo de Langmuir (Langmuir, 1916), a adsorção de moléculas de adsorvato em um local não influencia a adsorção de outras moléculas em locais vizinhos, sendo assim um processo de adsorção favorável e reversível (CHAUQUE et al., 2017). De acordo com a estimativa desse modelo, a capacidade máxima de adsorção das nanofibras é de 1149,3 mg g<sup>-1</sup>.

Os experimentos consecutivos de adsorção e dessorção mostraram que todo o CO<sub>2</sub> adsorvido foi removido e que as nanofibras podem ser reutilizada 3 vezes, sem perda da

capacidade de adsorção. No quarto ciclo de adsorção-dessorção, houve redução de 81,8% na capacidade de adsorção de CO<sub>2</sub>. Os experimentos de dessorção foram realizados em diferentes pHs, mas em pH 5 ocorreu maior dessorção de CO<sub>2</sub>. Este pH foi testado com o objetivo de quantificar a capacidade máxima de dessorção de nanofibras poliméricas. No entanto, o CO<sub>2</sub> também é dessorvido em pHs mais alcalinos e, quando o gás é injetado no meio de cultivo, reage com a água para formar ácido carbônico (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), causando acidificação do meio e permitindo maior dessorção de CO<sub>2</sub>.

**Figura 6** - Isotermas de adsorção de CO<sub>2</sub> em nanofibras com 4% de NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (T= 20°C,  $C_0 \cong 0-570 \text{ mg/L}$ , m=50 mg, q<sub>e</sub>: capacidade de adsorção no equilíbrio, Ce: concentração de CO<sub>2</sub> no equilíbrio)



Com base nos resultados de elevada capacidade de adsorção, as nanofibras com 4% NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Figura A2) foram utilizadas como adsorventes de CO<sub>2</sub> no cultivo da microalga *Chlorella fusca* LEB 111. A concentração de biomassa foi quantificada por peso seco devido à biomassa adsorvida nas nanofibras poliméricas durante o cultivo (Figura A3), não sendo possível quantificar o crescimento celular por densidade óptica. O CO<sub>2</sub> fornecido foi suficiente para o crescimento das microalgas, uma vez que não houve redução no crescimento e/ou morte celular durante o cultivo. A concentração (794 ± 0,06 mg L<sup>-1</sup>), produtividade (115,0 ± 0,01 mg L<sup>-1</sup>d<sup>-1</sup>) e taxa de biofixação de CO<sub>2</sub> (216,2 ± 0,01 mg L<sup>-1</sup>d<sup>-1</sup>) foram estatisticamente maiores (p < 0,05) no cultivo da microalga *Chlorella fusca* LEB 111 com as nanofibras, em comparação aos cultivos sem adição das nanoestruturas (Tabela 4).

Parâmetro	Com nanofibras	Sem nanofibras	
X <sub>máx</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	$794,0 \pm 55,2^{a}$	$579,0 \pm 43,8^{b}$	
$P_X (mg L^{-1} d^{-1})$	115,0 ± 7,1 <sup>a</sup>	$73,1 \pm 9,9^{b}$	
R (mg $L^{-1} d^{-1}$ )	$216,2 \pm 13,3^{a}$	$137,3 \pm 18,7^{b}$	
CID <sub>ac</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	14,5 ± 3,1 <sup>a</sup>	$21,7 \pm 2,3^{a}$	

Tabela 4 - Concentração de biomassa máxima (Xmáx), produtividade máxima (Px), taxa debiofixação de CO2 (R) e concentração de carbono inorgânico dissolvido acumulado (CIDac)no cultivo de Chlorella fusca LEB 111 com e sem nanofibras.

As letras sobescritas iguais na mesma linha indicam que as médias não diferem significativamente, com nível de confiança de 95% (p > 0,05).

Os resultados de produtividade ao final dos cultivos com as nanofibras foram maiores do que os observados por Vaz, Costa e Morais (2016) no cultivo de *Chlorella fusca* LEB 111 com CO<sub>2</sub> sintético (80 mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>) e gás de combustão de carvão mineral (60 mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>). Rosa, Morais e Costa (2018) utilizaram o absorvente químico monoetanolamina (MEA, 50 mg L<sup>-1</sup>) no cultivo de *Chlorella fusca* LEB 111 e obtiveram concentração celular máxima de 620 ± 0,03 mg L<sup>-1</sup>, em 4 dias de cultivo, e taxa de biofixação máxima de CO<sub>2</sub> de 227,3 ± 10,8 mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>, em 15 dias de cultivo. Neste contexto, pode-se considerar o cultivo de *Chlorella fusca* LEB 111 em condições reais para mitigar o CO<sub>2</sub> atmosférico, utilizando as nanofibras como adsorvedores físicos de CO<sub>2</sub> para aumentar a biofixação do gás e reduzir os custos com a fonte de carbono.

A Figura 7 mostra que os perfis de pH nos cultivos com nanofibras foram semelhantes aos obtidos nos experimentos sem nanofibras, com valores médios de 8,6 e 9,0, respectivamente. A faixa ideal de pH para o crescimento da microalga *Chlorella* é entre 6,5 e 7,5, mas como a cepa *Chlorella fusca* LEB 111 foi isolada de lagoas alcalinas de estabilização de cinzas de usina termelétrica, os valores de pH mais básicos foram benéficos para a microalga (DUARTE et al. 2017; RADMANN et al. 2011). No cultivo de microalgas, o CO<sub>2</sub> reage com a água para formar ácido carbônico (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>). O ácido carbônico é dissociado em íons bicarbonato (HCO<sub>3</sub><sup>--</sup>) e H<sup>+</sup>, e o bicarbonato pode ser dissociado em CO<sub>2</sub> ou íons carbonato (CO<sub>3</sub><sup>-2</sup>), dependendo do pH do meio de cultivo. Todas essas reações são rápidas e, à medida que as microalgas removem CO<sub>2</sub> da solução, íons OH<sup>-</sup> são formados e isso aumenta o pH do meio de cultivo (BASU et al., 2013; BINAGHI et al., 2003). No cultivo abiótico, o perfil do pH permaneceu estável em torno de 7,0, uma vez que não houve alterações devido ao metabolismo microalgal (GROBBELAAR, 2013). Não houve diferença significativa (p > 0,05) nas concentrações de CID<sub>ac</sub> (Tabela 4) nos cultivos com e sem nanofibras. O CID mostrou a quantidade de CO<sub>2</sub> (14,5 mg L<sup>-1</sup>) que estava disponível no meio nos cultivos com nanofibras. Comparando com os experimentos sem nanofibras que apresentaram 21,7 mg L<sup>-1</sup> de CID no meio de cultivo, observa-se que deveria ter concentração de CO<sub>2</sub> maior que 7,2 mg L<sup>-1</sup> adsorvida nas nanofibras. Além disso, considerando que houve maior crescimento e taxa de biofixação do gás no cultivo com nanofibras, deveria ter maior concentração de CO<sub>2</sub> adsorvido nas nanoestruturas. Os maiores valores de CID<sub>ac</sub> observados nos experimentos sem nanofibras podem ser devido à não-adsorção do CO<sub>2</sub> devido à ausência de nanoestruturas. Por outro lado, a concentração do CO<sub>2</sub> dissolvido é reduzida no meio de cultivo com nanofibras porque o gás adsorve nesses materiais. Dessa forma, o CO<sub>2</sub> também estava disponível para a microalga nas nanofibras, justificando o maior crescimento.

Os resultados desse estudo mostram que a adição das nanofibras nos cultivos limitaram as perdas do gás injetado, aumentando a quantidade e/ou tempo de contato do  $CO_2$  com as microalgas. Dessa forma, o  $CO_2$  foi fornecido pela injeção do gás a cada hora, mas também deve ter sido disponibilizado pela dessorção do gás das nanofibras, toda vez que o meio ficava mais ácido. Assim, os resultados indicam que a utilização das nanofibras como adsorventes físicos de  $CO_2$ , podem aumentar a produtividade e consequentemente aumentar a taxa de biofixação do gás pelas microalgas.





#### 4 CONCLUSÃO

Nanofibras poliméricas com 10% de poliacrilonitrila e adição de nanopartículas de  $Fe_2O_3$  foram produzidas pela técnica *electrospinning* com 25 kV de potencial elétrico, 500 µL/h de vazão, distância do capilar ao coletor de 140 mm e diâmetro do capilar de 0,70 mm. Com adição de 4% de nanopartículas obteve-se redução máxima de 37% no diâmetro das nanofibras, de 689 nm para 434 nm. Essas nanoestruturas, consequentemente, apresentaram maior área de superfície específica (13,8 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>) e maior capacidade de adsorção de CO<sub>2</sub> de 164,2 mg g<sup>-1</sup>, em comparação às nanofibras sem nanopartículas. A maior biofixação do CO<sub>2</sub> (216,2 mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>) foi obtida no cultivo de *Chlorella fusca* LEB 111 com adição de nanofibras com 4% de nanopartículas. Neste contexto, estas estruturas nanocompósitas podem melhorar a funcionalização de grupos estruturais e a transferência de CO<sub>2</sub> ao longo da matriz de nanofibras, melhorando a capacidade de adsorção. Assim, a utilização de nanofibras com nanopartículas com o adsorventes físicos de CO<sub>2</sub> no cultivo de microalgas é a alternativa ideal para aumentar a biofixação do gás em cultivo microalgal, visto que aumenta a quantidade de CO<sub>2</sub> e o tempo de contato entre o gás e o micro-organismo.

#### **5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ALARIFI, I. M.; ALHARBI, A.; KHAN, W. S.; SWINDLE, A.; ASMATULU, R. Thermal, electrical and surface hydrophobic properties of electrospun polyacrylonitrile nanofibers for structural health monitoring. **Materials**, v. 8, p. 7017-7031, 2015.

ALOTHMAN, Z. A. A. Review: fundamental aspects of silicate mesoporous materials. **Materials**, v. 5, p. 2874-2902, 2012.

APHA, American Public Health Association, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th ed. APHA-AWWAWPCF, Washington, 1998.

ASMALY, H. A.; ABUSSAUD, B.; IHSANULLAH; SALEH, T. A.; GUPTA, V. K.; ATIEH, M. A. Ferric oxide nanoparticles decorated carbono nanotubes and carbon nanofibers: from synthesis to enhanced removal of phenol. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 19, p. 511-520, 2015.

BABCOCK, R. W.; MALDA, J.; RADWAY, J. C. Hydrodynamics and mass transfer in a tubular airlift photobioreactor. **Journal of Applied Phycology**, v. 14, p. 169-184, 2002.

BARRET, E. P.; JOYNER, L. G.; HALENDA, P. P. The determination opf pore volume and area distributions in porous substances. **Journal of the American Chemical Society**, v. 73, p. 373-380, 1951.

BASU, S.; ROY, A. S.; MOHANTY, K.; GHOSHAL, A. K. Enhanced CO<sub>2</sub> sequestration by a novel microalga: *Scenedesmus obliquus* SA1 isolated from bio-diversity hotspot region of Assam, India. **Bioresource Technology**, v. 143, p. 369-377, 2013.

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

BOULET, P.; BRISSINGER, D.; COLLIN, A.; ACEM, Z.; PARENT, G. On the influence of the sample absorptivity when studying the thermal degradation of materials. **Materials**, v. 8, p. 5398-5413, 2015.

BRUNAUER, S.; EMMETT, P. H.; TELLER, E. Adsorption of gases in multimolecular layers. **Journal of the American Chemical Society**, v. 60, p. 309-319, 1938.

BRUNE, D. E.; NOVAK, J. T. The use of carbonate equilibrium chemistry in quantifying algal carbon uptake kinetics. **European Journal of Applied Microbiology Biotechnology**, v. 13, p. 71-76, 1981.

CAI, Z.; SONG, X.; ZHANG, Q.; ZHAI, T. Electrospun polyindole nanofibers as a nanoadsorbent for heavy metal ions adsorption for wastewater treatment. **Fibers and Polymers**, v. 18, p. 502-513, 2017.

CARDIAS, B. B.; MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. CO<sub>2</sub> conversion by the integration of biological and chemical methods: *Spirulina* sp. LEB 18 cultivation with diethanolamine and potassium carbonate addition. **Bioresource Technology**, v. 267, p. 77-83, 2018.

CHANG, Y. M.; TSAI, W. T.; LI, M. H. Characterization of activated carbon prepared from *Chlorella*-based algal residue. **Bioresource Technology**, v. 184, p. 344-348, 2015.

CHAUQUE, E. F. C.; DLAMINI, L. N.; ADELODUN, A. A.; GREYLING, C. J.; NGILA, J. C. Electrospun polyacrylonitrile nanofibers functionalized with EDTA for adsorption of ionic dyes. **Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C,** v. 100, p. 201-211, 2017.

DING, B.; YU, J. Electrospun Nanofibers for Energy and Environmental Applications. [S.I.]. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 2014.

DUARTE, J. H.; MORAIS, E. G.; RADMANN, E. M.; COSTA, J. A. V. Biological CO<sub>2</sub> mitigation from coal power plant by *Chlorella fusca* and *Spirulina* sp. **Bioresource Technology**, v. 234, p. 472-475, 2017.

GARGIULO, N.; PEPE, F.; CAPUTO, D. CO<sub>2</sub> adsorption by functionalized nanoporous materials: a review. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 14, p. 1811-1822, 2014.

GROBBELAAR, J. U. **Inorganic algal nutrition.** In: Richmond, A., Hu, Q. (Eds.), Handbook of Microalgal Culture. John Wiley & Sons Ltd, Oxford, UK, pp. 123-133, 2013.

HARDICK, O.; DODS, S.; STEVENS, B.; BRACEWELL, D. G. Nanofiber adsorbents for high productivity continuous downstream processing. **Journal of Biotechnology**, v. 213, p. 74-82, 2015.

JOHANSEN, M. N. Microalgae: Biotechnology, Microbiology and Energy. Nova Science Publishers, Inc, New York, 2012.

KIM, Y.; PARK, E.-Y.; LEE, D.Y.; LEE, M.-H.; LEE, S.-J.; KIM, B.-Y.; CHO, N.-I. Electrospun nanofibrous polyacrylonitrile (PAN)/Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> membrane as CO<sub>2</sub> gas sensor. **Journal of the Korean Ceramic Society**, v. 44, p. 194-197, 2007.

LANGMUIR, I. The constitution and fundamental properties of solids and liquids. **Journal of the American Chemical Society,** v. 38, p. 2221-2295., 1916.

LUOH, R.; HAHN, H. T. Electrospun nanocomposite fiber mats as gas sensors. **Composites** Science and Technology, v. 66, p. 2436-2441, 2006.

NALBANDIAN, M. J.; ZHANG, M.; SANCHEZ, J.; CHOA, Y.-H.; NAM, J.; CWIERTNY, D. M.; MYUNG, N. V. Synthesis and optimization of Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanofibers for chromate adsorption from contaminated water sources. **Chemosphere**, v. 144, p. 975-981, 2016.

RADMANN, E. M.; REINEHR, C. O.; COSTA, J. A. V. Optimization of the repeated batch cultivation of microalga *Spirulina platensis* in open raceway ponds. **Aquaculture**, v. 265, p. 118-126, 2007.

RADMANN, E. M.; CAMERINI, F. V.; SANTOS, T. D.; COSTA, J. A. V. Isolation and application of SO<sub>X</sub> and NO<sub>X</sub> resistant microalgae in Biofixation of CO<sub>2</sub> from thermoelectricity plants. **Energy Conversion and Management,** v. 52, p. 3132-3136, 2011.

REICHERT, C. C.; REINEHR, C. O.; COSTA, J. A. V. Semicontinuous cultivation of the cyanobacterium *Spirulina platensis* in a closed photobioreactor. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 23, p. 23-28, 2006.

RIPPKA, R.; DERUELLES, J.; WATERBURY, J. W.; HERDMAN, M.; STANIER, R. G. Genetic assignments, strain histories and properties of pure cultures of Cyanobacteria. **Journal of General Microbiology**, v. 111, p. 1-61, 1979.

ROSA, G. M.; MORAES, L.; CARDIAS, B. B.; SOUZA, M. R. A. Z.; COSTA, J. A. V. Chemical absorption and CO<sub>2</sub> biofixation via the cultivation of *Spirulina* in semicontinuous mode with nutrient recycle. **Bioresource Technology**, v. 192, p. 321-327, 2015.

ROSA, G. M.; MORAES, L.; SOUZA, M. R. A. Z.; COSTA, J. A. V. *Spirulina* cultivation with a CO<sub>2</sub> absorbent: influence on growth parameters and macromolecule production. **Bioresource Technology**, v. 200, p. 528-534, 2016.

ROSA, G. M.; MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Green alga cultivation with monoethanolamine: evaluation of CO<sub>2</sub> fixation and macromolecule production. **Bioressource Technology**, v. 261, p. 206-212, 2018.

RUBIO, F. C.; ACIEN FERNANDEZ, F. G.; SANCHEZ PEREZ, J. A.; GARCIA CAMACHO, F.; MOLINA GRIMA, E. Prediction of dissolved oxygen and carbon dioxide concentration profiles in tubular photobioreactors for microalgal culture. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 62, p. 71-86, 1999.

SCHMIDELL, W.; LIMA, A. U.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Biotecnologia Industrial.** 2. ed. Edgard Blucher LTDA, Sao Paulo, 2001.

SUNDARAMURTHY, J.; LI, N.; KUMAR, P. S.; RAMAKRISHNA, S. Perspective of electrospun nanofibers in energy and environment. **Biofuel Research Journal**, v. 2, p. 44-54, 2014.

TOLEDO-CERVANTES, A.; MORALES, M.; NOVELO, E.; REVAH, S. Carbon dioxide fixation and lipid storage by *Scenedesmus obtusiusculus*. **Bioresource Technology**, v. 130, p. 652-658, 2013.

VAZ, B. S.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. CO<sub>2</sub> biofixation by the cyanobacterium *Spirulina* sp. LEB 18 and the green alga *Chlorella fusca* LEB 111 grown using gas effluents and solid residues of thermoelectric origin. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 178, p. 418-429, 2016.

XIAO, S.; LV, H.; TONG, Y.; XU, L.; CHEN, B. Thermal behavior and kinetics during the stabilization of polyacrylonitrile precursor in inert gas. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 122, p. 480-488, 2011.

ZHU, J.; WEI, S.; RUTMAN, D.; HALDOLAARACHCHIGE, N.; YOUNG, D. P.; GUO, Z. Magnetic polyacrylonitrile-Fe@FeO nanocomposite fibers – *electrospinning*, stabilization and carbonization. **Polymer**, v. 52, p. 2947-2955, 2011.

ARTIGO 2

CULTIVO DE ALGA VERDE COM NANOFIBRAS COMO ADSORVENTE FÍSICO DE CO2: AVALIAÇÃO DA BIOFIXAÇÃO DO GÁS E PRODUÇÃO DE MACROMOLÉCULAS

#### **RESUMO**

O objetivo desse estudo foi avaliar a biofixação e produção de biocompostos por Chlorella fusca LEB 111 cultivada com diferentes concentrações de nanofibras adsorvedoras de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>). Na primeira etapa os ensaios foram mantidos por 5 dias visando selecionar a melhor condição de cultivo com nanofibras adsorvedoras na forma livre ou retidas. Os cultivos por 5 dias contendo 15% de CO<sub>2</sub> (v v<sup>-1</sup>) foram realizados com 0.5 g L<sup>-1</sup> de nanofibras desenvolvidas com 10% (m v<sup>-1</sup>) de poliacrilonitrila (PAN)/dimetilformamida (DMF); 0,1, 0,3 e 0.5 g L<sup>-1</sup> de nanofibras 10% (m v<sup>-1</sup>) PAN/DMF contendo 4% (m v<sup>-1</sup>) de nanopartículas de óxido de ferro (NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>); 0,5 g L<sup>-1</sup> de nanofibras 10% (m v<sup>-1</sup>) PAN/DMF com 4% (m v<sup>-1</sup>) NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> retidas com tela de aço inoxidável. Na segunda etapa os cultivos tiveram duração de 15 dias possibilitando avaliar as fases de crescimento da microalga, bem como a fixação do CO2 e produção de macromoléculas. Os cultivos por 15 dias contendo 15% (v v<sup>-1</sup>) de CO2 foram realizados com 0,1, 0,3 e 0,5 g L<sup>-1</sup> de nanofibras 10% (m v<sup>-1</sup>) PAN/ DMF com 4% (m v<sup>-1</sup>) de NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> e sem nanofibras. Os cultivos por 5 dias de *Chlorella fusca* LEB 111 com nanofibras 10% (m v<sup>-1</sup>) PAN/DMF contendo 4% (m v<sup>-1</sup>) de NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> livres no meio de cultivo promoveram melhores resultados de concentração de biomassa, produtividade e de biofixação de CO<sub>2</sub> pela microalga. A adição das nanofibras aos cultivos com duração de 15 dias promoveu cerca de 3 vezes mais acúmulo de carbono no meio (46,6 mg  $L^{-1}$ ), taxa de biofixação 49% maior (91,7 mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>) e aumento da produção de carboidratos (26,8% m m<sup>-1</sup>), comparados ao ensaio sem adição de nanofibras. Portanto, as nanofibras possuem potencial promissor como adsorventes físicos de CO<sub>2</sub> no cultivo de Chlorella fusca LEB 111 para aumentar a fixação do gás e promover a síntese de macromoléculas.

Palavras-chave: Chlorella fusca LEB 111. Dióxido de carbono. Biofixação. Adsorvente. Nanofibras.

#### 1 INTRODUÇÃO

O dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) é o principal gás responsável pelo fenômeno de efeito estufa que pode causar o aquecimento global e prejudicar a sustentabilidade ambiental (KASSIM; MENG, 2017). De acordo com Belbute e Pereira (2015), as emissões de CO<sub>2</sub> aumentarão de 36.131 Mt para 51.883 Mt em 2100, cerca de 52,9% acima dos níveis que foram observados em 2010. Os aumentos das emissões atmosféricas de CO<sub>2</sub> estão correlacionados principalmente com a queima de combustíveis fósseis em atividades industriais e seu impacto pode levar a graves alterações climáticas (OLIVIER et al., 2015). Essas alterações podem resultar em mudanças na quantidade e distribuição da precipitação, redução na produção de alimentos, aumento do nível dos oceanos e extinção de espécies (PIRES et al., 2012).

Diversas tecnologias e processos para o armazenamento e utilização de CO<sub>2</sub> são investigadas e aplicadas para capturar o gás pós-combustão, que incluem métodos de separação física e química, tais como absorção; adsorção química; processos criogênicos e métodos biológicos (KOYTSOUMPA; BERGINS; KAKARAS, 2018). O processo mais utilizado para captura de  $CO_2$  de usinas de combustíveis fósseis é a absorção química do  $CO_2$  com solventes como monoetanolamina (MEA) e metildietanolamina (MDEA). No entanto, a energia necessária para regeneração destes solventes é excessiva, variando de 2,4 a 4,2 GJ t<sup>-1</sup> de CO<sub>2</sub> (MUMFORD et al., 2015; ZHENG; MARTIN; KENTISH, 2016). A tecnologia de adsorção para captura de CO<sub>2</sub> recebe cada vez mais atenção devido ao menor consumo de energia (KOYTSOUMPA; BERGINS; KAKARAS, 2018). Para que esta tecnologia seja eficiente e de custo eficaz, o adsorvente deve apresentar elevadas propriedades texturais; alta seletividade ao adsorvato; rápida adsorção e dessorção cinética; estabilidade química, térmica e mecânica; e reciclabilidade (WILCOX et al., 2014). Nanofibras poliméricas com nanopartículas de óxido de ferro (NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) produzidas pela técnica de *electrospinning* são potenciais materiais adsorventes para armazenamento de CO2, devido à alta difusão e interação com o gás em função da mudança dos grupos funcionais nas nanofibras pela adição das NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Além disso, apresentam elevada capacidade de adsorção e dessorção do gás, como resultado da alta porosidade e área de superfície específica em relação ao volume (VAZ; COSTA; MORAIS, 2019).

A utilização de microalgas é uma tecnologia promissora para captura e armazenamento biológico de CO<sub>2</sub>. Esses micro-organismos apresentam elevadas taxas de crescimento fotossintético e capacidade de utilizar CO<sub>2</sub> atmosférico como fonte de carbono para produção de biomassa (ZENG et al., 2012). Aproximadamente 100 t de biomassa de microalgas fixa 183

t de CO<sub>2</sub> (HUANG; TAN, 2014). Além disso, a biomassa de microalgas contém substâncias químicas de alto valor biológico como lipídios, carboidratos e proteínas que podem ser fontes promissoras para novos produtos e/ou aplicações comerciais como alimentos, cosméticos, medicamentos, fertilizantes e biocombustível (ZHU et al., 2014). A microalga verde *Chlorella* é um dos gêneros mais estudados e cultivados no mundo (LIU; HU, 2013), sendo considerada ideal para biofixação de CO<sub>2</sub> devido ao melhor desempenho em termos de eficiência da utilização do gás em relação a outras microalgas (ZHAO; SU, 2014).

No entanto, o tempo de permanência do CO<sub>2</sub> (g) no cultivo de microalgas deve ser suficiente para que ele seja retido e ocorra o equilíbrio químico  $CO_{2(g)} \leftrightarrow CO_{2(aq)} \leftrightarrow H_2CO_3 \leftrightarrow$  $HCO_3^- \leftrightarrow CO_3^{2-}$ , que converte o  $CO_2$  em biomassa (ROSA et al., 2016). Neste contexto, a adição de nanofibras poliméricas como adsorventes de CO2 no cultivo de microalgas é alternativa para aumentar a permanência do CO<sub>2</sub> no meio e consequentemente o tempo de contato do micro-organismo e o gás. Desta forma, a biofixação de CO<sub>2</sub> pode ser aumentada, proporcionando aporte nutricional rico para a microalga elevar sua produtividade e/ou incrementar a produção de metabólitos de interesse. Em trabalho pioneiro, Vaz, Costa e Morais (2019) desenvolveram nanofibras poliméricas como adsorventes de CO<sub>2</sub> e observaram que os nanomateriais apresentaram potencial para aumentar a biofixação do gás em cultivo microalgal. Neste estudo os nanomateriais adsorvedores de CO2 foram selecionados a partir de características físicas para aplicação no cultivo de microalgas e a concentração de 0,5 g L<sup>-1</sup> de nanofibras foram utilizadas no processo. Desta forma, a adição de diferentes concentrações das nanoestruturas adsorvedoras no meio contendo a microalga, bem como o estudo do uso da nanofibra livre ou retida no cultivo são métodos com potencial para aumentar a biofixação do gás. Assim, a maior produtividade de biomassa e síntese de biocompostos de interesse podem ser obtidos. Com base nisso, o objetivo desse estudo foi avaliar a biofixação e produção de biocompostos por Chlorella fusca LEB 111 cultivada com diferentes concentrações de nanofibras adsorvedoras do gás, dispostas na forma livre ou retidas.

#### 2 MATERIAL E MÉTODOS

#### 2.1 MICRO-ORGANISMO E MEIO DE CULTIVO

O micro-organismo utilizado neste estudo foi a microalga *Chlorella fusca* LEB 111, que foi obtida da coleção de culturas do Laboratório de Engenharia Bioquímica (LEB) da Universidade Federal do Rio Grande (FURG). A microalga foi isolada da lagoa de estabilização

de resíduos da Usina Termelétrica Presidente Médici (latitude  $24^{\circ}36'13''S$  e longitude  $52^{\circ}32'43''W$ ) (Candiota, RS, Brasil) (DUARTE et al., 2017). O meio de cultivo utilizado para manutenção do inóculo e cultivos sem CO<sub>2</sub> foi o BG 11 (RIPKA et al., 1979). O meio de cultivo utilizado para manutenção do inóculo e cultivos com CO<sub>2</sub> foi o BG 11 (RIPKA et al., 1979) sem a fonte de carbono do meio (sem Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>). O Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> foi substituído por 15% (v v<sup>-1</sup>) de gás CO<sub>2</sub> (White Martins, Brasil). O inóculo de *C. fusca* LEB 111 utilizado nos ensaios contendo CO<sub>2</sub> foi adaptado ao gás através da injeção de 2% (v v<sup>-1</sup>) do gás por 1 min h<sup>-1</sup> na fase clara por 7 dias.

#### 2.2 ADSORVENTE FÍSICO

Os adsorventes físicos utilizados foram nanofibras poliméricas produzidas pela técnica *electrospinning* contendo 10% (m v<sup>-1</sup>) de poliacrilonitrila (PAN, Mw 150,000 g mol<sup>-1</sup> - Sigma-Aldrich®, USA) dissolvidas em dimetilformamida (DMF) e nanofibras poliméricas 10% (m  $v^{-1}$ ) PAN/ DMF contendo 4% (m  $v^{-1}$ ) de nanopartículas de óxido de ferro (NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) (VAZ; COSTA; MORAIS, 2019). Na primeira etapa foram realizados cultivos com 15% (v v<sup>-1</sup>) de CO<sub>2</sub> durante 5 dias contendo: 0,5 g L<sup>-1</sup> de nanofibras 10% (m v<sup>-1</sup>) PAN/ DMF dispostas livres no meio de cultivo; 0,1, 0,3 e 0,5 g  $L^{-1}$  de nanofibras 10% (m  $v^{-1}$ ) PAN/ DMF com 4% (m  $v^{-1}$ ) de NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> livres no meio de cultivo; 0,5 g L<sup>-1</sup> de nanofibras 10% PAN/ DMF com 4% (m  $v^{-1}$ ) de NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> retidas com tela de aço inoxidável (200 mesh) nos fotobiorreatores (Figura 1) e ensaios sem nanofibras com e sem CO2. Afim de acompanhar as fases de crescimento da Chlorella fusca LEB 111 com as nanofibras adsorvedoras de CO<sub>2</sub>, na segunda etapa os cultivos tiveram duração de 15 dias. As definições das condições experimentais da segunda etapa foram baseadas nos testes realizados na etapa 1. Os estudos na segunda etapa foram realizados com 15% (v v<sup>-1</sup>) de CO<sub>2</sub> e 0,1, 0,3 e 0,5 g L<sup>-1</sup> de nanofibras 10% (m v<sup>-1</sup>) de PAN/ DMF com 4% (m v<sup>-1</sup>) de NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> livres no meio de cultivo e cultivos microalgais sem nanofibras. Cultivos abióticos dos ensaios por 5 e 15 dias foram realizados nas mesmas condições dos ensaios contendo as nanofibras adsorventes.

#### 2.3 CONDIÇÕES DE CULTIVO

Os cultivos em batelada foram realizados em fotobiorreatores erlemenyers de 0,5 L com volume útil de 0,45 L. A temperatura foi mantida a 25 °C em câmara termostatizada (Figura 2) com fotoperíodo de 12h claro/12h escuro (VAZ; COSTA; MORAIS, 2019), e a luminosidade

de 41,6  $\mu$ mol<sub>fótons</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> mantida por lâmpadas fluorescentes de 40 W. A agitação foi realizada através de ar comprimido utilizando aspersores de pedra porosa com vazão de 0,3 vvm (mL<sub>mistura</sub> mL<sub>meio</sub><sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>). O CO<sub>2</sub> foi injetado por 1 min h<sup>-1</sup> durante as 12h da fase clara de crescimento, e o fluxo de entrada de gás foi controlado com medidores de vazão (Cole-Parmer, USA). O volume útil dos fotobiorreatores foi mantido constante, suprindo as perdas por evaporação através da adição de água estéril antes do acompanhamento diário do crescimento. Todos os experimentos foram realizados em duplicata e com concentração de biomassa inicial de 0,2 g L<sup>-1</sup>.





Figura 2 - Cultivos em fotobiorreatores erlenmeyers em câmara termostatizada



#### 2.4 DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS

#### 2.4.1 Concentração de biomassa

O crescimento celular foi acompanhado diariamente, através da leitura de densidade óptica a 670 nm em espectrofotômetro (UVmini 1240, Shimadzu, Japão), com curva padrão que relaciona absorbância com biomassa seca. A concentração de biomassa final dos cultivos foi determinada por peso seco, onde foi considerada a massa de nanofibras adicionada aos cultivos (0,1, 0,3 e 0,5 g  $L^{-1}$ ) para contabilizar o peso total somente de biomassa microalgal.

#### 2.4.2 pH, alcalinidade e carbono inorgânico dissolvido (CID)

O pH foi acompanhado por medida direta utilizando pHmetro digital (Mettler Toledo FiveGo<sup>TM</sup>, Suíça). A alcalinidade foi determinada por titulação potenciométrica (APHA, 1998). A concentração de CID foi calculada através da determinação da alcalinidade e do pH e seguindo as equações de equilíbrio utilizadas por Brune e Novak (1981) e Rubio et al. (1999), como demonstrado por Rosa et al. (2015). A concentração de CID acumulado (CID<sub>ac</sub>) foi calculada de acordo com a equação CID<sub>ac</sub> = CID<sub>tf</sub> - CID<sub>t0</sub>, onde CID<sub>tf</sub> é a concentração de CID no final dos cultivos, e CID<sub>t0</sub> é a concentração de CID no início.

#### 2.5 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS DE CRESCIMENTO

Os valores da concentração de biomassa foram utilizados para determinar a concentração de biomassa máxima ( $X_{máx}$ , mg L<sup>-1</sup>), produtividade de biomassa máxima ( $P_{máx}$ , mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>), velocidade específica máxima de crescimento ( $\mu_{máx}$ , d<sup>-1</sup>) e tempo de geração ( $t_g$ , d). A produtividade de biomassa volumétrica foi calculada de acordo com a equação  $P_X = (X-X_0)/(t-t_0)$ , onde  $X_t$  é a concentração de biomassa (mg L<sup>-1</sup>) no tempo t (d), e  $X_0$  é a concentração de biomassa (mg L<sup>-1</sup>) no tempo t (d), e  $X_0$  é a concentração de biomassa (mg L<sup>-1</sup>) no tempo t (d). A velocidade específica de crescimento foi calculada pela regressão linear da fase logarítmica de crescimento obtida através do gráfico ln X em função do tempo (d). O tempo de geração foi determinado pela equação tg = ln (2)/ $\mu_{máx}$  na fase exponencial de crescimento.

#### 2.6 TAXA DE BIOFIXAÇÃO DE CO<sub>2</sub>

A taxa de biofixação de CO<sub>2</sub> (R, mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>) foi calculada de acordo com a equação R =  $P_X X_{cbm} M_{CO2}/M_C$  (TOLEDO-CERVANTES et al., 2013), utilizando os valores de  $P_X$  (mg L<sup>-1</sup>), as massas molares do CO<sub>2</sub> (M<sub>CO2</sub>, g mol<sup>-1</sup>) e do carbono (M<sub>C</sub>, g mol<sup>-1</sup>) e considerando a fração de carbono na biomassa microalgal 50% (m m<sup>-1</sup>) (CHANG; TSAI; LI, 2015).

#### 2.7 COLHEITA DA BIOMASSA

No final dos cultivos, a biomassa microalgal produzida foi separada do meio de cultivo por centrifugação (Hitachi Himac CR-GIII, Tokyo, Japan) a 9000g, 20°C por 20 min. A biomassa centrifugada foi ressuspendida duas vezes em água destilada e centrifugada novamente, sob as mesmas condições, para eficiente remoção de sais do meio de cultivo (ROSA et al., 2015). A biomassa colhida foi congelada a -80°C, liofilizada por 48 h e armazenada a -20°C para posterior caracterização.

#### 2.8 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

A concentração de proteínas na biomassa da *C. fusca* LEB 111 foi determinada por método colorimétrico (LOWRY et al., 1951) com tratamento térmico e alcalino para solubilização das proteínas insolúveis da biomassa microalgal. A concentração de carboidratos na biomassa microalgal foi obtida pelo método fenol-sulfúrico utilizando curva padrão de glicose (DUBOIS et al., 1956). A concentração de lipídios foi determinada por método colorimétrico (MARSH; WEINSTEIN, 1966). A umidade da biomassa foi obtida por análise termogravimétrica (TGA) (Shimadzu DTG-60, Japan), onde as amostras foram aquecidas de 30°C até 600 °C, com taxa de aquecimento de 10 ° C min<sup>-1</sup> e fluxo de nitrogênio de 40 mL min<sup>-1</sup>. Os resultados das macromoléculas são apresentados em base seca.

#### 2.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As médias dos resultados foram avaliados por análise de variância (ANOVA) e teste Tukey, com nível de confiança de 95%.

#### **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### 3.1 ESTUDO DA ADIÇÃO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE NANOFIBRAS ADSORVEDORAS DE CO<sub>2</sub> LIVRES OU RETIDAS NO MEIO DURANTE 5 DIAS

Os máximos resultados de crescimento, produtividade e taxa de biofixação de CO<sub>2</sub> pela microalga *Chlorella fusca* LEB 111 foram obtidos nos ensaios com 0,3 e 0,5 g L<sup>-1</sup> de nanofibras com NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, sendo maiores (p<0,05) que os resultados de produtividade de biomassa máxima ( $P_{máx}$ ) e biofixação máxima de CO<sub>2</sub> ( $R_{máx}$ ) do ensaio sem nanofibras. No entanto, não houve diferença estatística (p>0,05) em relação a  $P_{máx}$  e  $R_{máx}$  entre os ensaios com 0,1, 0,3 e 0,5 g L<sup>-1</sup> de nanofibras com NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> como adsorventes físicos de CO<sub>2</sub>. Os parâmetros cinéticos dos cultivos sem nanofibras, com e sem CO<sub>2</sub>, em que não houve adição de nanofibras adsorvedoras não diferiram significativamente (p>0,05) entre si (Tabela 1). Assim, há vantagem na possibilidade de substituição da fonte de carbono carbonato de sódio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) do meio BG 11 por CO<sub>2</sub>, que pode ser obtido de efluentes industriais (DUARTE et al., 2017; VAZ; COSTA; MORAIS, 2016a). A capacidade de microalgas para tolerar a concentração de CO<sub>2</sub> é específico de cada espécie (MIYACHI; IWASAKI; SHIRAIWA, 2003). As microalgas do gênero *Chlorella* possuem potencial para mitigação de CO<sub>2</sub>, devido ao melhor desempenho em termos de crescimento e adaptação a condições de cultivo (YEH; CHANG, 2012).

As concentrações de CO<sub>2</sub> em cultivos microalgais variam entre 15 a 20 % (v/v) dependendo da fonte de gás de combustão (SALIH, 2011), sendo que segundo Chiu et al. (2008), concentrações de CO<sub>2</sub> acima de 10% podem causar estresse celular e inibição do crescimento microalgal. No entanto, no presente estudo a microalga *Chlorella fusca* LEB 111 tolerou 15% (v/v) de CO<sub>2</sub>. Além disso, gases de combustão podem conter sulfato de hidrogênio, nitrogênio e outros hidrocarbonetos que poderiam inibir o crescimento das microalgas. No entanto, a cepa *C. fusca* LEB 111 foi isolada de lagoas de estabilização de efluentes gasosos de termelétrica e foi cultivada com o gás de combustão do carvão mineral, apresentando resistência a esses gases (DUARTE et al., 2017; VAZ; COSTA; MORAIS, 2016a). Dessa forma, a substituição do carbono do meio convencional de cultivo de *C. fusca* LEB 111 por CO<sub>2</sub>, pode reduzir o custo de produção microalgal, sendo que a fonte de carbono é o principal componente da biomassa de microalgas e representa cerca de 50% do seu peso seco (SLOCOMBE; BENEMANN, 2016). Além disso, pode também contribuir com a redução do aquecimento global e alterações climáticas, que são intensificadas devido a emissões desse gás de efeito estufa (CHEAH et al., 2016).

**Tabela 1 -** Resultados médios da concentração de biomassa máxima (X<sub>máx</sub>, mg L<sup>-1</sup>), produtividade (P<sub>x</sub>, mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>), taxa de biofixação de CO<sub>2</sub> (R, mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>) e acúmulo de carbono inorgânico dissolvido (CID<sub>ac</sub>, mg L<sup>-1</sup>) no cultivo de *Chlorella fusca* LEB 111 com 15% (v v<sup>-1</sup>) de CO<sub>2</sub> sob diferentes tratamentos com nanofibras.

Tratamentos	X <sub>máx</sub>	P <sub>X</sub>	R	CID <sub>ac</sub>	*CID <sub>ac</sub>
0,5 g L⁻¹ Nanofibras 10% PAN	570,5±41,7 <sup>b</sup>	67,9±2,0°	127,7±3,8°	36,6±2,3ª	2,8±0,2ª
0,1 g L <sup>-1</sup> Nanofibras 10% PAN e 4% NPsFe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	555,5±53,0 <sup>b</sup>	71,1±6,1 <sup>bc</sup>	133,7±11,4 <sup>bc</sup>	15,4±1,1°	0,5±0,04°
0,3 g L <sup>-1</sup> Nanofibras 10% PAN e 4% NPsFe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	671±60,8 <sup>ab</sup>	93,3±8,4 <sup>ab</sup>	175,4±15,8 <sup>ab</sup>	16,6±0,7°	0,6±0,05°
**0,5 g L <sup>-1</sup> Nanofibras 10% PAN e 4% NPsFe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	794±55,2ª	115±7,1ª	216,2±13,3ª	14,5±3,1 <sup>cd</sup>	0,4±0,03°
0,5 g L <sup>-1</sup> Nanofibras 10% PAN e 4% NPsFe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> retidas	548,9±14,4 <sup>b</sup>	59,2±2,9°	111,3±5,4°	7,4±0,5 <sup>d</sup>	1,3±0,1 <sup>b</sup>
Sem nanofibras	559,0±29,7 <sup>b</sup>	69,0±7,2°	129,8±13,6°	24,9±2,6 <sup>b</sup>	_
Sem nanofibras e sem CO <sub>2</sub>	521,5±2,1 <sup>b</sup>	62,6±0,6°	_		

\* Valores referentes aos ensaios abióticos. Letras idênticas sobrescritas na mesma coluna indicam que as médias não diferem significativamente, com um nível de confiança de 95% (p> 0,05).
\*\* Resultados obtidos em estudos preliminares com 0,5 g L<sup>-1</sup> de nanofibras no cultivo de *Chlorella fusca* LEB 111 (VAZ; COSTA; MORAIS, 2019).

O cultivo com 0,5 g L<sup>-1</sup> de nanofibras dispostas livres no cultivo (VAZ; COSTA; MORAIS, 2019) apresentou maiores resultados dos parâmetros cinéticos e de biofixação de  $CO_2$  (p<0,05) em relação ao cultivo com a mesma concentração de nanofibras retidas (Tabela 1). Isto pode ter ocorrido porque a retenção do adsorvente com a tela de aço inoxidável dificultou o contato entre a microalga e o gás adsorvido nas nanofibras, de modo que reduziu a assimilação de  $CO_2$  pelo micro-organismo para que ocorresse maior crescimento e biofixação. Essa hipótese também foi confirmada pelo CID que foi menor no cultivo com retenção,

indicando que haveria mais CO<sub>2</sub> adsorvido nas nanofibras do que no meio líquido. Os resultados cinéticos do cultivo com 0,5 g L<sup>-1</sup> de nanofibras contendo nanopartículas foram estatisticamente maiores (p<0,05) em comparação ao cultivo com a mesma concentração de nanofibras e sem NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Tabela 1). Isto pode ter ocorrido em função da menor porosidade do adsorvente devido à ausência de nanopartículas. De acordo com Vaz, Costa e Morais (2019) a produção de nanofibras com NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> aumenta a área de superfície específica e a capacidade de adsorção de CO<sub>2</sub> das nanoestruturas, resultando em maior disponibilidade do gás no cultivo de microalgas e consequente maior crescimento e biofixação.

Os resultados de CID do cultivo com  $0.3 \text{ g L}^{-1}$  de adsorvente foram menores em relação ao CID do cultivo sem nanofibras com CO<sub>2</sub>, porque como o CO<sub>2</sub> adsorve nas nanofibras há menor concentração do gás disponível no meio de cultivo. Além disso, a CID do cultivo com 0,1 g L<sup>-1</sup> de nanofibras não diferiu estatisticamente (p>0,05) do ensaio com 0,3 g L<sup>-1</sup>. Os cultivos com nanofibras sem NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> também apresentaram maior CID, porque essas nanofibras tem menor porosidade e, dessa forma adsorvem menos o  $CO_2$ . No entanto, o ideal é que o gás permaneça também adsorvido nas nanofibras para que gradualmente seja liberado (dessorvido) para o meio de cultivo conforme a alteração do pH. Isso porque o CO<sub>2</sub> injetado no cultivo e que a microalga não consegue consumir imediatamente se perde através do líquido para a atmosfera. Entre os ensaios abióticos com nanofibras contendo NPsFe2O3 na forma livre não houve diferença significativa (p>0,05) em relação a CID. Esses resultados foram estatisticamente menores em relação aos demais ensaios abióticos, indicando que houve maior capacidade de adsorção do CO<sub>2</sub> nos ensaios com 0,1, 0,3 e 0,5 g  $L^{-1}$  de nanofibras contendo NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> livres no cultivo. Os cultivos com nanofibras sem nanopartículas apresentaram maior concentração de CID, confirmando que houve menor adsorção do gás nessas nanoestruturas que possuem porosidade reduzida.

O aumento da biofixação de  $CO_2$  está relacionado à maior concentração de biomassa microalgal, que ocorre durante o crescimento logarítmico (TEBBANI et al., 2014), e também porque nesta fase são acumulados produtos de alto valor (LING et al., 2015). Assim, alguns tratamentos foram selecionados para estudos com duração de 15 dias de cultivo, visando avaliar a fase exponencial de crescimento da microalga *C. fusca* LEB 111 cultivada com os adsorventes, bem como avaliar a biofixação do  $CO_2$  e produção de macromoléculas.

Como foram obtidos os melhores resultados de crescimento, produtividade e biofixação de CO<sub>2</sub> nos ensaios com 0,1, 0,3 e 0,5 g L<sup>-1</sup> de nanofibras com NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> dispostas livres no meio de cultivo, estes foram selecionados para a próxima etapa. Também foram realizados cultivos com CO<sub>2</sub> e sem as nanofibras. Os ensaios com nanofibras sem NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> e com

nanofibras retidas não foram selecionados para a próxima etapa porque os resultados cinéticos e de biofixação de  $CO_2$  foram menores (p<0,05) em relação aos cultivos com a mesma concentração de nanofibras (0,5 g L<sup>-1</sup>) contendo NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> e, além disso, há dificuldade na retenção das nanoestruturas.

# 3.2 EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE NANOFIBRAS NO CULTIVO DE *C. fusca* LEB 111 POR 15 DIAS

Os cultivos da *C. fusca* LEB 111 com os adsorventes físicos de  $CO_2$  apresentaram fase de adaptação fisiológica inicial com crescimento constante por 2 dias. No entanto, essa fase não pode ser considerada *lag* porque nos ensaios contendo nanofibras ocorreu acúmulo da biomassa produzida nas nanofibras adsorventes (Figura 3). No ensaio sem nanofibras o crescimento foi exponencial até o 12º dia e houve decréscimo na concentração de biomassa a partir do 13º dia de cultivo. Nos ensaios com 0,1 e 0,3 g L<sup>-1</sup> de nanofibras ocorreu redução da concentração de biomassa após 14º dia de cultivo.

## Figura 3 - Nanofibras poliméricas com biomassa microalgal adsorvida nos cultivos em fotobiorreator erlenmeyer



Nos ensaios com 0,5 g L<sup>-1</sup> de nanofibras observou-se que não houve crescimento exponencial, em comparação aos demais ensaios, e a concentração de biomassa permaneceu aproximadamente constante do 11° ao 15° dia de cultivo. No entanto, isso ocorreu porque grande parte da biomassa microalgal adsorveu nas nanofibras (devido a maior concentração das nanoestruturas) e, por isso a menor quantidade de biomassa foi detectada no meio de cultivo. Além disso, é importante ressaltar que apesar das curvas de crescimento mostrarem que houve maior concentração de biomassa máxima ( $X_{máx}$ ) no ensaio sem nanofibras (Figura 4a), a  $X_{máx}$ 

dos ensaios com nanofibras foi maior do que no ensaio controle (Tabela 2) porque a biomassa produzida também adsorveu nas nanoestruturas e foi quantificada no final por peso seco.

A fase estacionária foi atingida após o 13° dia de cultivo, exceto para os ensaios com 0,5 g L<sup>-1</sup> de nanofibras, que atingiram essa fase após o 10° dia de cultivo, em função da maior adsorção de biomassa microalgal. Assim, pode ser observado pelos resultados de concentração de biomassa máxima ( $X_{máx}$ ) (Tabela 2) que houve diferença significativa (p<0,05) entre os ensaios com nanofibras e sem nanofibras. As maiores produtividades de biomassa máximas também foram obtidas nos cultivos com nanofibras. A maior  $X_{máx}$  obtida foi de 943, 3 mg L<sup>-1</sup> no cultivo com 0,3 g L<sup>-1</sup> de nanofibras, não havendo diferença estatística (p>0,05) em relação ao ensaio com 0,1 g L<sup>-1</sup> de nanofibras (882,8 mg L<sup>-1</sup>). As produtividades de biomassa máxima ( $P_{máx}$ ) obtidas não diferiram estatisticamente (p>0,05) entre os ensaios com nanofibras mas foram maiores do que a  $P_{máx}$  do ensaio sem nanofibras. Os demais parâmetros cinéticos de crescimento não diferiram estatisticamente entre os ensaios com e sem nanofibras.

**Figura 4** - Curvas de crescimento celular (a) e pH (b) de *Chlorella fusca* LEB 111 cultivada com 15% (v v<sup>-1</sup>) de CO<sub>2</sub> e nanofibras 10% PAN com 4% NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, em função do tempo para os ensaios por 15 dias de cultivo: ( $\blacktriangle$ ) 0,1 g L<sup>-1</sup> de nanofibras, ( $\blacklozenge$ ) 0,3 g L<sup>-1</sup> de nanofibras, ( $\blacksquare$ ) 0,5 g L<sup>-1</sup> de nanofibras e ( $\bullet$ ) sem nanofibras; ensaios abióticos - ( $\Delta$ ) 0,1 g L<sup>-1</sup> de nanofibras, ( $\diamondsuit$ ) 0,3 g L<sup>-1</sup> de nanofibras, ( $\blacklozenge$ ) 0,5 g L<sup>-1</sup> de nanofibras e ( $\Box$ ) 0,5 g L<sup>-1</sup> de nanofibras



Os perfis médios de pH (Figura 2b) obtidos nos ensaios com nanofibras foram semelhantes aos obtidos no ensaio sem nanofibras (9,6), com valores médios de 9,1; 9,1 e 9,0

para ensaios contendo 0,1, 0,3 e 0,5 g L<sup>-1</sup> de adsorvente físico, respectivamente. A faixa de pH ideal para a maioria das espécies de microalgas é entre 8 e 9. A microalga *Chlorella* tem pH ótimo entre 7 e 8, sendo que a microalga do presente estudo é tolerante a pHs mais básicos pois foi isolada de lagoa de estabilização de cinzas de usina termelétrica (DUARTE et al., 2017). Nestas faixas básicas de pH (> 8) há grande disponibilidade de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> e/ou bicarbonato de sódio (Na<sub>2</sub>HCO<sub>3</sub>), que se formam no meio devido ao CO<sub>2</sub> e, permitem ótimas condições para crescimento (RADMANN et al., 2011). O pH é uma variável importante que afeta o acúmulo de carbono inorgânico, bem como determina a distribuição das espécies de carbono (CO<sub>2</sub>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>) (MANGAN et al., 2016).

O pH médio dos cultivos variou entre 7,6 e 10,3 nos cultivos sem nanofibras e entre 8,1 e 9,6 nos ensaios com nanofibras. O pH mais ácido observado inicialmente nos ensaios sem nanofibras é devido à ausência das nanofibras, que dessa forma não ocorre a adsorção do gás e o meio fica mais ácido (VAZ; COSTA; MORAIS, 2019). No entanto, observou-se que o pH ficou estável em torno de 10 após o 4º dia de cultivo, sendo que o consumo de CO<sub>2</sub> pelas microalgas durante o processo fotossintético resulta na acumulação do íon OH<sup>-</sup> no meio, causando aumento gradual no pH (GROBBELAAR, 2013). O pH dos cultivos abióticos manteve-se em torno de 6,5 e 7,4, confirmando que não houve o consumo de CO<sub>2</sub> pela microalga. O pH dos cultivos com nanofibras manteve-se em torno de 9 ao longo dos 15 dias de cultivo, e observou-se que nesses ensaios com perfis de pH mais ácido que os pHs do ensaio sem nanofibras houve maior crescimento e biofixação do gás. Isso ocorre devido há maior quantidade de CO<sub>2</sub> disponível no meio devido a adsorção e dessorção das nanofibras ao longo do cultivo (VAZ; COSTA; MORAIS, 2019). Em concentrações elevadas de CO<sub>2</sub>, o pH pode reduzir para 5 (ou até mais baixo) devido à formação de quantidades elevadas de tampão de bicarbonato (BHOLA et al., 2014) e, este pH favorece a dessorção de CO<sub>2</sub> das nanofibras. Vaz, Costa e Morais (2019) avaliaram a adsorção e dessorção de CO<sub>2</sub> das nanofibras poliméricas 10% (m v<sup>-1</sup>) PAN com 4% (m v<sup>-1</sup>) de NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> e verificaram que houve dessorção de todo o gás adsorvido em pH 5, sem perda da capacidade de adsorção das nanoestruturas. Esses resultados confirmam que as nanofibras alteram o meio de cultivo, mostrando o potencial desses nanomateriais em adsorver o CO2 do meio e dessorvê-lo após nova acidificação do meio de cultivo devido a injeção periódica de CO<sub>2</sub>.

A capacidade de biofixação de CO<sub>2</sub> está relacionada a produtividade da biomassa (ZENG et al., 2012). Isto foi confirmado neste estudo, onde os tratamentos com maiores produtividades apresentaram maiores taxas de biofixação do gás pela microalga (Tabela 2). As

maiores taxas de biofixação de CO<sub>2</sub> de 89,2 e 91,7 mg  $L^{-1}d^{-1}$  foram obtidas nos ensaios com 0,1 e 0,3 g  $L^{-1}$  de nanofibras, respectivamente.

**Tabela 2 -** Resultados médios de concentração de biomassa máxima ( $X_{máx}$ ), produtividade máxima ( $P_{máx}$ ), velocidade específica máxima de crescimento ( $\mu_{máx}$ ), tempo de geração ( $t_g$ ) e taxa de biofixação de CO<sub>2</sub> ( $R_{máx}$ ) de *Chlorella fusca* LEB 111 cultivada com 15% (v v<sup>-1</sup>) de CO<sub>2</sub> e com diferentes concentrações de nanofibras.

Parâmetros	Sem nanofibras	Nanofibras d	le 10% PAN e 4	e 4% NPsFe2O3 (g L <sup>-1</sup> )	
		0,1	0,3	0,5	
$X_{máx} (mg L^{-1})$	706,3°±32,8	882,8 <sup>ab</sup> ±8,2	943,3ª±28,4	833,3 <sup>b</sup> ±27,8	
$P_{máx} (mg L^{-1} d^{-1})$	32,7 <sup>b</sup> ±0,8	47,5 <sup>a</sup> ±1,2 <sup>a</sup>	48,8 <sup>a</sup> ±1,2	42,1 <sup>a</sup> ±1,4	
$\mu_{m\acute{a}x}(d^{-1})$	0,16 <sup>a</sup> ±0,012	0,15 <sup>a</sup> ±0,005	$0,17^{a}\pm 0,009$	$0,16^{a}\pm0,002$	
$t_{g}(d)$	4,3 <sup>a</sup> ±0,3	4,5 <sup>a</sup> ±0,1	$4,0^{a}\pm0,2$	4,4 <sup>a</sup> ± <0,1	
$R_{máx} (mg L^{-1} d^{-1})$	$61,4^{c}\pm1,5$	$89,2^{a}\pm2,2$	91,7 <sup>a</sup> ±2,3	$79,2^{b}\pm 2,6$	

Letras idênticas sobrescritas na mesma linha indicam que as médias não diferem significativamente, com nível de confiança de 95% (p> 0,05).

As concentrações de CID aumentaram significativamente ao longo dos 15 dias de cultivo nos ensaios com nanofibras. Os resultados médios de CID (Tabela 3) mostraram que a maior (p>0,05) concentração de CID acumulado (46,6 mg L<sup>-1</sup>) foi obtida nos ensaios com 0,1 g L<sup>-1</sup> de nanofibras, sendo que todos os ensaios com nanofibras apresentaram maior acúmulo de carbono (p>0,05) em relação ao ensaio sem nanofibras. A maior concentração de CID do ensaio sem nanofibras no tempo 0 dia, é devido à ausência das nanofibras, que dessa forma não adsorveram o CO<sub>2</sub> do meio mantendo-o em maior quantidade inicialmente nesse ensaio. As concentrações de CID acumulado (Tabela 3) confirmaram que a adição das nanofibras como adsorventes físicos de CO<sub>2</sub> no cultivo de *C. fusca* LEB 111 promoveram aumento no carbono dissolvido em aproximadamente 3 vezes o CID no cultivo com 0,1 g L<sup>-1</sup> de nanofibras em comparação a condição sem nanofibras.

De acordo com Rosa et al. (2015), a concentração de CID é obtida através das concentrações das espécies químicas ( $CO_2$ ,  $HCO_3^-$  e  $CO_3^{-2}$ ) em equilíbrio. Considerando o acúmulo de  $CO_2$ ,  $HCO_3^-$  e  $CO_3^{-2}$  no meio de cultivo, a espécie predominante foi o bicarbonato, em 87,3, 95,1, 95,9 e 97,5% no ensaio , com 0,1, 0,3 e 0,5 g L<sup>-1</sup> de adsorvente, respectivamente. Segundo Grobbelaar (2013), o bicarbonato é uma das formas preferidas de carbono absorvido

pelas células de microalgas. Este fato foi evidenciado pelo maior crescimento e biofixação de  $CO_2$  obtidos nos cultivos com adsorventes, que apresentaram maiores concentrações da espécie química bicarbonato em comparação ao sem nanofibras. Sendo assim, o fornecimento suficiente de  $CO_2$  no meio de cultivo pode intensificar a atividade carboxilase da enzima rubisco (ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenase), que é responsável pela fixação de  $CO_2$  no ciclo de Calvin e ativada sob condições alcalinas, resultando no aumento da eficiência fotossintética e da biofixação de  $CO_2$  (HILLE et al., 2013).

Portanto, o aumento do acúmulo de CID nos ensaios por 15 dias com adição de nanofibras confirma que esses adsorventes podem maximizar o CO<sub>2</sub> no cultivo de microalgas. Entre os diferentes tratamentos com nanofibras avaliados, a microalga *Chlorella* apresentou maior crescimento e taxa de biofixação de CO<sub>2</sub> quando cultivada com 0,1 e 0,3 g L<sup>-1</sup> de nanofibras livres no meio de cultivo, respectivamente. Como não houve diferença estatística em comparação a essas duas condições, considera-se a adição de 0,1 g L<sup>-1</sup> de nanofibras mais viável economicamente para biofixação de CO<sub>2</sub> pela microalga *Chlorella fusca* LEB 111, visto que é necessária quantidade 3 vezes menor de nanofibras para o cultivo. Além disso, o ensaio com 0,1 g L<sup>-1</sup> de nanofibras aumentou a concentração de CID no meio de cultivo.

Tempo (d)	Sem nanofibras	Nanofibras de 10% PAN e 4% NPsFe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (g L <sup>-1</sup> )			
		0,1	0,3	0,5	
0	32,9±0,2 <sup>d,A</sup>	21,2±0,2 <sup>c,C</sup>	20,1±0,1 <sup>e,D</sup>	23,0±0,1 <sup>e,B</sup>	
3	40,8±0,4 <sup>c,A</sup>	26,9±0,9 <sup>c,B</sup>	$42,9\pm2,1^{d,A}$	$41,6\pm1,7^{d,A}$	
6	$44,1\pm0,7^{b,A}$	47,9±1,3 <sup>b,A</sup>	46,6±1,9 <sup>cd,A</sup>	$43,8{\pm}0,9^{d,A}$	
9	26,7±1,1 <sup>e,B</sup>	51,7±2,5 <sup>b,A</sup>	50,8±1,3 <sup>bc,A</sup>	49,6±0,8 <sup>c,A</sup>	
12	31,4±0,5 <sup>d,B</sup>	64,4±3,2 <sup>a,A</sup>	56,6±3,0 <sup>ab,A</sup>	56,6±0,4 <sup>b,A</sup>	
15	47,3±0,7 <sup>a,C</sup>	67,8±1,0 <sup>a,A</sup>	61,9±1,8 <sup>a,B</sup>	61,4±0,5 <sup>a,B</sup>	
CID <sub>ac</sub>	$14,4\pm0,8^{D}$	46,6±1,2 <sup>A</sup>	$41,9{\pm}1,8^{\rm B}$	38,4±0,5 <sup>C</sup>	

**Tabela 3 -** Resultados médios das concentrações de carbono inorgânico dissolvido (CID, mg L<sup>-1</sup>) e acumulado (CID<sub>ac</sub>, mg L<sup>-1</sup>) para *Chlorella fusca* LEB 111 cultivada com 15% (v v<sup>-1</sup>) de CO<sub>2</sub> durante 15 dias.

Letras maiúsculas idênticas sobrescritas na mesma linha para o mesmo tempo ou letras minúsculas idênticas sobrescritas na mesma coluna para o mesmo tratamento indicam que as médias não diferem significativamente em um nível de confiança de 95% (p> 0,05).

As concentrações das proteínas obtidas da biomassa de C. fusca LEB 111 não foram significativamente influenciadas (p>0,05) pelos tratamentos com diferentes concentrações de nanofibras, não causando redução no conteúdo total de proteínas em relação ao cultivo sem nanofibras, com valores médios observados entre 32,1- 34,1% m m<sup>-1</sup> (Figura 5). Rosa, Morais e Costa (2018) cultivaram C. fusca LEB 111 com absorvente químico de CO<sub>2</sub> e obtiveram aproximadamente 32-38% m m<sup>-1</sup> de proteínas, sendo que houve redução significativa na produção de proteínas devido a adição dos absorventes aos cultivos. Quanto a concentração de lipídios, não houve diferença estatística significativa (p>0,05) entre os ensaios com nanofibras e sem nanofibras. No entanto, o conteúdo lipídico da biomassa produzida nos cultivos com 0,3 g L<sup>-1</sup> de nanofibras (39,2% m m<sup>-1</sup>) e sem nanofibras (37,3% m m<sup>-1</sup>) foi maior do que o conteúdo lipídico obtido por Rosa, Morais e Costa (2018) (28% m m<sup>-1</sup>) e Rosa et al. (2019) (30,8% m m<sup>-1</sup>) <sup>1</sup>) utilizando a mesma cepa de C. fusca LEB 111. Além disso, Rosa, Morais e Costa (2018) observaram que a adição de maior concentração do absorvente químico MEA ao cultivo reduziu significativamente a concentração de lipídios. Isso ocorre pois o MEA forma carbamatos no meio de cultivo que podem causar danos como a redução da produção de macromoléculas pela microalga Chlorella (RUFFORD et al., 2012), enquanto que as nanofibras não apresentam nenhum tipo de reação com os nutrientes existentes no meio de cultivo.

A concentração de carboidratos (26,8% m m<sup>-1</sup>) produzida pela biomassa de C. fusca LEB 111 no cultivo com 0,1 g L<sup>-1</sup> de nanofibras foi maior (p<0,05) que o tratamento sem nanofibras. Isso pode ter ocorrido pois nesses ensaios houve maior acúmulo de carbono inorgânico no meio (46,6 mg L<sup>-1</sup>). Além disso, a concentração da espécie química bicarbonato foi predominante no cultivo com 0,1 g L<sup>-1</sup> de nanofibras (95,1%) em comparação ao cultivo sem nanofibras (87,3%), e a maior concentração dessa fonte de carbono pode aumentar o conteúdo de carboidratos por estar mais prontamente disponível do que o CO<sub>2</sub> para o microorganismo. Braga et al. (2018) também observaram que nos cultivos com fonte de carbono bicarbonato, foram obtidas maiores concentrações de carboidratos, em comparação aos cultivos com CO<sub>2</sub>. O íon bicarbonato é a principal espécie química que entra na célula por transporte ativo e a enzima anidrase carbônica age sobre o bicarbonato intracelular liberando o CO<sub>2</sub>. Esses mecanismos incorporam o carbono no ciclo de Calvin, pela desidratação do bicarbonato acumulado, produzindo macromoléculas orgânicas (HO et al., 2011). Assim, os cultivos com 0,1 g L<sup>-1</sup> de nanofibras como adsorventes de CO<sub>2</sub> além da potencialidade para maior biofixação do gás em comparação a cultivos sem nanofibras, também possuem potencial para produção de carboidratos.





Dessa forma, a microalga *Chlorella fusca* LEB 111 cultivada com nanofibras poliméricas para biofixação de CO<sub>2</sub>, além de reduzir as emissões do gás para a atmosfera, tem potencial para aplicação da biomassa na produção de biocombustíveis, como o bioetanol. A produção de biocombustíveis por microalgas apresenta diversas vantagens comparada as matérias-primas geralmente utilizadas, que incluem maior taxa de crescimento celular; a capacidade de utilizar efluentes líquidos (águas residuais), gasosos (gás de combustão) e sólidos (cinzas de combustão) como fonte de nutrientes; o uso de terras não aráveis, não competindo com a produção de alimentos; curto período de colheita; e a possibilidade de manipular condições do cultivo para produzir os compostos de interesse (MORAIS et al., 2016). Essas vantagens podem viabilizar a aplicação de microalgas como fonte de biomassa limpa, eficiente e sustentável para a produção da biomassa, e os problemas ambientais relacionados a estes efluentes (DAMIANI et al., 2010). Além disso, a redução de custos pode ser obtida também utilizando uma estratégia de produção baseada em biorrefinaria, onde cada componente da biomassa microalgal pode ser utilizado para produzir outros produtos (MALLICK et al., 2016).

Além dos carboidratos que poderiam ser convertidos em bioetanol, a biomassa microalgal contém outros componentes de alto valor agregado, a partir dos quais podem ser desenvolvidos produtos refinados para diversas aplicações (LAMMENS et al., 2012).

#### 4 CONCLUSÃO

Os cultivos com nanofibras contendo NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> na forma livre apresentaram melhor desempenho cinético e de biofixação. Com 0,1 g L<sup>-1</sup> de nanofibras poliméricas contendo 10% (m v<sup>-1</sup>) PAN/ DMF e 4% (m v<sup>-1</sup>) de NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> dispostas livres no meio houve maior taxa de biofixação de CO<sub>2</sub> de 89,2 mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> igual estatisticamente ao ensaio contendo 0,3 g L<sup>-1</sup> de nanofibras (91,7 mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>), entretanto com a vantagem de redução dos custos devido a utilização de menor concentração de nanofibras. A condição de 0,1 g L<sup>-1</sup> de nanofibras também se destacou pois apresentou máximo CID<sub>ac</sub> (46,6 mg L<sup>-1</sup>) e produção de carboidratos (26,8 mg L<sup>-1</sup>). Dessa forma, o uso de tecnologia de nanofibras como adsorvedores de CO<sub>2</sub> em cultivos microalgais é um método promissor para aumentar a capacidade biológica de utilização deste composto como nutriente. Assim, a redução das emissões do gás para o ambiente aliada ao menor custo no processo de cultivo com a paralela produção de macromoléculas de interesse, pode tornar o cultivo microalgal deste estudo viável em escala industrial.

#### **5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

APHA, American Public Health Association, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th ed. APHA-AWWAWPCF, Washington, 1998.

BELBUTE, J. M.; PEREIRA, A. M. An alternative reference scenario for global CO<sub>2</sub> emissions from fuel consumption: an ARFIMA approach. **Economics Letters**, v. 136, p. 108-111, 2015.

BHOLA, V.; SWALAHA, F.; KUMAR, R. R.; SINGH, M.; BUX, F. Overview of the potential of microalgae for CO<sub>2</sub> sequestration. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 11, p. 2103-2118, 2014.

BRAGA, V. S.; MASTRANTONIO, D. J. S.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. Cultivation strategy to stimulate high carbohydrate content in *Spirulina* Biomass. **Bioresource Technology**, v. 269, p. 221-226, 2018.

BRUNE, D. E.; NOVAK, J. T. The use of carbonate equilibrium chemistry in quantifying algal carbon uptake kinetics. **European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 13, p. 71-76, 1981.

CHANG, Y.-M.; TSAI, W.-T.; LI, M.-H. Characterization of activated carbono prepared from *Chlorella*-based algal residue. **Bioresource Technology,** v. 184, p. 344-348, 2015.

CHEAH, W. Y.; LING, T. C.; JUAN, J. C.; LEE, D. J.; CHANG, J. S.; SHOW, P. L. Biorefineries of carbon dioxide: From carbon capture and storage (CCS) to bioenergies production. **Bioresource Technology**, v. 215, p. 346-356, 2016.

CHIU, S. Y.; KAO, C. Y.; CHEN, C. H.; KUAN, T. C.; ONG, S. C.; LIN, C. S. Reduction of CO<sub>2</sub> by a High-density Culture of *Chlorella* sp. in a Semicontinuous Photobioreactor. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 3389-3396, 2008.

DAMIANI, M.; POPOVICH, C.; CONSTENLA, D.; LEONARDI, P. I. Lipid analysis in *Haematococcus pluvialis* to assess its potential use as a biodiesel feedstock. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 3801-3807, 2010.

DUARTE, J. H.; FANKA, L. S.; COSTA, J. A. V. Utilization of simulated flue gas containing CO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, NO and ash for *Chlorella fusca* cultivation. **Bioresource Technology**, v. 214, p. 159-165, 2016.

DUARTE, J. H.; MORAIS, E. G.; RADMANN, E. M.; COSTA, J. A. V. Biological CO<sub>2</sub> mitigation from coal power plant by *Chlorella fusca* and *Spirulina* sp. **Bioresource Technology**, v. 234, p. 472-475, 2017.

DUBOIS, M.; GILLES, K.; HAMILTON, J.; REBERS, P.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, p. 350-356, 1956.

GROBBELAAR, J. U. Inorganic algal nutrition. In: Richmond, A., Hu, Q. (Eds.), Handbook of Microalgal Culture. John Wiley & Sons Ltd, Oxford, UK, pp. 123-133, 2013.

HILLE, R. V.; FAGAN, M.; BROMFIELD, L.; POTT, R. A modified pH drift assay for inorganic carbon accumulation and external carbonic anhydrase activity in microalgae. **Journal of Applied Phycology**, v. 26, p. 377-385, 2013.

HO, S. H.; CHEN, C.; LEE, D.; CHANG, J. Perspectives on microalgal CO<sub>2</sub> emissions mitigation systems – a review. **Biotechnology Advances**, v. 29, p. 189-198, 2011.

HUANG, C. H.; TAN, C. S. A Review: CO<sub>2</sub> Utilization. Aerosol and Air Quality Research, v. 14, p. 480-499, 2014.

KASSIM, M. A.; MENG, T. K. Carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) biofixation by microalgae and its potential for biorefinery and biofuel production. Science of the Total Environment, v. 584-585, p. 1121-1129, 2017.

KOYTSOUMPA, E. I.; BERGINS, C.; KAKARAS, E. The CO<sub>2</sub> economy: Review of CO<sub>2</sub> capture and reuse Technologies. **The Journal of Supercritic Fluids**, v. 132, p. 3-16, 2018.

LAMMENS, T. M.; FRANSSEN, M. C. R.; SCOTT, E. L.; SANDERS, J. P. M. Availability of protein-derived amino acids as feedstock for the production of bio-based chemicals. **Biomass and Bioenergy**, v. 44, p. 168-181, 2012.

LING, X.; GUO, J.; LIU, X.; ZHANG, X.; WANG, N.; LU, Y.; NG, I.-S. Impact of carbon and nitrogen feeding strategy on high production of biomass and docosahexaenoic acid (DHA) by *Schizochytrium* sp. LU310. **Bioresource Technology**, v. 184, p. 139-147, 2015.

LIU, J.; HU, Q. *Chlorella*: industrial production of cell mass and chemicals. In: Richmond, A., Hu, Q. (Eds.), Handbook of Microalgal Culture. John Wiley & Sons Ltd, Oxford, UK, p. 327-338, 2013.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **The Journal of Biologic Chemistry**, v. 193, p. 265-275, 1951.

MALLICK, N.; BAGCHI, S. K.; KOLEY, S.; SINGH, A. K. Progress and challenges in microalgal biodiesel production. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 1019, 2016.

MANGAN, N. M.; FLAMHOLZ, A.; HOOD, R. D.; MILO, R.; SAVAGE, D. F. pH determines the energetic efficiency of the cyanobacterial CO<sub>2</sub> concentrating mechanism. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 113, p. 5354-5362, 2016.

MARSH, J. B.; WEINSTEIN, D. B. Simple charring method for determination of lipids. Journal of Lipid Research, v. 7, p. 574-576, 1966.

MIYACHI, S.; IWASAKI, I.; SHIRAIWA, Y. Historical perspective on microalgal and cyanobacterial acclimation to low- and extremely high-CO<sub>2</sub> conditions. **Photosynthesis Research**, v. 77, p. 139-153, 2003.

MORAIS, E. G.; MORAES, L.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. **Biodiesel and bioethanol from microalgae.** In: Carlos Ricardo Soccol; Ashok Pandey. (Org.). Green Fuels Technology. 1ed.EUA: Springer, v. 1, p. 1-31, 2016.

MUMFORD, K. A.; WU, Y.; SMITH, K. H.; STEVENS, G. W. Review of solvent based carbon-dioxide capture Technologies. **Frontiers of Chemical Science and Engineering**, v. 9, p. 125-141, 2015.

OLIVIER, J. G. J.; JANSSENS-MAENHOUT, G.; MUNTEAN, M.; PETERS, J. A. H. W. **Trends in Globals CO<sub>2</sub> Emission: 2015 Report.** Background Studies. PBL Netherlands Environmental Assessment Agency, 2015.

PIRES, J. C. M.; ALVIM-FERRAZ, M. C. M.; MARTINS, F. G.; SIMÕES, M. Carbon dioxide capture from flue gases using microalgae: Engineering aspects and biorefinery concept. **Renewable and Sustanable Energy Reviews,** v. 16, p. 3043-3053, 2012.

RADMANN, E. M.; CAMERINI, F. V.; SANTOS, T. D.; COSTA, J. A. V. Isolation and application of SO<sub>X</sub> and NO<sub>X</sub> resistant microalgae in biofixation of CO<sub>2</sub> from thermoelectricity plants. **Energy Conversion and Management**, v. 52, p. 3132-3136, 2011.

RIPPKA, R.; DERUELLES, J.; WATERBURY, J. W.; HERDMAN, M.; STANIER, R. G. Genetic assignments, strain histories and properties of pure cultures of Cyanobacteria. **Journal of General Microbiology**, v. 111, p. 1-61, 1979.

ROSA, G. M.; MORAES, L.; CARDIAS, B. B.; SOUZA, M. R. A. Z.; COSTA, J. A. V. Chemical absorption and CO<sub>2</sub> biofixation via the cultivation of *Spirulina* in semicontinuous mode with nutrient recycle. **Bioresource Technology**, v. 192, p. 321-327, 2015.

ROSA, G. M.; MORAES, L.; SOUZA, M. R. A. Z.; COSTA, J. A. V. *Spirulina* cultivation with a CO<sub>2</sub> absorbent: Influence on growth parameters and macromolecule production. **Bioresource Technology**, v. 200, p. 528-534, 2016.

ROSA, G. M.; MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Green alga cultivation with monoethanolamine: Evaluation of CO<sub>2</sub> fixation and macromolecule production. **Bioresource Technology**, v. 261, p. 206-212, 2018.

RUBIO, F. C.; FERNÁNDEZ, F. G. A.; PÉREZ, J. A. S.; CAMACHO, F. G.; GRIMA, E. M. Prediction of dissolved oxygen and carbon dioxide concentration profiles in tubular photobioreactors for microalgal culture. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 62, p. 71-86, 1999.

SALIH, F. M. Microalgae Tolerance to High Concentrations of Carbon Dioxide: A Review. **Journal of Environmental Protection,** v. 2, p. 648-654, 2011.

SLOCOMBE, S. P.; BENEMANN, J. R. Microalgal Production for Biomass and High Value Products. CRC Press, Boca Ratón, 2016.

TEBBANI, S.; LOPES, F.; FILALI, R.; DUMUR, D.; PAREAU, D. CO<sub>2</sub> Biofixation by Microalgae. John Wiley & Sons Inc, Hoboken, 2014.

TOLEDO-CERVANTES, A.; MORALES, M.; NOVELO, E.; REVAH, S. Carbon dioxide fixation and lipid storage by Scenedesmus obtusiusculus. **Bioresource Technology**, v. 130, p. 652-658, 2013.

WILCOX, J.; HAGHPANAH, R.; RUPP, E. C.; HE, J.; LEE, K. Advancing Adsorption and Membrane-Separation Processes for the Gigaton Carbon Capture Challenge. Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering, v. 5, p. 479-505, 2014.

VANTHOOR-KOOPMANS, M.; WIJFFELS, R. H.; BARBOSA, M. J.; EPPINK, M. H. M. Biorefinery of microalgae for food and fuel. **Bioresource Technology**, v. 135, p. 142-149, 2013.

VAZ, B. S.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. CO<sub>2</sub> Biofixation by the Cyanobacterium *Spirulina* sp. LEB 18 and the Green Alga *Chlorella fusca* LEB 111 Grown Using Gas Effluents and Solid Residues of Thermoelectric Origin. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 178, p. 418-429, 2016.

VAZ, B. S.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. Innovative nanofiber technology to improve carbon dioxide biofixation in microalgae cultivation. **Bioresource Technology**, v. 273, p. 592-598, 2019.

YEH, K. L.; CHANG, J. S. Effects of cultivation conditions and media composition on cell growth and lipid productivity of indigenous microalgae *Chlorella vulgaris* ESP-31. **Bioresource Technology,** v. 105, p. 120-127, 2012.

ZENG, X.; DANQUAH, M. K.; ZHANG, S.; ZHANG, X.; WU, M.; CHEN, X. D.; NG, I. S.; JING, K.; LU, Y. Autotrophic cultivation of *Spirulina platensis* for CO<sub>2</sub> fixation and phycocyanin production. **Chemical Engineering Journal**, v. 183, p. 192-197, 2012.

ZHAO, B.; SU, Y. Process Effect of Microalgalcarbon Dioxide Fixation and Biomass Production: A Review. **Renewable and Sustanable Energy Reviews**, v. 31, p. 121-132, 2014.

ZHENG, Q.; MARTIN, G. J. O.; KENTISH, S. E. Energy efficient transfer of carbon dioxide from flue gases to microalgal systems. **Energy and Environmental Science**, v. 9, p. 1074-1082, 2016.

ZHU, L. D.; HILTUNEN, E.; ANTILA, E.; ZHONG, J. J.; YUAN, Z. H.; WANG, Z. M. Microalgal biofuels: flexible bioenergies for sustainable development. **Renewable and Sustanable Energy Reviews**, v. 30, p. 1035-1046, 2014.
ARTIGO 3

FIXAÇÃO FÍSICA E BIOLÓGICA DE CO2 COM NANOFIBRAS POLIMÉRICAS EM CULTIVOS OUTDOOR DE *Chlorella fusca* LEB 111

#### **RESUMO**

O objetivo deste estudo foi cultivar a microalga Chlorella fusca LEB 111 com nanofibras poliméricas como adsorventes físicos de  $CO_2$  em sistemas de cultivo indoor e outdoor, para verificar o efeito sobre a produtividade de biomassa, a biofixação de CO<sub>2</sub> e a produção de macromoléculas. A microalga foi cultivada com nanofibras poliméricas desenvolvidas com 10% (m v<sup>-1</sup>) de poliacrilonitrila (PAN)/dimetilformamida (DMF) contendo 4% (m v<sup>-1</sup>) de nanopartículas de óxido de ferro (NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) que foram adicionadas aos cultivos indoor e outdoor em diferentes concentrações: 0, 0,1, 0,3 e 0,5 g L<sup>-1</sup>. Os experimentos foram realizados por 15 dias em fotobiorreatores tubulares verticais. Os ensaios indoor foram mantidos em câmara termostatizada a 25 °C e fotoperíodo 12h claro/12h escuro, com a fase clara fornecida por lâmpadas fluorescentes. Os ensaios outdoor foram realizados em estufa com luminosidade solar e temperatura do ambiente. O cultivo outdoor de Chlorella fusca LEB 111 com 0,3 g L<sup>-1</sup> de nanofibras 10% (m v<sup>-1</sup>) PAN/DMF com 4% (m v<sup>-1</sup>) NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> aumentou a concentração de biomassa máxima (2928,5 mg L<sup>-1</sup>) e a eficiência de biofixação de CO<sub>2</sub> (33,1%). A produtividade de biomassa e taxa de biofixação de  $CO_2$  foram maiores (165,4 mg L<sup>-1</sup>d<sup>-1</sup>; 310,9 mg L<sup>-1</sup>d<sup>-1</sup>) nos cultivos outdoor comparado ao indoor (69,7 mg L<sup>-1</sup>d<sup>-1</sup>; 131 mg L<sup>-1</sup>d<sup>-1</sup>). Nos ensaios outdoor com 0,3 g L<sup>-1</sup> de nanofibras houve incremento da produção de lipídios microalgais de 10,9% comparado aos ensaios outdoor sem nanofibras. Dessa forma, esse primeiro estudo de cultivos outdoor de Chlorella fusca LEB 111 com nanofibras poliméricas como adsorventes físicos de CO2 mostrou o efeito das nanoestruturas em maximizar a biofixação do gás e produzir biomoléculas que podem ser utilizadas para obtenção de bioprodutos. Assim, esses cultivos sob condições não controladas possuem potencial para reduzir os custos de produção microalgal e tornar o cultivo com nanofibras adsorventes mais sustentável.

Palavras-chave: Adsorvente. Alga verde. Biofixação. Lipídios. Nanofibras. Sustentabilidade.

## 1 INTRODUÇÃO

As emissões de gases de efeito estufa, principalmente o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) da queima de combustíveis fósseis, são a principal causa de aquecimento global. Esses combustíveis são responsáveis pela liberação de 29 bilhões de toneladas/ ano de CO<sub>2</sub> (ABISHEK; PATEL; RAJAN, 2014; KHAN; SHIN; KIM, 2018). O aumento das emissões de CO<sub>2</sub> e poluição ambiental causada por recursos não-renováveis, combinado com o esgotamento desses recursos e segurança energética são fatores importantes no desenvolvimento de fontes alternativas de energia limpa e ambientalmente correta. Neste contexto, destacam-se as microalgas como potencial fonte para produção de energia renovável (PŁACZEK; PATYNA; WITCZAK, 2017).

As microalgas são micro-organismos fotossintéticos que convertem a luz solar, a água e o CO<sub>2</sub> em biomassa, sendo assim indicadas para captura do gás de efeito estufa (BARUA; DEB, 2016). Além disso, a biomassa microalgal é fonte de proteínas, carboidratos e lipídios, que podem ser utilizados para obtenção de produtos químicos renováveis, nutrição humana, ração animal e biocombustíveis (APEL; WEUSTER-BOTZ, 2015). Espécies microalgais do gênero *Chlorella* são resistentes a altas concentrações de CO<sub>2</sub>, sendo caracterizadas por rápido crescimento e eficiência na utilização desse gás (ZHAO; SU, 2014; ADAMCZYK; LASEK; SKAWIŃSKA, 2016).

Os cultivos outdoor de microalgas geralmente são submetidos a temperaturas e luminosidades mais elevadas do que em cultivos indoor devido as condições ambientais, sendo condições desejáveis durante o dia pois devido a fotossíntese tem efeito favorável nas taxas de crescimento, no rendimento de biomassa e composição bioquímica de microalgas (PANDEY, 2014; KHAN; SHIN; KIM, 2018). Além disso, a espécie *Chlorella* é termotolerante, podendo crescer em temperaturas altas de até 42°C (RAZZAK et al., 2013). Outras vantagens importantes dos cultivos outdoor é a possibilidade e facilidade na ampliação da escala do processo em função do espaço disponível, o que é limitado em cultivos indoor, e principalmente apresenta a vantagem de redução dos custos de produção devido ao aproveitamento das condições climáticas (DEAMICI; SANTOS; COSTA, 2018).

Diferentes configurações de fotobiorreatores podem ser utilizados para o cultivo de microalgas. Os fotobiorreatores tubulares verticais (FTVs) são amplamente conhecidos como eficientes para biofixação de CO<sub>2</sub> por microalgas, devido a melhor dissolução e redução da perda do gás para a atmosfera em função do design desses biorreatores (CHEN et al., 2014). Os FTVs consistem em cilindros que são construídos a partir de acrílico ou vidro (XU et al., 2009),

visando a transparência para permitir ampla área de iluminação dentro do cultivo. O diâmetro desses fotobiorreatores pode alcançar até 20 cm, a fim de manter alta relação de superfície/volume e a agitação do sistema ocorre por aeração, em fluxo turbulento, para evitar a decantação das células microalgais (CHISTI, 2007). No entanto, quando o CO<sub>2</sub> é injetado no FTV o gás entra no fluxo de ar e forma bolhas que rapidamente permeam através da coluna de líquido, o que dificulta a transferência eficiente de CO<sub>2</sub> para as microalgas (BARUA; DEB, 2016).

Assim, a alternativa promissora para aumentar a transferência de massa de  $CO_2$  para as células é a utilização de nanofibras poliméricas como adsorventes físicos do gás no cultivo de microalgas. As nanofibras são materiais poliméricos em escala nanométrica altamente porosos e com extensa área de superfície/ volume que permitem alta capacidade de adsorção de  $CO_2$ . Dessa forma, estes adsorventes mantem o  $CO_2$  por maior tempo em contato com a microalga, maximizando a transferência entre a interface gás-líquido e consequentemente aumentando a biofixação do gás pelo micro-organismo (VAZ et al., 2019).

Pesquisas sobre a utilização de nanofibras poliméricas como adsorventes físicos de  $CO_2$ no cultivo de microalgas são recentes, e novos estudos são necessários. A utilização de adsorventes para aumentar a biofixação do  $CO_2$  em cultivos outdoor, utilizando condições ambientais de temperatura e de luminosidade, é a maneira eficaz de reduzir os custos de cultivos de microalgas e torná-lo mais sustentável. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi cultivar a microalga *Chlorella fusca* LEB 111 com adsorventes físicos de  $CO_2$  em sistemas de cultivo indoor e outdoor, visando avaliar a produtividade de biomassa, a biofixação de  $CO_2$  e a produção de macromoléculas.

#### 2 MATERIAL E MÉTODOS

#### 2.1 MICRO-ORGANISMO, MEIO DE CULTIVO E ADAPTAÇÃO DO INÓCULO

O micro-organismo utilizado para cultivo foi a *Chlorella fusca* LEB 111, obtida da coleção de culturas do Laboratório de Engenharia Bioquímica (LEB) da Universidade Federal do Rio Grande (FURG) (DUARTE et al., 2017). A manutenção do inóculo microalgal e os cultivos foram realizados com o meio BG 11 (RIPKA et al., 1979), sem a fonte de carbono carbonato de sódio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) a qual foi substituída por 15% (v v<sup>-1</sup>) de gás CO<sub>2</sub> (White Martins, Brazil). Para adaptação da microalga foi injetado por 7 dias 2% (v v<sup>-1</sup>) de CO<sub>2</sub> por 1 min a cada hora na fase clara.

Cultivos descontínuos alimentados com CO2 com concentração inicial de biomassa de 0,2 g L<sup>-1</sup>, em duplicata, foram realizados por 15 dias em fotobiorreatores tubulares verticais (FTVs) com capacidade total de 1,8 L e volume útil de 1,5 L (ROSA et al., 2018) (Figura 1). Os cultivos indoor foram realizados em câmara de crescimento a 25°C, com fotoperíodo de 12h claro/ 12h escuro, iluminação de 41,6 µmol<sub>fótons</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> utilizando lâmpadas fluorescentes de 40 W (Figura 2a) e agitação diária por injeção de 0,3 vvm (mLmistura mLmeio<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>) de ar comprimido (VAZ et al., 2019). O fluxo de CO<sub>2</sub> foi controlado com medidores de vazão (Cole-Parmer, USA), e o gás foi injetado por 1 min h<sup>-1</sup> durante a fase clara de crescimento. Os cultivos outdoor foram realizados em estufa em FTVs sob condições ambientais (Figura 2b). O volume útil de todos ensaios foi mantido constante através da adição diária de água destilada estéril nos cultivos indoor e outdoor. Nanofibras poliméricas (10% m v<sup>-1</sup>) de poliacrilonitrila (PAN) dissolvidas em solvente dimetilformamida (DMF) contendo 4% (m v<sup>-1</sup>) de nanopartículas de óxido de ferro (NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) (VAZ et al., 2019) foram utilizadas como adsorventes físicos de CO2 no cultivo de Chlorella fusca LEB 111. Os adsorventes foram adicionados nas concentrações de 0, 0,1, 0,3 e 0,5 g  $L^{-1}$  e foram dispostos livre no meio de cultivo (VAZ et al. 2019).

Figura 1 - Fotobiorreator tubular vertical com as nanofibras dispostas livres



# Figura 2 - Cultivos indoor (a) e outdoor (b) com diferentes concentrações de nanofibras poliméricas de 10% PAN/DMF com 4% NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>



(b)



# 2.3 DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS

A concentração de biomassa foi determinada diariamente através da densidade óptica utilizando espectrofotômetro a 670 nm (UVmini 1240, Shimadzu, Japão). A curva de crescimento padrão de *C. fusca* foi utilizada para correlacionar a densidade óptica com a biomassa seca. No final dos cultivos a biomassa total foi quantificada por peso seco, sendo descontado o peso das nanofibras para contabilizar somente a concentração de biomassa produzida. Medidas diárias do pH foram determinadas com medidor de pH digital (Mettler Toledo FiveGo<sup>TM</sup>, Suíça). A temperatura e luminosidade também foram acompanhadas diariamente através de termômetro digital (SH 102, Brasil) e radiômetro (WALZ ULM-500, Alemanha), respectivamente. A alcalinidade foi monitorada a cada 3 dias, por titulação

(a)

potenciométrica (APHA, 1998). A concentração de carbono inorgânico dissolvido (CID) foi calculada a partir do pH e alcalinidade utilizando as equações de equilíbrio apresentadas por Rosa et al. (2015). A concentração de CID acumulado (CID<sub>ac</sub>) foi calculada utilizando a equação CID<sub>ac</sub> = CID<sub>tf</sub> - CID<sub>t0</sub>, onde CID<sub>tf</sub> e CID<sub>t0</sub> são as concentrações de CID no final e início dos cultivos, respectivamente.

# 2.4 PARÂMETROS DE CRESCIMENTO E BIOFIXAÇÃO DE CO2

Os perfis de concentração de biomassa foram utilizados para determinar a concentração de biomassa máxima ( $X_{máx}$ , mg L<sup>-1</sup>), produtividade volumétrica máxima ( $P_{máx}$ , mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>), velocidade específica máxima de crescimento ( $\mu_{máx}$ , d<sup>-1</sup>) e tempo de geração (tg, d). A produtividade de biomassa volumétrica foi calculada pela equação  $P_X = (X-X_0)/(t-t_0)$ , onde  $X_t$ é a concentração de biomassa (mg  $L^{-1}$ ) no tempo t (d), e  $X_0$  é a concentração de biomassa (mg  $L^{-1}$ ) no tempo t<sub>0</sub> (d). A taxa de crescimento específico máxima foi determinada pela regressão linear da fase de crescimento logarítmico, que relaciona o perfil semi-logarítmico da concentração de biomassa (ln X) com o tempo (d). O tempo de geração foi calculado pela equação tg = ln (2)/ $\mu_{máx}$  na fase de crescimento exponencial. A taxa de biofixação de CO<sub>2</sub> (R, mg  $L^{-1} d^{-1}$ ) foi determinada utilizando os valores de P<sub>X</sub> (mg  $L^{-1} d^{-1}$ ), as massas molares do CO<sub>2</sub>  $(M_{CO2}, g \text{ mol}^{-1})$  e do carbono  $(M_C, g \text{ mol}^{-1})$ , de acordo com a equação  $R = P_X X_{cbm} M_{CO2}/M_C$ (VAZ et al., 2019). Para cálculo de R (mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>) a fração mássica de carbono contida na biomassa microalgal (Xcbm) foi considerada de 50% (m m<sup>-1</sup>) (CHANG; TSAI; LI, 2015). A eficiência do uso de CO<sub>2</sub> (E, % m m<sup>-1</sup>) foi calculada pela equação E = R V<sub>trabalho</sub> /  $\dot{m}$  100, onde R (mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>) é a taxa de biofixação de CO<sub>2</sub>,  $V_{trabalho}$  (L) é o volume de trabalho útil dos fotobiorreatores e m (mg d<sup>-1</sup>) é a taxa diária de alimentação de CO<sub>2</sub> (ZHANG; KURANO; MIYACHI, 2002).

# 2.5 RECUPERAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA BIOMASSA

A biomassa produzida foi recuperada do meio de cultivo por centrifugação (Hitachi Himac CR-GIII, Tokyo, Japan) a 9000g e 20°C por 20 min, ressuspendida em água destilada e centrifugada novamente sob as mesmas condições. A biomassa concentrada foi congelada a -80°C, liofilizada por 48 h e mantida a -20°C até a caracterização. A umidade da biomassa microalgal foi determinada por análise termogravimétrica (TGA) (Shimadzu DTG-60, Japan),

onde as amostras foram aquecidas até 600 °C, com taxa de aquecimento de 10 ° C min<sup>-1</sup> e vazão de nitrogênio de 40 mL min<sup>-1</sup>. A concentração de proteínas na biomassa microalgal foi determinada através do método descrito por Lowry et al. (1951), com pré-tratamento térmico e alcalino da biomassa para solubilização das proteínas insolúveis. O teor de carboidratos na biomassa foi determinado pelo método Dubois fenol-sulfúrico, utilizando curva padrão de glicose (DUBOIS et al., 1956). A concentração de lipídios foi determinada utilizando método colorimétrico (MARSH; WEINSTEIN, 1966).

# 2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os resultados médios obtidos foram comparados por análise de variância (ANOVA), seguido por teste Tukey com nível de confiança de 95%.

## **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A microalga *Chlorella fusca* LEB 111 cresceu em todas as condições experimentais (Figura 3). Nos ensaios indoor foi observada tendência à fase de adaptação fisiológica de crescimento da microalga *C. fusca* LEB 111, mas a reprodução celular exponencial ocorreu rapidamente nos primeiros dias de cultivo. A fase de adaptação pode ocorrer devido a alterações na composição dos nutrientes, pH e temperatura, ou devido a adição de novos fatores aos cultivos (KAMPEN, 2014). Nesta fase as enzimas necessárias para o metabolismo nutricional são sintetizadas.

Entretanto, neste estudo a microalga *C. fusca* LEB 111 foi pré-adaptada a baixas concentrações de CO<sub>2</sub> (2%) para evitar mudança súbita de nutrientes que pode resultar em estresse e retardar o crescimento. Vaz et al. (2019) também observaram curvas com tendência de fase de pré-adaptação da microalga *C. fusca* LEB 111 cultivada com nanofibras 10% PAN com 4% NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, e relataram que esta fase pode não ser considerada visto que ocorre crescimento e/ou produção de biomassa, mas como há adsorção da biomassa produzida nas nanofibras, a quantidade real de biomassa não é quantificada no meio de cultivo por densidade óptica.

Nos ensaios indoor, o máximo crescimento (1235,8 mg L<sup>-1</sup>) (p<0,05) foi obtido nos cultivos com 0,1 g L<sup>-1</sup> de nanofibras poliméricas 10% PAN com 4% NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, sendo 50,8% maior que o crescimento máximo obtido no ensaio sem nanofibras. Os ensaios indoor com concentrações de nanofibras 0,1 e 0,3 g L<sup>-1</sup> apresentaram comportamento semelhantes das

curvas de crescimento (Figura 3a), não havendo diferença significativa (p>0,05) quanto a concentração de biomassa. Nesses ensaios com 0,1 e 0,3 g L<sup>-1</sup> que apresentaram maior biomassa não foram observadas fases de crescimento estacionário, sendo mantido crescimento exponencial até o final do cultivo. Os ensaios indoor sem nanofibras e com 0,5 g L<sup>-1</sup> de nanofibras 10% PAN com 4% NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> também apresentaram comportamento semelhante de crescimento. Entetanto, observou-se que no ensaio sem nanofibras o crescimento foi exponencial até o 11° dia e a concentração de biomassa permaneceu constante do 12° até o 15° dia de cultivo. Nestes ensaios sem nanofibras foi obtida menor concentração de biomassa. O crescimento constante ou fase estacionária de crescimento pode ocorrer devido ao aumento do oxigênio dissolvido ou a redução de nutrientes essenciais para a microalga (FATEMEH; MOHSEN, 2016). Portanto, como as nanofibras mantêm o CO<sub>2</sub> por mais tempo retido nos cultivos, a ausência das nanoestruturas reduziu o crescimento devido à menor disponibilidade da fonte de carbono.

Figura 3 - Concentração de biomassa de *Chlorella fusca* LEB 111 cultivada com diferentes concentrações de nanofibras indoor (a): (○) 0; (□) 0,1 g L<sup>-1</sup>, (△) 0,3 g L<sup>-1</sup>, (◊) 0,5 g L<sup>-1</sup>; e outdoor (b): (●) 0, (■) 0,1 g L<sup>-1</sup>, (▲) 0,3 g L<sup>-1</sup>, (♦) 0,5 g L<sup>-1</sup>, em função do tempo de cultivo



Nos ensaios outdoor não foi observada fase de adaptação fisiológica, o que pode ter ocorrido devido a maior taxa de crescimento inicial que sobrepôs à adsorção da biomassa microalgal nas nanofibras. As curvas que indicaram maior crescimento foram as do cultivo sem nanofibras e com 0,1 g L<sup>-1</sup> de nanofibras 10% PAN com 4% NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Figura 3b). Entretanto, como a biomassa microalgal produzida também adsorve nas nanoestruturas, a maior

concentração de biomassa (2928,5 mg L<sup>-1</sup>), quantificada por peso seco ao final dos cultivos, foi obtida no ensaio com 0,3 g L<sup>-1</sup> de nanofibras. Este ensaio com maior crescimento foi significativamente diferente (p<0,05) do ensaio sem nanofibras. No entanto, os ensaios outdoor com 0,1 e 0,3 g L<sup>-1</sup> de nanofibras apresentaram curvas de crescimento semelhantes, onde foi observado crescimento exponencial até aproximadamente o 7° dia de cultivo, e constante do 8° dia até o final dos cultivos. Como as curvas dos ensaios outdoor mostram tendência de fase estacionária e, considerando que não houve variação na quantidade de biomassa microalgal adsorvida nas nanofibras durante essa fase, isso indica que mais biomassa pode ser obtida em menor tempo de cultivo em ensaios outdoor, comparando a ensaios indoor. Para a produção de microalgas em larga escala é ideal que o cultivo ocorra na fase exponencial de crescimento, antes que atinja a fase de declínio, pois nesta fase logarítmica há quantidade de nutrientes suficientes para o crescimento da microalga (FATEMEH; MOHSEN, 2016). Assim, poderia ser realizado renovação de meio de cultivo e/ou de nanofibras para que continue a produção de biomassa microalgal (CHEN et al., 2014).

Os maiores resultados de concentração ( $X_{máx}$ ), produtividade ( $P_{máx}$ ), taxa de biofixação de CO<sub>2</sub> ( $R_{máx}$ ) e eficiência do uso do CO<sub>2</sub> ( $E_{máx}$ ) foram obtidos nos ensaios outdoor com 0,3 g L<sup>-1</sup> de nanofibras (Tabela 1), em comparação aos ensaios indoor. No entanto, comparando os ensaios outdoor separadamente não houve diferença significativa (p>0,05) entre os ensaios com 0,1 e 0,3 g L<sup>-1</sup> de nanofibras quanto a P<sub>máx</sub>,  $R_{máx}$  e  $E_{máx}$ . O mesmo foi observado comparando somente os cultivos indoor, onde além de não haver diferença significativa quanto a  $X_{máx}$  entre os ensaios com 0,1 e 0,3 g L<sup>-1</sup> de nanofibras, também não diferiram estatisticamente entre os parâmetros P<sub>máx</sub>,  $R_{máx}$  e  $E_{máx}$ . Assim, a melhor opção de ensaio indoor para aumentar a biofixação do CO<sub>2</sub> no cultivo da microalga seria a utilização de 0,1 g L<sup>-1</sup> de nanofibras poliméricas 10% PAN/DMF com 4% NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, devido a necessidade de menor quantidade de nanofibras o que reduz os custos de produção microalgal.

Se a intenção for aumentar a biofixação de  $CO_2$  pela microalga *Chlorella*, a melhor condição dos ensaios outdoor também seria com concentração de 0,1 g L<sup>-1</sup> de nanofibras. Segundo Zeng et al. (2012) a maior capacidade de fixação de  $CO_2$  está relacionada a alta produtividade de biomassa. Os ensaios outdoor com maiores produtividades de biomassa apresentaram maior taxa de fixação do gás (Tabela 1). Dessa forma, mesmo havendo diferença de  $X_{máx}$  entre os ensaios com 0,1 e 0,3 g L<sup>-1</sup> de nanofibras, os parâmetros de interesse para maior biofixação de  $CO_2$  não diferiram estatisticamente (p>0,05), o que compensa a alteração na biomassa microalgal.

Os resultados mostraram que a melhor alternativa para aumentar a biofixação de CO<sub>2</sub> por *Chlorella fusca* LEB 111 seriam os cultivos outdoor com 0,1 g L<sup>-1</sup> de nanofibras, onde além de serem obtidos maiores produtividades de biomassa, biofixação e eficiência de utilização do gás, há também a vantagem de redução dos custos de produção microalgal com nanofibras e energia para manter a luminosidade e temperatura dos cultivos. Além disso, os ensaios outdoor com nanofibras apresentaram maior velocidade específica máxima de crescimento (0,52 d<sup>-1</sup>, 0,1 g L<sup>-1</sup>) e consequentemente menor tempo de geração de biomassa microalgal (1,3 d, 0,1 g L<sup>-1</sup>). Além disso, os cultivos apresentam a vantagem da possibilidade de aumento de escala, o que é limitado em condições indoor e, de acordo com Rosa et al. (2019), a  $\mu_{máx}$  e t<sub>g</sub> são importantes para determinações da R<sub>máx</sub> e do tempo de recuperação de biomassa e bioprodutos.

Os resultados cinéticos de crescimento deste estudo ( $X_{máx}$ ,  $P_{máx} e \mu_{máx}$ ) (Tabela 1) foram maiores do que os obtidos por Vaz et al. (2016) com cultivo da mesma cepa microalgal com gás de combustão de carvão mineral (550 mg L<sup>-1</sup>, 60 mgL<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>, 0,08 d<sup>-1</sup>). Neste contexto, seria possível considerar o cultivo de *C. fusca* LEB 111 com a adição de nanofibras poliméricas 10% PAN/DMF com 4% NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> para aumentar a biofixação de CO<sub>2</sub>, sob as condições com CO<sub>2</sub> a partir de gás de combustão (10 a 12% de CO<sub>2</sub>). Assim, além de reduzir os custos com a fonte de carbono, que contribui com cerca de 60% dos gastos com nutrientes, também reduz a poluição ambiental causada pelas emissões desse gás de efeito estufa (ELOKA-EBOKA; INAMBAO, 2017).

O pH é um parâmetro fisiológico importante que também influencia o crescimento de microalgas e a biofixação de CO<sub>2</sub>. Isso porque o pH determina a distribuição das espécies químicas (MANGAN et al., 2016), onde a relação entre o CO<sub>2</sub> e pH é determinada pelo cálculo do CID que determina a concentração das fontes de carbono para o crescimento de microalgas (CO<sub>2</sub>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> e CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>) (MORAES et al., 2016). Os perfis de pH dos ensaios indoor sem nanofibras apresentaram comportamento mais ácido no início dos cultivos, comparando com os demais cultivos indoor (Figura 4a). Este fato pode ter ocorrido devido à ausência de nanofibras para adsorver o gás e aumentar o pH. Nesses cultivos o pH também apresentou menor variação comparando aos ensaios outdoor nos quais foram observados pH mínimo de 8,2 e máximo de 11,0. Nos cultivos indoor, o pH manteve-se entre de 8,4 e 9,0; 8,5 e 9,1; 8,3 e 9,1; 8,4 e 8,9, nos ensaios com 0, 0,1 0,3, e 0,5 g L<sup>-1</sup> de nanofibras, respectivamente.

122

**Tabela 1** - Resultados médios da concentração de biomassa máxima ( $X_{máx}$ ), produtividade máxima ( $P_{máx}$ ), velocidade específica máxima decrescimento ( $\mu_{máx}$ ), tempo de geração ( $t_g$ ), acúmulo de carbono inorgânico dissolvido (CID<sub>ac</sub>), taxa de biofixação de CO<sub>2</sub> (R) e eficiência de uso do<br/>CO<sub>2</sub> (E) no cultivo de *Chlorella fusca* LEB 111 indoor e outdoor.

Nanofibras (g L <sup>-1</sup> )	$X_{máx}$ (mg L <sup>-1</sup> )	$P_{máx}(mg L^{-1} d^{-1})$	$\mu_{máx}(d^{-1})$	$\mathbf{t}_{g}\left(\mathbf{d}\right)$	CID <sub>ac</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	$R_{m\acute{a}x} (mg L^{-1} d^{-1})$	$E_{máx}$ (% m m <sup>-1</sup> )	
Indoor								
0	$665,5 \pm 43,1^{c,F}$	$28,8 \pm 1,7^{c,D}$	$0,25 \pm 0,01^{a,C}$	$2,7\pm0,1^{a,AB}$	$43,5 \pm 0,2^{c,F}$	$54,1 \pm 3,2^{c,D}$	$5,6 \pm 0,3^{c,D}$	
0,1	$1235,8 \pm 3,2^{a,D}$	$66,3 \pm 1,3^{a,C}$	$0,27 \pm 0,02^{a,C}$	$2,6\pm0,2^{a,AB}$	$62,5\pm3,9^{ab,,E}$	$124,6\pm2,4^{a,C}$	$12,8 \pm 0,2^{a,C}$	
0,3	$1177,5 \pm 23,3^{a,D}$	$69,7 \pm 0,4^{a,C}$	$0,\!23 \pm 0,\!01^{a,C}$	$3,1\pm0,1^{a,AB}$	$71,2\pm2,5^{a,D}$	$131,0\pm0,7^{a,C}$	$13,5\pm0,1^{a,C}$	
0,5	$857,8 \pm 65,8^{b,E}$	$45,4\pm3,5^{\text{ b,D}}$	$0,23 \pm 0,01^{a,C}$	$3{,}2\pm0{,}5^{a,A}$	$51,3\pm3,9^{bc,EF}$	$85,3\pm6,7^{b,D}$	$8{,}8\pm0{,}7^{b,D}$	
Outdoor								
0	$2590,3 \pm 23,8^{b,B}$	$130,5 \pm 1,3^{b,B}$	$0,37 \pm < 0,01^{b,B}$	$1,9 \pm 0,02^{b,C}$	$168,5 \pm 6,3^{b,B}$	$245,4 \pm 2,5^{b,B}$	$26,1\pm 0,3^{b,B}$	
0,1	$2646,4\pm 55,1^{b,B}$	$143,9 \pm 3,1^{ab,B}$	$0,52 \pm 0,01^{a,A}$	$1,3\pm0,03^{a,D}$	$165,3 \pm 3,3^{b,B}$	$270,6\pm5,9^{ab,B}$	$28,8\pm0,6^{ab,B}$	
0,3	$2928,5 \pm 87,8^{a,A}$	$165,4 \pm 9,8^{a,A}$	$0,\!49 \pm 0,\!01^{a,A}$	$1,\!4\pm0,\!02^{a,D}$	188,7 ± 6,0 <sup>a,A</sup>	$310,9 \pm 18,4^{a,A}$	$33,1 \pm 1,9^{a,A}$	
0,5	$2265,2 \pm 21,4^{c,C}$	$130,9 \pm 4,2^{b,B}$	$0,27 \pm 0,02^{c,C}$	$2,6\pm0,2^{c,B}$	$138,7 \pm 2,9^{c,C}$	$246,1 \pm 7,9^{b,B}$	$26,2\pm0,8^{b,B}$	

Médias  $\pm$  desvio padrão. Letras maiúsculas na mesma coluna comparam todos os cultivos. Letras minúsculas na mesma coluna comparam somente os cultivos indoor ou outdoor. Letras diferentes na mesma coluna indicam que as médias diferem significativamente, com nível de confiança de 95% (p> 0,05).

O pH ideal para cultivo de espécies de *Chlorella* é mais próximo a neutralidade (7,0 a 8,0). Neste estudo a microalga *Chlorella fusca* LEB 111 manteve crescimento mesmo em pH mais alcalino, pois esta cepa foi isolada de lagoas de estabilização de cinzas de usina termelétrica com pH acima de 9,0 (DUARTE et al., 2017). Os perfis de pHs mais básicos indicam que houve mais consumo de CO<sub>2</sub> durante a fotossíntese, de modo que ocorre o acúmulo do íon OH<sup>-</sup> no meio, o que causa o aumento gradual do pH (TEBBANI et al., 2014). Além disso, nos cultivos com nanofibras o pH torna-se mais básico devido a adsorção do CO<sub>2</sub> nessas estruturas (VAZ et al., 2019). No entanto, o pH permaneceu menor nos primeiros dias dos ensaios outdoor com 0,3 g L<sup>-1</sup> de nanofibras no qual obteve-se maior taxa de biofixação do CO<sub>2</sub>. Este fato pode ser explicado pois quando o CO<sub>2</sub> se dissolve na água ele reage para formar CO<sub>2</sub> livre e HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, e o pH permanece menor devido à formação das espécies com liberação de H<sup>+</sup> (BAO et al., 2012). Essa tendência beneficia as microalgas, uma vez que o HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> e o CO<sub>2</sub> são as espécies de carbono preferencialmente absorvidas pelo metabolismo microalgal (GROBBELAAR, 2013). Isto indica que havia maior concentração de CO<sub>2</sub> e consequente mais disponibilidade para consumo pela microalga.

Após o 8° dia dos cultivos outdoor, quando o crescimento da C. fusca LEB 111 estabilizou (Figura 3b), o pH de todos ensaios reduziu progressivamente até aproximadamente pH 8,6. Assim, mesmo esse pH mais baixo sendo considerado ideal para o cultivo houve estabilização do crescimento, indicando que o CO<sub>2</sub> não foi mais consumido pela microalga e nem adsorvido pelas nanofibras. Relacionando os pHs dos ensaios outdoor com CID observouse que conforme o pH dos cultivos reduziram (após o 8° dia) o CID aumentou significativamente (Figura 4b), indicando que mesmo quando o crescimento estabilizou ainda continuou acumulando carbono no meio. Este acúmulo deve ter ocorrido devido ao esgotamento da capacidade de adsorção das nanofibras, que desse modo além de não armazenarem mais CO<sub>2</sub>, também impediram que o gás saísse dos FTVs (visto que estavam localizadas no topo dos FTVs). Com o aumento da concentração de CO<sub>2</sub> no meio ocorre a formação de H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, causando maior redução no pH (ROSA et al., 2016). Com isso, há redução na atividade da enzima rubisco, que é responsável por catalisar fixação de  $CO_2$  no ciclo de Calvin, e como resultado ocorre a inibição do crescimento de microalgas. Esse comportamento também pode ter ocorrido pois a intensidade da luz tende a diminuir rapidamente devido a efeitos de sombreamento em função do aumento da concentração de biomassa (CHEN et al., 2014).

**Figura 4** - Curvas de pH (a) e carbono inorgânico dissolvido (CID) dos ensaios com diferentes concentrações de nanofibras (b) indoor: ( $\circ$ ) 0; ( $\Box$ ) 0,1 g L<sup>-1</sup>, ( $\Delta$ ) 0,3 g L<sup>-1</sup>, ( $\diamond$ ) 0,5 g L<sup>-1</sup>; e outdoor: ( $\bullet$ ) 0, ( $\blacksquare$ ) 0,1 g L<sup>-1</sup>, ( $\blacktriangle$ ) 0,3 g L<sup>-1</sup>, ( $\blacklozenge$ ) 0,5 g L<sup>-1</sup>, em função do tempo de cultivo



Nos ensaios indoor, a maior concentração de  $CID_{ac}$  (71,2 mg L<sup>-1</sup>) foi obtida no cultivo com 0,3 g L<sup>-1</sup> de nanofibras, não havendo diferença significativa (p>0,05) em relação ao ensaio com 0,1 g L<sup>-1</sup>. Nestes ensaios consequentemente houve maior  $R_{máx}$  e  $E_{máx}$  (Tabela 1). O mesmo foi observado nos ensaios outdoor com nanofibras, onde o ensaio com maior  $CID_{ac}$  também apresentou melhores resultados de biofixação. As maiores  $P_{máx}$  e  $R_{máx}$  obtidas neste estudo nos cultivos outdoor de *Chlorella fusca* LEB 111 com nanofibras poliméricas 10% PAN/DMF com 4% NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> foram 33% e 37% maiores, respectivamente, que as encontradas por Rosa et al. (2018) (124,2 mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> e 227,3 mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>) em cultivos indoor da mesma cepa microalgal com absorventes químicos de CO<sub>2</sub>.

Dentre os fatores que podem ter influenciado positivamente a obtenção de maior taxa de biofixação de CO<sub>2</sub> pela microalga nos cultivos com nanofibras, comparando aos estudos anteriores com o mesmo tipo e concentração das nanoestruturas, o tipo de fotobiorreator utilizado apresenta grande contribuição para o objetivo proposto. Os FTVs que foram utilizados neste estudo maximizaram a biofixação do gás devido a sua maior relação de superfície/volume que permite maior transferência gasosa (ELOKA-EBOKA; INAMBAO, 2017). Em estudo anterior (Artigo 2) foram realizados cultivos indoor de *Chlorella fusca* LEB 111 com as mesmas concentrações e tipo de nanofibras poliméricas 10% PAN/DMF com 4% NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> em fotobiorreatores erlenmeyers, e o máximo resultado de biofixação de CO<sub>2</sub> obtido (91,7 mg L<sup>-1</sup>)

 $d^{-1}$ ) foi significativamente menor em relação  $R_{máx}$  obtido nos cultivos em FTVs do presente estudo. Outra vantagem da utilização de FTVs é que eles são tubos verticais transparentes, através dos quais a luz penetra adequadamente no cultivo. Além disso, são efetivamente adequados para cultivos outdoor, pois fornecem alta captura da radiação solar e garantem alta conversão da energia luminosa em química necessária para o crescimento microalgal através da fotossíntese (PŁACZEK; PATYNA; WITCZAK, 2017). No entanto, como foram utilizados os mesmos FTVs nos ensaios com e sem nanofibras, e como as maiores taxas de biofixação de CO<sub>2</sub> foram obtidas nos ensaios com as nanofibras, essas nanoestruturas são o principal fator responsável por proporcionar maior tempo de interação do gás com o meio de cultivo e microalga e consequentemente maximizar a fixação de CO<sub>2</sub>.

Outros fatores que podem ter contribuído para os melhores resultados de biofixação obtidos nos ensaios outdoor com nanofibras, em comparação a estudos pioneiros com mesma concentração e tipo de nanofibras poliméricas (Artigo 2), são a temperatura e luminosidade. Essas variáveis afetam a produtividade de biomassa e fixação de  $CO_2$  (HINDERSIN et al., 2014). As microalgas geralmente crescem em faixa de temperatura entre 15 e 30 °C, com intervalo ótimo entre 20 e 25 °C (RAS et al., 2013). Temperaturas inferiores a 16 °C podem retardar o crescimento pois afetam os mecanismos de fixação de carbono (RAS et al., 2013). Enquanto que temperaturas maiores que 35 °C podem ser letais para algumas espécies (BARSANTI; GUALTIERI, 2014) pois reduzem a solubilidade do  $CO_2$  e inibem a atividade metabólica de microalgas. No entanto, espécies de *Chlorella* são capazes de crescer em temperatura de até 42 °C (RAZZAK et al., 2013).

A temperatura média nos ensaios outdoor observada durante a noite foi 20,6 °C e durante o dia 38,4°C. Nos ensaios indoor a temperatura foi mantida a 25 °C, baseada em estudos prévios de adsorção e dessorção de CO<sub>2</sub> pelas nanofibras poliméricas 10% PAN com 4% NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, onde verificou-se que temperatura mais baixa favoreceu a solubilidade do gás CO<sub>2</sub> no meio líquido. No entanto, apesar da máxima temperatura observada nos ensaios outdoor, as temperaturas mais baixas observadas na fase clara (Figura 5a) devem ter favorecido a adsorção do CO<sub>2</sub> nas nanofibras, e posteriormente a dessorção, visto que nos ensaios outdoor com as nanoestruturas houve maior biofixação do gás.

Quanto a luminosidade, este fator é importante para o processo de fotossíntese no crescimento de microalgas. Durante a fotossíntese, os produtos das reações da fase clara, ATP e NADPH, são usados para fixar CO<sub>2</sub> pela enzima rubisco no ciclo de Calvin. Como as moléculas de ATP e NADPH são fornecidas a partir de reações dependentes da luz, deve haver adequado fornecimento de luminosidade. Condições com baixa luminosidade levam a redução

na concentração de biomassa e fixação de CO<sub>2</sub>. Por outro lado, altas intensidade de luz podem levar a fotoinibição e também reduzir a fixação do gás (CHEAH et al., 2015; MORALES; SÁNCHEZ; REVAH, 2018;). De acordo com Schuurmans et al. (2015), o nível ótimo de intensidade luminosa para a maioria das espécies microalgais é cerca de 200-400  $\mu$ mol<sub>fótons</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. Neste estudo os cultivos foram mantidos a 41,6  $\mu$ mol<sub>fótons</sub>m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> nos ensaios indoor e, média dos perfis de luminosidade nos ensaios outdoor de aproximadamente 700  $\mu$ mol<sub>fótons</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> (Figura 4b). Além disso, os ensaios indoor foram mantidos na fase clara por 12 h, e nos ensaios outdoor o período da fase clara em torno de 14h em função das condições ambientais da luz do dia. Em ambos ensaios indoor e outdoor com adição das nanofibras 10% PAN/DMF com 4% NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> houve crescimento microalgal satisfatório, entretanto, os ensaios outdoor realizados com maior luminosidade apresentaram maiores produtividades de biomassa e taxas de biofixação de CO<sub>2</sub>. Mata, Martins e Caetano (2010) relataram que o cultivo de microalgas com 222  $\mu$ mol<sub>fótons</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> de intensidade por 12 h claro com a luz do dia produziu maior rendimento de biomassa, enquanto que a biomassa diminuiu quando a intensidade da luz foi reduzida.

Figura 5 - Temperaturas mínimas: (○) no meio do cultivo, (□) no ambiente; temperaturas máximas: (●) meio de cultivo, (■) no ambiente (a) e luminosidade (b) em função do tempo dos cultivos outdoor de *Chlorella fusca* LEB 111 com e sem nanofibras poliméricas



A estequiometria da fotossíntese permite que 1,0 g de biomassa produzida utilize 1,8 g de CO<sub>2</sub> (ROSA et al., 2019). De acordo com as condições ótimas desse estudo quanto a disponibilidade de luz e fotobiorreator adequado, em conjunto com a adição das nanofibras aos

cultivos, a  $E_{máx}$  obtida nos ensaios outdoor com nanofibras (33,1% m m<sup>-1</sup> ou 0,331 g<sub>biomassa</sub> g<sub>CO2</sub><sup>-1</sup>, que é igual a 3,02 g<sub>CO2</sub> g<sub>biomassa</sub><sup>-1</sup>) indica que houve maior quantidade de CO<sub>2</sub> assimilado (68% m m<sup>-1</sup>) por grama de biomassa microalgal, mostrando que o metabolismo das microalgas foi mais pronunciado do que nos ensaios sem nanofibras.

O cultivo de microalgas utilizando CO<sub>2</sub> como fonte de carbono além de influenciar o crescimento, pode também afetar o metabolismo desses micro-organismos em relação a composição química da biomassa (KASSIM; MENG, 2017). Quanto ao conteúdo de proteínas produzida pela microalga *Chlorella fusca* LEB 111, nos cultivos indoor a máxima concentração foi obtida nos ensaios sem nanofibras (Tabela 2). Nos cultivos outdoor, a concentração de proteínas não diferiu significativamente entre os ensaios com 0,1 g L<sup>-1</sup> de nanofibras e sem nanofibras, sendo obtido o maior teor da macromolécula nesses ensaios.

Nanofibras (g L <sup>-1</sup> )	Proteínas (%, m m <sup>-1</sup> )	Carboidratos (%, m m <sup>-1</sup> )	Lipídios (%, m m <sup>-1</sup> )					
Indoor								
0	38,7±0,4 <sup>a,A</sup>	22,8±<0,1 <sup>b,C</sup>	29,7±0,1 <sup>ab,B</sup>					
0,1	32,7±0,4 <sup>b,B</sup>	22,5±1,7 <sup>b,C</sup>	28,5±0,7 <sup>b,C</sup>					
0,3	32,3±1,5 <sup>b,B</sup>	29,4±0,4 <sup>a,B</sup>	27,9±1,1 <sup>b,C</sup>					
0,5	23,0±0,2 <sup>c,E</sup>	27,1±<0,1 <sup>a,B</sup>	32,3±0,9 <sup>a,B</sup>					
		Outdoor						
0	31,7±0,2 <sup>a,BC</sup>	34,8±0,7 <sup>a,A</sup>	31,0±1,2 <sup>c,B</sup>					
0,1	28,1±2,3 <sup>ab,CD</sup>	29,0±0,3 <sup>b,B</sup>	35,2±1,4 <sup>bc,B</sup>					
0,3	23,4±0,6 <sup>c, E</sup>	29,2±1,3 <sup>b,B</sup>	41,9±0,9 ab,A					
0,5	24,7±0,1 <sup>c,DE</sup>	26,5±1,7 <sup>b,BC</sup>	47,7±3,4 <sup>a,A</sup>					

Tabela 2 - Composição da biomassa de Chlorella fusca LEB 111 em cultivos indoor e<br/>outdoor com nanofibras 10% PAN/DMF com 4% NPsFe2O3.

Médias  $\pm$  desvio padrão. Letras maiúsculas na mesma coluna comparam todos os cultivos. Letras minúsculas na mesma coluna comparam somente os cultivos indoor ou outdoor. Letras diferentes na mesma coluna indicam que as médias diferem significativamente, com um nível de confiança de 95% (p>0,05).

Entre os ensaios indoor, as concentrações de carboidratos foram maiores nos cultivos com 0,3 e 0,5 g L<sup>-1</sup> de nanofibras (Tabela 2). Isso pode ter ocorrido pois a enzima rubisco age sobre o  $CO_2$  transformando-o nos precursores de carboidratos acumulados inicialmente como reserva de energia, e que são utilizados para o crescimento e metabolismo celular (ZHAO; SU, 2014). Além disso, as nanofibras utilizadas como adsorventes físicos do  $CO_2$  podem ter

intensificado esse efeito devido aos mecanismos de adsorção e dessorção do gás no meio de cultivo ou por gerar uma condição de estresse. Vaz et al. (2019), também obtiveram maiores concentrações de carboidratos no cultivo de *Chlorella fusca* LEB 111 com nanofibras poliméricas 10% PAN/DMF com 4% NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, onde o maior valor obtido foi 2,3% maior que o cultivo sem nanofibras. Neste estudo houve aumento de 29% m m<sup>-1</sup> em relação ao ensaio sem nanofibras. Nos ensaios outdoor, o maior teor de carboidratos (p<0,05) foi obtido no cultivo sem nanofibras.

A concentração de lipídios obtida nos ensaios indoor não foi significativamente influenciada pelos tratamentos com nanofibras. Nos ensaios outdoor a produção de lipídios aumentou significativamente (p<0,05) no cultivo de *Chlorella* com 0,3 e 0,5 g L<sup>-1</sup> de nanofibras, onde houve aumento de cerca 10,9 e 16,7%, respectivamente, em relação a concentração de lipídios do ensaio sem nanofibras. De acordo com Zhao e Su (2014), a conversão de carbono em componentes da biomassa microalgal está diretamente relacionada aos parâmetros de cultivo, como a concentração de CO<sub>2</sub>, temperatura, luminosidade e pH. Khalil et al. (2010) relataram que o pH ótimo pode aumentar o rendimento de biomassa e o teor de lipídios simultaneamente e, de acordo com Zhang et al. (2016) condições alcalinas são as mais favoráveis para aumentar o acúmulo de lipídios pela cepa de *Chlorella vulgaris* ocorreram nos cultivos com maiores intensidades luminosas. Essas variáveis (pH mais alcalino e alta luminosidade) foram observadas nos ensaios outdoor e, devem também ter contribuído para maior produção de lipídios.

O aumento na concentração lipídica pode ser obtido também devido a condições de estresse como a limitação de nutrientes específicos, ou por adição de fator externo. Neste caso, as nanofibras adsorventes podem ter induzido estresse ao cultivo microalgal e isto pode ter contribuído com o aumento da produção lipídica. Além disso, quando o nitrogênio é reduzido no cultivo ocorre o acúmulo de compostos ricos em carbono sob a forma de lipídios e/ou carboidratos (PAES et al., 2016). Isto pode ter ocorrido neste estudo, visto que nos ensaios onde obteve-se mais proteína (sem nanofibras indoor) havia maior quantidade de nitrogênio em relação ao carbono comparando aos ensaios outdoor que apresentaram maior acúmulo CID e, consequentemente, a relação nitrogênio/ carbono foi menor.

A maximização do teor de carboidratos na biomassa de *Chlorella fusca* LEB 111 cultivada indoor com 0,3 e 0,5 g L<sup>-1</sup> de nanofibras como adsorventes físicos de CO<sub>2</sub>, direcionam a produção para obtenção de biocombustíveis como o bioetanol. Nesse caso, poderia ser utilizada menor concentração de nanofibras (0,3 g L<sup>-1</sup>), visto que não houve diferença

significativa (p>0,05) em relação ao ensaio com 0,5 g L<sup>-1</sup>, e visando reduzir os custos com esses nanomateriais. Comparando os ensaios indoor e outdoor, a biomassa microalgal apresentou maior quantidade de lipídios nos cultivos outdoor de *Chlorella fusca* LEB 111 com 0,3 e 0,5 g L<sup>-1</sup> de nanofibras adsorventes. Confirmando que a melhor alternativa econômica seria a utilização de menos nanofibras e, nesse caso, a biomassa pode ser utilizada para obtenção de biodiesel. A produção de biodiesel a partir de microalgas com 30% m m<sup>-1</sup> de lipídios é 49, 341, 22 e 10 vezes maior do que a produzida a partir de canola, milho, soja e dendê, respectivamente (SINGH; GU, 2011). Assim, a utilização de 0,3 g L<sup>-1</sup> de nanofibras poliméricas como adsorventes físicos de CO<sub>2</sub> no cultivo de *Chlorella fusca* LEB 111 pode tornar a microalga matéria-prima promissora para a produção de biocombustíveis de alto valor agregado.

## 4 CONCLUSÃO

O efeito das nanofibras poliméricas 10% PAN/DMF com 4% NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> como adsorventes físicos de CO<sub>2</sub> foram mais intensos nos cultivos outdoor, onde promoveram maior acúmulo de carbono inorgânico dissolvido e eficiência de uso do CO<sub>2</sub>. O ensaio outdoor com 0,1 g L<sup>-1</sup> de nanofibras poliméricas foi a melhor condição para máxima produtividade de biomassa (143,9 mg  $L^{-1} d^{-1}$ ) e biofixação de CO<sub>2</sub> (270,6 mg  $L^{-1} d^{-1}$ ), sendo igual estatisticamente ao ensaio outdoor com  $0.3 \text{ g L}^{-1}$  onde foram obtidas as maiores taxas de produtividade (165,4 mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>) e de biofixação (310,9 mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>), mas com a vantagem de redução dos custos devido a utilização de menor quantidade de nanofibras. No entanto, visando a obtenção de maior quantidade de macromoléculas, a melhor condição outdoor para cultivo é com 0,3 g L<sup>-1</sup> de nanofibras visto que aumentou a produção de lipídios em 10,9%, em relação ao ensaio sem nanofibras. Assim, a utilização de nanofibras poliméricas no cultivo outdoor de C. fusca LEB 111 foram promissoras para aumentar a biofixação de CO<sub>2</sub> e apresentam grande potencial para produção de biocompostos para aplicação em biocombustíveis. Além disso, esses cultivos podem tornar a produção de microalgas utilizando as nanofibras adsorventes mais sustentável, pela redução dos custos com energia e pelo curto período para obtenção de biomassa com maior eficiência do uso do CO<sub>2</sub>, comparando a ensaios sem as nanoestruturas.

# **5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ABISHEK, M. P.; PATEL, J.; RAJAN, A. P. Algae Oil: A Sustainable Renewable Fuel of Future. **Biotechnology Research International,** 2014, 1-8, 2014.

ADAMCZYK, M.; LASEK, J.; SKAWIŃSKA, A. CO<sub>2</sub> Biofixation and Growth Kinetics of *Chlorella vulgaris* and *Nannochloropsis gaditana*. **Applied Biochemistry Biotechnology**, v. 179, p. 1248-1261, 2016.

APEL, A. C.; WEUSTER-BOTZ, D. Engineering solutions for open microalgae mass cultivation and realistic indoor simulation of outdoor environments. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 38, p. 995-1008, 2015.

APHA, American Public Health Association, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th ed. APHA-AWWAWPCF, Washington, 1998.

BAO, Y.; LIU, M.; WU, X.; CONG, W.; NING, Z. In situ carbon supplementation in largescale cultivations of *Spirulina platensis* in open raceway pond. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 17, p. 93-99, 2012.

BARSANTI, L.; GUALTIERI, P. Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology. 2. ed. CRC Press, 2014. p. 361.

BARUA, S.; DEB, U. K. Hydrodynamics of Microalgae and CO<sub>2</sub> flow in a Tubular Photobioreactor and consequent effects on Microalgae growth. **Rajshahi University Journal of Science Engineering**, v. 44, p. 75-83, 2016.

CHANG, Y.-M.; TSAI, W.-T.; LI, M.-H. Characterization of activated carbono prepared from *Chlorella*-based algal residue. **Bioresource Technology**, v. 184, p. 344-348, 2015.

CHEAH, W. Y.; SHOW, P. L.; CHANG, J-S.; LING, T. C.; JUAN. J. C. Biosequestration of atmospheric CO<sub>2</sub> and flue gas-containing CO<sub>2</sub> by microalgae. **Bioresource Technology**, v. 184, p. 190-201, 2015.

CHEN, C-Y.; YEH, K-L.; CHANG, H-Y.; CHANG, J-S. Strategies to improve oil/lipid production of microalgae in outdoor cultivation using vertical tubular-type photobioreactors. **Energy Procedia**, v. 61, p. 2755-2758, 2014.

CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. Biotechnology Advances, v. 25, p. 294-306, 2007.

DALIRY, S.; HALLAJISANI, A.; MOHAMMADI ROSHANDEH, J.; NOURI, H.; GOLZARY, A. Investigation of optimal condition for *Chlorella vulgaris* microalgae growth. **Global Journal of Environmental Science and Management,** v. 3, p. 217-230, 2017.

DEAMICI, K. M.; SANTOS, L. O.; COSTA, J. A. V. Magnetic field action on outdoor and indoor cultures of *Spirulina*: Evaluation of growth, medium consumption and protein profile. **Bioresource Technology**, v. 249, p. 168-174, 2018.

DUARTE, J. H.; FANKA, L. S.; COSTA, J. A. V. Utilization of simulated flue gas containing CO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, NO and ash for *Chlorella fusca* cultivation. **Bioresource Technology**, v. 214, p. 159-165, 2016.

DUARTE, J. H.; MORAIS, E. G.; RADMANN, E. M.; COSTA, J. A. V. Biological CO<sub>2</sub> mitigation from coal power plant by *Chlorella fusca* and *Spirulina* sp. **Bioresource Technology**, v. 234, p. 472-475, 2017.

DUBOIS, M.; GILLES, K.; HAMILTON, J.; REBERS, P.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, p. 350-356, 1956.

ELOKA-EBOKA, A. C.; INAMBAO, F. L. Effects of CO<sub>2</sub> sequestration on lipid and biomass productivity in microalgal biomass production. **Applied Energy**, v. 195, p. 1100-1111, 2017.

FATEMEH, L.; MOHSEN, D. Effects of Environmental Factors on the Growth, Optical Density and Biomass of the Green Algae *Chlorella Vulgaris* in Outdoor Conditions. Journal of Applied Sciences and Environmental Management, v. 20, p. 133-139, 2016.

GROBBELAAR, J. U. **Inorganic algal nutrition.** In: Richmond, A., Hu, Q. (Eds.), Handbook of Microalgal Culture. John Wiley & Sons Ltd, Oxford, UK, 2013. p. 123-133.

HINDERSIN, S.; LEUPOLD, M.; KERNER, M.; HANELT, D. Key parameters for outdoor biomass production of *Scenedesmus obliquus* in solar tracked photobioreactors. **Journal of Applied Phycology**, v. 26, p. 2315-2325, 2014.

KAMPEN, W. H. Nutritional Requirements in Fermentation Processes. In: Fermentation and Biochemical Engineering Handbook (3. Ed.), 2014. 454 p.

KASSIM, M. A.; MENG, T. K. Carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) biofixation by microalgae and its potential for biorefinery and biofuel production. **Science of the Total Environment**, v. 584-585, p. 1121-1129, 2017.

KHALIL, Z. I.; ASKER, M. M. S.; EI-SAYED, S.; KOBBIA, I. A. Effect of pH on growth and biochemical responses of *Dunaliella bardawil* and *Chlorella ellipsoidea*. World Journal of Microbiology and Biotechnology, v. 7, p. 1225-1231, 2010.

KHAN, M. I.; SHIN, J. H.; KIM, J. D. The promising future of microalgae: current status, challenges, and optimization of a sustainable and renewable industry for biofuels, feed, and other products. **Microbial Cell Factories**, v.17, p. 36, 2018.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **The Journal of Biologic Chemistry**, v. 193, p. 265-275, 1951.

MANGAN, N. M.; FLAMHOLZ, A.; HOOD, R. D.; MILO, R.; SAVAGE, D. F. pH determines the energetic efficiency of the cyanobacterial CO<sub>2</sub> concentrating mechanism. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 113, p. 5354-5362, 2016.

MARSH, J. B.; WEINSTEIN, D. B. Simple charring method for determination of lipids. Journal of Lipid Research, v. 7, p. 574-576, 1966.

MATA, T. M.; MARTINS, A. A.; CAETANO, N. S. Microalgae for biodiesel production and other applications: a review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews,** v. 14, p. 217-232, 2010.

MORAES, L.; ROSA, G. M. R.; CARDIAS, B. B.; SANTOS, L. O.; COSTA, J. A. V. Microalgal biotechnology for greenhouse gas control: carbon dioxidefixation by *Spirulina* sp. at different diffusers. **Ecological Engineering**, v. 91, p. 426-431, 2016.

MORALES, M.; SÁNCHEZ, L.; REVAH, S. The impact of environmental factors on CO<sub>2</sub> fixation by microalgae. *FEMS Microbiology Letters*, v. 365, p. 1-31, 2018.

PANDEY, A.; LEE, D-J.; CHISTI, Y.; SOCCOL, C. **Biofuels From Algae.** [S.I.]: 1. ed. Elsevier, 2014. 348 p.

PLACZEK, M.; PATYNA, A.; WITCZAK, S. Technical evaluation of photobioreactors for microalgae cultivation. **E3S Web of Conferences**, v. 19, p. 02032, 2017.

PAES, C. R. S.; FARIA, G. R.; TINOCO, N. A. B.; CASTRO, D. J. F. A.; BARBARINO, E.; LOURENÇO, S. O. Growth, nutrient uptake and chemical composition of Chlorella sp. and Nannochloropsis oculata under nitrogen starvation. Latin American Journal of Aquatic Research, v. 44, p. 275-292, 2016.

RADMANN, E. M.; REINEHR, C. O.; COSTA, J. A. V. Optimization of the repeated batch cultivation of microalga *Spirulina platensis* in open raceway ponds. **Aquaculture**, v. 265, p. 118-126, 2007.

RAS, M.; STEYER, J. P.; BERNARD, O. Temperature effect on microalgae: a crucial factor for outdoor production. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v. 12, p. 153-164, 2013.

RAZZAK, S. A.; HOSSAIN, M. M.; LUCKY, R. A.; BASSI, A. S.; DE LASA, H. Integrated CO<sub>2</sub> capture, wastewater treatment and biofuel production by microalgae culturing - A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 27, p. 622-653, 2013.

RIPPKA, R.; DERUELLES, J.; WATERBURY, J. W.; HERDMAN, M.; STANIER, R. G. Genetic assignments, strain histories and properties of pure cultures of Cyanobacteria. **Journal of General Microbiology**, v. 111, p. 1-61, 1979.

ROSA, G. M.; MORAES, L.; CARDIAS, B. B.; SOUZA, M. R. A. Z.; COSTA, J. A. V. Chemical absorption and CO<sub>2</sub> biofixation via the cultivation of *Spirulina* in semicontinuous mode with nutrient recycle. **Bioresource Technology**, v. 192, p. 321-327, 2015.

ROSA, G. M.; MORAES, L.; SOUZA, M. R. A. Z.; COSTA, J. A. V. *Spirulina* cultivation with a  $CO_2$  absorbent: influence on growth parameters and macromolecule production. **Bioresource Technology**, v. 200, p. 528-534, 2016.

ROSA, G. M.; MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Green alga cultivation with monoethanolamine: evaluation of CO<sub>2</sub> fixation and macromolecule production. **Bioressource Technology**, v. 261, p. 206-212, 2018.

ROSA, G. M.; MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Fed-batch cultivation with CO<sub>2</sub> and monoethanolamine: influence on *Chlorella fusca* LEB 111 cultivation, carbon biofixation and biomolecules production. **Bioresource Technology**, v. 273, p. 627-633, 2019.

SCHUURMANS, R. M.; ALPHEN P. V.; SCHUURMANS, J. M.; MATTHIJS, H. C. P.; HELLINGWERF, K. J. Comparison of the photosynthetic yield of cyanobacteria and green algae: different methods give different answers. **PLoS ONE**, v. 10, p. e0139061, 2015.

SINGH, J.; GU, S. Commercialization potential of microalgae for biofuels production. **Renewable Sustainable Energy Reviews**, v. 14, p. 2596-2610, 2010.

TEBBANI, S.; LOPES, F.; FILALI, R.; DUMUR, D.; PAREAU, D. CO<sub>2</sub> Biofixation by Microalgae. John Wiley & Sons Inc, Hoboken, 2014.

TOLEDO-CERVANTES, A.; MORALES, M.; NOVELO, E.; REVAH, S. Carbon dioxide fixation and lipid storage by *Scenedesmus obtusiusculus*. **Bioresource Technology**, v. 130, p. 652-658, 2013.

VAZ, B. S.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. CO<sub>2</sub> Biofixation by the Cyanobacterium *Spirulina* sp. LEB 18 and the Green Alga *Chlorella fusca* LEB 111 Grown Using Gas Effluents and Solid Residues of Thermoelectric Origin. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 178, p. 418-429, 2016.

VAZ, B. S.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. Innovative nanofiber technology to improve carbon dioxide biofixation in microalgae cultivation. **Bioresource Technology**, v. 273, p. 592-598, 2019.

XU, L.; WEATHERS, P. J.; XIONG, X-R; LIU, C-Z. Microalgal bioreactors: Challenges and Opportunities. **Engineering in Life Sciences**, v. 9, p. 178-189, 2009.

ZHANG, K.; KURANO, N.; MIYACHI, S. Optimized aeration by carbon dioxide gas for microalgal production and mass transfer characterization in a vertical flat-plate photobioreactor. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 25, p. 97-101, 2002.

ZENG, X.; DANQUAH, M. K.; ZHANG, S.; ZHANG, X.; WU, M.; CHEN, X. D.; NG, I. S.; JING, K.; LU, Y. Autotrophic cultivation of *Spirulina platensis* for CO<sub>2</sub> fixation and phycocyanin production. **Chemical Engineering Journal**, v. 183, p. 192-197, 2012.

ZHAO, B.; SU, Y. Process Effect of Microalgalcarbon Dioxide Fixation and Biomass Production: A Review. **Renewable and Sustanable Energy Reviews,** v. 31, p. 121-132, 2014.

ZHANG, H.; ZENG, R.; CHEN, D.; LIU, J. A pivotal role of vacuolar H+-ATPase in regulation of lipid production in *Phaeodactylum tricornutum*. **Scientific Reports**, v. 6, p. 31319, 2016.

CAPÍTULO IV

#### **CONCLUSÃO GERAL**

Nanofibras poliméricas 10% (m v<sup>-1</sup>) PAN/ DMF com e sem NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> foram produzidas pela técnica de *electrospinning*. A adição de 4% (m v<sup>-1</sup>) de NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> as nanofibras reduziu o diâmetro (434 nm), aumentou a porosidade (0,044 cm<sup>3</sup> g<sup>-1</sup>) e a área de superfície específica (13,8 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>) e, consequentemente houve maior capacidade de adsorção de CO<sub>2</sub> (164,2 mg g<sup>-1</sup>), em comparação às nanofibras sem nanopartículas. Os cultivos por 5 dias de *Chlorella fusca* LEB 111 com as nanofibras 10% (m v<sup>-1</sup>) PAN/ DMF com 4% (m v<sup>-1</sup>) de NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> dispostas livres no meio de cultivo, promoveram melhores resultados cinéticos e de biofixação do CO<sub>2</sub> pela microalga, em comparação aos cultivos com as nanofibras retidas.

Nos cultivos por 15 dias com 0,1 g L<sup>-1</sup> de nanofibras houve aumento de aproximadamente 3 vezes no acúmulo de CID (46,6 mg L<sup>-1</sup>), comparando ao ensaio sem nanofibras. Neste ensaio com 0,1 g L<sup>-1</sup> de nanofibras obteve-se maior taxa de biofixação de CO<sub>2</sub> de 89,2 mg L<sup>-1</sup>, sendo igual estatisticamente ao ensaio com 0,3 g L<sup>-1</sup> de nanofibras (91,7 mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>), entretanto, com a vantagem de redução dos custos devido a utilização de menor concentração de nanofibras. A adição das nanoestruturas aos cultivos não reduziram a produção das macromoléculas, e com 0,1 g L<sup>-1</sup> de nanofibras foi obtida maior produção de carboidratos (26,8%).

O efeito das nanofibras poliméricas 10% PAN/DMF com 4% NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> como adsorventes físicos de CO<sub>2</sub> nos cultivos outdoor com 0,1 e 0,3 g L<sup>-1</sup> de nanofibras poliméricas apresentaram máximas produtividades de biomassa (143,9 e 165,4 mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>, respectivamente) e taxa de biofixação de CO<sub>2</sub> (270,6 e 310,9 mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>, respectivamente). Quanto à composição da biomassa microalgal, o cultivo outdoor com 0,3 g L<sup>-1</sup> de nanofibras aumentou em 10,9% a produção de lipídios, em relação ao cultivo sem nanofibras. Assim, visando além de aumentar a biofixação de CO<sub>2</sub> também obter maior produção de macromoléculas, a melhor condição de cultivo seria o outdoor com 0,3 g L<sup>-1</sup> de nanofibras 10% PAN/ DMF com 4% NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> como adsorventes físicos de CO<sub>2</sub>.

Dessa forma, o desenvolvimento dessa nova tecnologia de nanofibras poliméricas com nanopartículas para aplicação como adsorventes físicos de  $CO_2$  no cultivo de microalgas tem potencial promissor para aumentar a biofixação de gás, visto que aumenta a quantidade de carbono inorgânico dissolvido e o tempo de contato entre o  $CO_2$  e o micro-organismo. Assim, as nanoestruturas adsorventes além de maximizar a fixação do gás, também promovem o aumento da produção de biocompostos (carboidratos e lipídios) que podem ser aplicados para produção de biocombustíveis e/ou biopolímeros.

CAPÍTULO V

# **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ABISHEK, M. P.; PATEL, J.; RAJAN, A. P. Algae Oil: A Sustainable Renewable Fuel of Future. **Biotechnology Research International**, 2014, 1-8, 2014.

ADAMCZYK, M.; LASEK, J.; SKAWIŃSKA, A. CO<sub>2</sub> Biofixation and Growth Kinetics of *Chlorella vulgaris* and *Nannochloropsis gaditana*. **Applied Biochemistry Biotechnology**, v. 179, p. 1248-1261, 2016.

AHMARUZZAMAN, M. A review on the utilization of fly ash. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 36, p. 327-363, 2010.

ALARIFI, I. M.; ALHARBI, A.; KHAN, W. S.; SWINDLE, A.; ASMATULU, R. Thermal, electrical and surface hydrophobic properties of electrospun polyacrylonitrile nanofibers for structural health monitoring. **Materials**, v. 8, p. 7017-7031, 2015.

ALOTHMAN, Z. A. A. Review: fundamental aspects of silicate mesoporous materials. **Materials**, v. 5, p. 2874-2902, 2012.

APHA, American Public Health Association, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th ed. APHA-AWWAWPCF, Washington, 1998.

APEL, A. C.; WEUSTER-BOTZ, D. Engineering solutions for open microalgae mass cultivation and realistic indoor simulation of outdoor environments. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 38, p. 995-1008, 2015.

ASMALY, H. A.; ABUSSAUD, B.; IHSANULLAH; SALEH, T. A.; GUPTA, V. K.; ATIEH, M. A. Ferric oxide nanoparticles decorated carbono nanotubes and carbon nanofibers: from synthesis to enhanced removal of phenol. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 19, p. 511-520, 2015.

ASSIS, L.; ZAVAREZE, E. R.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C.; SOUZA-SOARES, L. A. Review: Characteristics of nanoparticles and their potential applications in foods. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15, n. 2, p. 99–109, 2012.

ASSOCIATION OF OFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of AOAC**. 17th ed. Gaithersburg, MD, USA, 2000.

BABCOCK, R. W.; MALDA, J.; RADWAY, J. C. Hydrodynamics and mass transfer in a tubular airlift photobioreactor. **Journal of Applied Phycology**, v. 14, p. 169–184, 2002.

BAJI, A.; MAI, Y-W.; WONG, S-C.; ABTAHI, M.; CHEN, P. *Electrospinning* of polymer nanofibers: Effects on oriented morphology, structures and tensile properties. **Composites Science and Technology,** v. 70, p. 703–718, 2010.

BAKER, B. M.; SHAH, R. P.; SILVERSTEIN, A. M.; ESTERHAI, J. L.; BURDICK, J. A.; MAUCK, R. L. Sacrificial nanofibrous composites provide instruction without impediment and

enable functional tissue formation. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,** v. 109, n. 35, p.14176-14181, 2012.

BAO, Y.; LIU, M.; WU, X.; CONG, W.; NING, Z. In situ carbon supplementation in largescale cultivations of *Spirulina platensis* in open raceway pond. **Biotechnology and Bioprocess** Engineering, v. 17, p. 93-99, 2012.

BARRET, E. P.; JOYNER, L. G.; HALENDA, P. P. The Determination of Pore Volume and Area Distributions in Porous Substances. I. Computations from Nitrogen Isotherms. Journal of the American Chemical Society, v. 73, n. 1, p. 373-380, 1951.

BARSANTI, L.; GUALTIERI, P. Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology. 2. ed. CRC Press, p. 361, 2014.

BARUA, S.; DEB, U. K. Hydrodynamics of Microalgae and CO<sub>2</sub> flow in a Tubular Photobioreactor and consequent effects on Microalgae growth. **Rajshahi University Journal of Science Engineering**, v. 44, p. 75-83, 2016.

BASU, S.; ROY, A. S.; MOHANTY, K.; GHOSHAL, A. K. Enhanced CO<sub>2</sub> sequestration by a novel microalga: *Scenedesmus obliquus* SA1 isolated from bio-diversity hotspot region of Assam, India. **Bioresource Technology**, v. 143, p. 369-377, 2013.

BELBUTE, J. M.; PEREIRA, A. M. An alternative reference scenario for global CO<sub>2</sub> emissions from fuel consumption: an ARFIMA approach. **Economics Letters**, v. 136, p. 108-111, 2015.

BEZERRA, R. P.; MATSUDO, M. C.; SATO, S.; PEREGO, P.; CONVERTI, A.; CARVALHO, J. C. M. Effects of photobioreactor configuration, nitrogen source and light intensity on the fed-batch cultivation of Arthrospira (*Spirulina*) *platensis*. Bioenergetic aspects. **Biomass and Bioenergy**, v. 37, p. 309-317, 2012.

BHARDWAJ, N.; KUNDU, S. C. *Electrospinning*: A fascinating fiber fabrication technique. **Biotechnology Advances**, v. 28, p. 325-347, 2010.

BHOLA, V.; SWALAHA, F.; KUMAR, R. R.; SINGH, M.; BUX, F. Overview of the potential of microalgae for CO<sub>2</sub> sequestration. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 11, p. 2103-2118, 2014.

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

BLÁZQUEZ, G., CALERO, M., HERNÁINZ, F., TENORIO, G., MARTÍN-LARA, M. A. Equilibrium biosorption of lead (II) from aqueous solutions by solid waste from olive-oil production. **Chemical Engineering Journal**, v. 160, p. 615–622, 2010.

BOULET, P.; BRISSINGER, D.; COLLIN, A.; ACEM, Z.; PARENT, G. On the influence of the sample absorptivity when studying the thermal degradation of materials. **Materials**, v. 8, p. 5398-5413, 2015.

BRAGA, V. S.; MASTRANTONIO, D. J. S.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. Cultivation strategy to stimulate high carbohydrate content in *Spirulina* Biomass. **Bioresource Technology**, v. 269, p. 221-226, 2018.

BRAGA, V. S.; MOREIRA, J. B.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. Enhancement of the carbohydrate content in *Spirulina*by applying CO<sub>2</sub>, thermoelectric fly ashes and reduced nitrogen supply. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 123, p. 1241-1247, 2019a.

BRAGA, V.S.; MOREIRA, J.B.; COSTA, J.A.V.; MORAIS, M.G. Potential of *Chlorella fusca* LEB 111 cultivated with thermoelectric fly ashes, carbon dioxide and reduced supply of nitrogen to produce macromolecules. **Bioresource Technology**, 277, 55-61, 2019b.

BRENNAN, L.; OWENDE, P. Biofuels from microalgae – a review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and coproducts. **Renewable and Sustantable Energy Reviews**, v. 14, p. 557-577, 2010.

BRUNAUER, S.; EMMETT, P. H.; TELLER, E. Adsorption of gases in multimolecular layers. **Journal of the American Chemical Society**, v. 60, p. 309-319, 1938.

BRUNE, D. E.; NOVAK, J. T. The use of carbonate equilibrium chemistry in quantifying algal carbon uptake kinetics. **European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 13, p. 71-76, 1981.

CAI, Z.; SONG, X.; ZHANG, Q.; ZHAI, T. Electrospun polyindole nanofibers as a nanoadsorbent for heavy metal ions adsorption for wastewater treatment. **Fibers and Polymers**, v. 18, p. 502-513, 2017.

CAMPBELL, M. K.; FARRELLL, S. O. **Bioquímica.** v. 3, [S. I.]: Ed. Thomson Learning Edições Ltda, 2006. p. 717-741.

CAÑEDO, J. C. G.; LIZÁRRAGA, G. L. L. **Considerations for Photobioreactor Design and Operation for Mass Cultivation of Microalgae.** In *Algae* - Organisms for Imminent Biotechnology, edited by Nooruddin Thajuddin and Dharumadurai Dhanasekaran, 2016.

CARDIAS, B. B.; MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. CO<sub>2</sub> conversion by the integration of biological and chemical methods: *Spirulina* sp. LEB 18 cultivation with diethanolamine and potassium carbonate addition. **Bioresource Technology**, v. 267, p. 77-83, 2018.

CASSURIAGA, A. P. A.; FREITAS, B. C. B.; MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Innovative polyhydroxybutyrate production by *Chlorella fusca* grown with pentoses. **Bioresource Technology**, v. 265, p. 456-463, 2018.

CHANG, Y.-M.; TSAI, W.-T.; LI, M.-H. Characterization of activated carbono prepared from *Chlorella*-based algal residue. **Bioresource Technology**, v. 184, p. 344-348, 2015.

CHAUQUE, E. F. C.; DLAMINI, L. N.; ADELODUN, A. A.; GREYLING, C. J.; NGILA, J. C. Electrospun polyacrylonitrile nanofibers functionalized with EDTA for adsorption of ionic dyes. **Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C,** v. 100, p. 201-211, 2017.

CHEAH, W. Y.; LING, T. C.; JUAN, J. C.; LEE, D. J.; CHANG, J. S.; SHOW, P. L. Biorefineries of carbon dioxide: From carbon capture and storage (CCS) to bioenergies production. **Bioresource Technology**, v. 215, p. 346-356, 2016.

CHEAH, W. Y.; SHOW, P. L.; CHANG, J-S.; LING, T. C.; JUAN. J. C. Biosequestration of atmospheric CO<sub>2</sub> and flue gas-containing CO<sub>2</sub> by microalgae. **Bioresource Technology**, v. 184, p. 190-201, 2015.

CHEN, C-Y.; YEH, K-L.; CHANG, H-Y.; CHANG, J-S. Strategies to improve oil/lipid production of microalgae in outdoor cultivation using vertical tubular-type photobioreactors. **Energy Procedia,** v. 61, p. 2755-2758, 2014.

CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. Biotechnology Advances, v. 25, p. 294-306, 2007.

CHIU, S. Y.; KAO, C. Y.; CHEN, C. H.; KUAN, T. C.; ONG, S. C.; LIN, C. S. Reduction of CO<sub>2</sub> by a High-density Culture of *Chlorella* sp. in a Semicontinuous Photobioreactor. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 3389-3396, 2008.

COSTA, J. A. C.; MORAIS, M. G. **Microalgae for food production.** In Fermentation Process Engineering in the Food Industry, C. R. Soccol, A. Pandey, and C. Larroche, Eds., p. 486, Taylor & Francis, 2013.

COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. The role of biochemical engineering in the production of biofuels from microalgae. **Bioresource technology**, v. 102, n.1, p. 2-9, 2011.

COSTA, J. A.V.; RADMANN, E. M.; CERQUEIRA, V. S.; SANTOS, G. C.; M. N. CALHEIROS, M. N. Perfil de ácidos graxos das microalgas *Chlorella vulgaris* e *Chlorella minutissima* cultivadas em diferentes condições. **Alimentos e Nutrição Araraquara,** v. 17, p. 429-436, 2006.

CRINI, G.; BADOT, P. M. Application of chitosan, a natural aminopolysaccharide, for dye removal from aqueous solutions by adsorption processes using batch studies: A review of recent literature. **Progress in Polymer Science**, v. 33, p. 399- 447, 2008.

DALIRY, S.; HALLAJISANI, A.; MOHAMMADI ROSHANDEH, J.; NOURI, H.; GOLZARY, A. Investigation of optimal condition for *Chlorella vulgaris* microalgae growth. **Global Journal of Environmental Science and Management,** v. 3, p. 217-230, 2017.

DAMIANI, M.; POPOVICH, C.; CONSTENLA, D.; LEONARDI, P. I. Lipid analysis in *Haematococcus pluvialis* to assess its potential use as a biodiesel feedstock. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 3801-3807, 2010.

DEAMICI, K. M.; SANTOS, L. O.; COSTA, J. A. V. Magnetic field action on outdoor and indoor cultures of *Spirulina*: Evaluation of growth, medium consumption and protein profile. **Bioresource Technology**, v. 249, p. 168-174, 2018.

DING, B.; YU, J. Electrospun Nanofibers for Energy and Environmental Applications. [S.I.]. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 2014.
DONG, T.; KNOSHAUG, E. P.; DAVIS, R.; LAURENS, L. M. L.; VAN WYCHEN, S.; PIENKOS, P. T.; NAGLE, N. Combined algal processing: a novel integrated biorefinery process to produce algal biofuels and bioproducts. **Algal Research**, v. 19, p. 316-323, 2016.

DUARTE, J. H.; FANKA, L. S.; COSTA, J. A. V. Utilization of simulated flue gas containing CO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, NO and ash for *Chlorella fusca* cultivation. **Bioresource Technology**, v. 214, p. 159-165, 2016.

DUARTE, J. H.; MORAIS, E. G.; RADMANN, E. M.; COSTA, J. A. V. Biological CO<sub>2</sub> mitigation from coal power plant by *Chlorella fusca* and *Spirulina* sp. **Bioresource Technology**, v. 234, p. 472-475, 2017.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.

ELOKA-EBOKA, A. C.; INAMBAO, F. L. Effects of CO<sub>2</sub> sequestration on lipid and biomass productivity in microalgal biomass production. **Applied Energy**, v. 195, p. 1100-1111, 2017.

FATEMEH, L.; MOHSEN, D. Effects of Environmental Factors on the Growth, Optical Density and Biomass of the Green Algae *Chlorella Vulgaris* in Outdoor Conditions. Journal of Applied Sciences and Environmental Management, v. 20, p. 133-139, 2016.

FIGUEIRA, F. S.; GETTENS, J. G.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G.; MORAES, C. C.; KALIL, S. J. Production of Nanofibers Containing the Bioactive Compound C Phycocyanin. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, v. 16, p. 944-949, 2016.

GARGIULO, N.; PEPE, F.; CAPUTO, D. CO<sub>2</sub> Adsorption by Functionalized Nanoporous Materials: A Review. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 14, p. 1811–1822, 2014.

GONÇALVES, C. F.; SCHMATZ, D. A.; UEBEL, L. S.; KUNTZLER, S. G.; COSTA, J. A. V.; ZIMMER, K. R.; MORAIS, M. G. Microalgae biopeptides applied in nanofibers for the development of active packaging. **Polímeros: ciência e Tecnologia**, v. 27, p. 290-297, 2017.

GONG, N.; SHAO, K.; FENG, W.; LIN, Z.; LIANG, C.; SUN, Y. Biotoxicity of nickel oxide nanoparticles and bio-remediation by microalgae *Chlorella vulgaris*. **Chemosphere**, v. 83, p. 510-516, 2011.

GROBBELAAR, J. U. **Inorganic algal nutrition.** In: Richmond, A., Hu, Q. (Eds.), Handbook of Microalgal Culture. John Wiley & Sons Ltd, Oxford, UK, pp. 123-133, 2013.

HAIDER, A.; HAIDER, S.; KANG, I.-K. A comprehensive review summarizing the effect of *electrospinning* parameters and potential applications of nanofibers in biomedical and biotechnology. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 11, p. 1165-1188, 2015.

HARDICK, O.; DODS, S.; STEVENS, B.; BRACEWELL, D. G. Nanofiber adsorbents for high productivity continuous downstream processing. **Journal of Biotechnology**, v. 213, p. 74-82, 2015.

HENRIKSON, R. Microalga *Spirulina*: Superalimento del future. Barcelona: Ediciones S. A. Urano, 1994.

HILLE, R. V.; FAGAN, M.; BROMFIELD, L.; POTT, R. A modified pH drift assay for inorganic carbon accumulation and external carbonic anhydrase activity in microalgae. **Journal of Applied Phycology**, v. 26, p. 377-385, 2013.

HINDERSIN, S.; LEUPOLD, M.; KERNER, M.; HANELT, D. Key parameters for outdoor biomass production of *Scenedesmus obliquus* in solar tracked photobioreactors. **Journal of Applied Phycology**, v. 26, p. 2315-2325, 2014.

HO, S. H.; CHEN, C.; LEE, D.; CHANG, J. Perspectives on microalgal CO<sub>2</sub> emissions mitigation systems – a review. **Biotechnology Advances**, v. 29, p. 189-198, 2011.

HUANG, C. H.; TAN, C. S. A Review: CO<sub>2</sub> Utilization. Aerosol and Air Quality Research, v. 14, p. 480-499, 2014.

JOHANSEN, M. N. Microalgae: Biotechnology, Microbiology and Energy. Nova Science Publishers, Inc, New York, 2012.

KAI, D.; LIOW, S. S.; LOH, X. J. Biodegradable polymers for *electrospinning*: Towards biomedical applications. **Materials Science and Engineering: C,** v. 45, p. 659–670, 2014.

KAMPEN, W. H. Nutritional Requirements in Fermentation Processes. In: Fermentation and Biochemical Engineering Handbook (3. Ed.), 2014. 454 p.

KASSIM, M. A.; MENG, T. K. Carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) biofixation by microalgae and its potential for biorefinery and biofuel production. Science of the Total Environment, v. 584-585, p. 1121-1129, 2017.

KHALIL, Z. I.; ASKER, M. M. S.; EI-SAYED, S.; KOBBIA, I. A. Effect of pH on growth and biochemical responses of *Dunaliella bardawil* and *Chlorella ellipsoidea*. World Journal of Microbiology and Biotechnology, v. 7, p. 1225-1231, 2010.

KHAN, M. I.; SHIN, J. H.; KIM, J. D. The promising future of microalgae: current status, challenges, and optimization of a sustainable and renewable industry for biofuels, feed, and other products. **Microbial Cell Factories**, v.17, p. 36, 2018.

KHAN, S.A.; RASHMI; HUSSAIN, M.Z.; PRASAD, S.; BANERJEE, U.C. Prospects of biodiesel production from microalgae in India. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 13, n. 9, p. 2361-2372, 2009.

KHAN, W. S.; ASMATULU, R.; CEYLAN, M.; JABBARNIA, A. Recent Progress on Conventional and Non-Conventional *Electrospinning* Processes. **Fibers and Polymers,** v. 14, p. 1235-1247, 2013

KIM, Y.; PARK, E.-Y.; LEE, D.Y.; LEE, M.-H.; LEE, S.-J.; KIM, B.-Y.; CHO, N.-I. Electrospun nanofibrous polyacrylonitrile (PAN)/Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> membrane as CO<sub>2</sub> gas sensor. Journal of the Korean Ceramic Society, v. 44, p. 194-197, 2007.

KIRICHENKO, V.; FILATOV, Y.; BUDYKA, A. *Electrospinning* of Micro- and Nanofibers: Fundamentals in Separation and Filtration Processes, Begell House, USA, 2007.

KOYTSOUMPA, E. I.; BERGINS, C.; KAKARAS, E. The CO<sub>2</sub> economy: Review of CO<sub>2</sub> capture and reuse Technologies. **The Journal of Supercritic Fluids**, v. 132, p. 3-16, 2018.

KUMAR, A.; ERGAS, S.; YUAN, X.; SAHU, A.; ZHANG, Q.; DEWULF, J.; MALCATA, F. X.; LANGENHOVE, H. Enhanced CO<sub>2</sub> fixation and biofuel production via microalgae: recent developments and future directions. **Trends in Biotechnology**, v. 28, p. 371-380, 2010.

KUNTZLER, S. G.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. Development of electrospun nanofibers containing chitosan/PEO blend and phenolic compounds with antibacterial activity. **International Journal of Biological Macromolecules,** v. 117, p. 800-806, 2018b.

KUNTZLER, S. G.; ALMEIDA, A. C. A.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. Polyhydroxybutyrate and phenolic compounds microalgae electrospun nanofibers: A novel nanomaterial with antibacterial activity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 113, p. 1008-1014, 2018a.

LAMMENS, T. M.; FRANSSEN, M. C. R.; SCOTT, E. L.; SANDERS, J. P. M. Availability of protein-derived amino acids as feedstock for the production of bio-based chemicals. **Biomass and Bioenergy**, v. 44, p. 168-181, 2012.

LANGMUIR, I. The constitution and fundamental properties of solids and liquids. **Journal of the American Chemical Society,** v. 38, p. 2221-2295., 1916. LEE, R. E. **Phycology.** Cambridge University Press, New York, NY, USA, 1980.

LI, S.; LUO, S.; GUO, R. Efficiency of CO<sub>2</sub> fixation by microalgae in a closed raceway pond. **Bioresource Technology**, v. 136, p. 267-272, 2013.

LI, Z.; WANG, C. **Effects of Working Parameters on** *Electrospinning*. In: Li, Z., Wang, C., (Eds.), One-Dimensional Nanostructures, SpringerBriefs in Materials, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2013. p. 15-28.

LING, X.; GUO, J.; LIU, X.; ZHANG, X.; WANG, N.; LU, Y.; NG, I.-S. Impact of carbon and nitrogen feeding strategy on high production of biomass and docosahexaenoic acid (DHA) by *Schizochytrium* sp. LU310. **Bioresource Technology**, v. 184, p. 139-147, 2015.

LIU, J.; HU, Q. *Chlorella*: industrial production of cell mass and chemicals. In: Richmond, A., Hu, Q. (Eds.), Handbook of Microalgal Culture. John Wiley & Sons Ltd, Oxford, UK, p. 327-338, 2013.

LIU, R.; FU, H.; YIN, H.; WANG, P.; LU, L.; TAO, Y. A facile sol combustion and calcination process for the preparation of magnetic  $Ni_{0.5}Zn_{0.5}Fe_2O_4$  nanopowders and their adsorption behaviors of Congo red. **Powder Technology**, v. **274**, p. 418-425, 2015.

LOURENÇO, S. O. **Cultivo de microalgas marinhas: princípios e aplicações.** São Carlos: RIMA, 2006, 606p.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **The Journal of Biologic Chemistry**, v. 193, p. 265-275, 1951.

LUCAS, B. F.; MORAIS, M. G.; SANTOS, T. D.; COSTA, J. A. V. *Spirulina* for snack enrichment: Nutritional, physical and sensory evaluations. **LWT**, v. 90, p. 270-276, 2018.

LUOH, R.; HAHN, H. T. Electrospun nanocomposite fiber mats as gas sensors. **Composites** Science and Technology, v. 66, p. 2436–2441, 2006.

MALLICK, N.; BAGCHI, S. K.; KOLEY, S.; SINGH, A. K. Progress and challenges in microalgal biodiesel production. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 1019, 2016.

MANGAN, N. M.; FLAMHOLZ, A.; HOOD, R. D.; MILO, R.; SAVAGE, D. F. pH determines the energetic efficiency of the cyanobacterial CO<sub>2</sub> concentrating mechanism. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 113, p. 5354-5362, 2016.

MARSH, J. B.; WEINSTEIN, D. B. Simple charring method for determination of lipids. Journal of Lipid Research, v. 7, p. 574-576, 1966.

MARZZOCO, A.; TORRES, B. B. **Bioquímica Básica.** 3 ed - Rio de Janeiro: Guanabara Koogab, 2010.

MASOJÍDEK, J.; PRÁSIL, O. The development of microalgal biotechnology in the Czech Republic. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 37, n. 12, p. 1307-1317, 2010.

MATA, T. M.; MARTINS, A. A.; CAETANO, N. S. Microalgae for biodiesel production and other applications: a review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews,** v. 14, p. 217-232, 2010.

MENG, L-Y; CHO, K-S; PARK, S-J. Effect of Heat Treatment on CO<sub>2</sub> Adsorption of Ammonized Graphite Nanofibers. **Carbon Letters**, v. 11, n. 1, p. 34-37, 2010.

MILANO, J.; ONG, H. C.; MASJUKI, H. H.; CHONG, W. T.; LAM, M. K.; LOH, P. K.; VELLAYAN, V. Microalgae biofuels as an alternative to fossil fuel for power generation. **Renewable and Sustainable Energy Reviews,** v. 58, 180-197, 2016.

MIYACHI, S.; IWASAKI, I.; SHIRAIWA, Y. Historical perspective on microalgal and cyanobacterial acclimation to low- and extremely high-CO<sub>2</sub> conditions. **Photosynthesis Research**, v. 77, p. 139-153, 2003.

MORAES, L.; ROSA, G. M. R.; CARDIAS, B. B.; SANTOS, L. O.; COSTA, J. A. V. Microalgal biotechnology for greenhouse gas control: carbon dioxidefixation by *Spirulina* sp. at different diffusers. **Ecological Engineering**, v. 91, p. 426-431, 2016.

MORAES, L.; ROSA, G. M.; MORILLAS ESPAÑA, A.; SANTOS, L. O.; MORAIS, M. G.; MOLINA GRIMA, E.; COSTA, J. A. V.; ACIÉN FERNÁNDEZ, F. G. Engineering strategies for the enhancement of *Nannochloropsis gaditana* outdoor production: influence of the CO<sub>2</sub>

flow rate on the culture performance in tubular photobioreactors. **Process Biochemistry**, v. 76, p. 171-177, 2018.

MORAIS, E. G.; MORAES, L.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. **Biodiesel and bioethanol from microalgae.** In: Carlos Ricardo Soccol; Ashok Pandey. (Org.). Green Fuels Technology. 1ed.EUA: Springer, v. 1, p. 1-31, 2016.

MORAIS, E.G.; DRUZIAN, J. I.; NUNES, I. L.; MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Glycerol increases growth, protein production and alters the fatty acids profile of *Spirulina* (Arthrospira) sp. LEB 18. **Process Biochemistry**, v. 76, p. 40-45, 2019.

MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Isolation and selection of microalgae from coal fired thermoelectric power plant for biofixation of carbon dioxide. **Energy Conversion and Management**, v. 48, p. 2169-2173, 2007a.

MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Perfil de ácidos graxos de microalgas cultivadas com dióxido de carbono. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, p. 1245-1251, 2008.

MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V.; MARINS, L. F. F.; REICHERT, C. C.; DALCANTON, F.; DURANTE, A. J. Isolation and caracterization of a new Arthrospira strain. **Zeitschrift für Naturforschung. C,** v. 63c, p. 144-150, 2008.

MORAIS, M. G.; RADMANN, E.; COSTA, J. A. V. Biofixation of CO<sub>2</sub> from synthetic combustion gas using cultivated microalgae in three-stage serial tubular photobioreactors. Zeitschrift für Naturforschung. C, A **Journal of Biosciences**, v. 66c, p. 313-318, 2011.

MORAIS, M. G.; VAZ, B. S.; MORAIS, E. G.; COSTA, J. A. V. Biologically Active Metabolites Synthesized by Microalgae. **Biomed Research International**, v. 2015, p. 1-15, 2015.

MORALES, M.; SÁNCHEZ, L.; REVAH, S. The impact of environmental factors on CO<sub>2</sub> fixation by microalgae. *FEMS Microbiology Letters*, v. 365, p. 1-31, 2018.

MOREIRA, J. B.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. Evaluation of different modes of operation for the production of *Spirulina* sp. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, v. 91, p. 1345-1348, 2016.

MOREIRA, J. B.; LIM, L-T.; ZAVAREZE, E. R.; DIAS, A. R. G.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. Antioxidant ultrafine fibers developed with microalga compounds using a free surface electrospinning. **Food Hydrocolloids**, v. 93, p. 131-136, 2019.

MOREIRA, J. B.; TERRA, A. L. M.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. Development of pH indicator from PLA/PEO ultrafine fibers containing pigment of microalgae origin. **International Journal of Biological Macromolecules,** v. 118, p. 1855-1862, 2018.

MORWEISER, M.; KRUSE, O.; HANKAMER, B.; POSTEN, C. Developments and perspectives of photobioreactors for biofuel production. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 87, p. 1291-1301, 2010.

MUMFORD, K. A.; WU, Y.; SMITH, K. H.; STEVENS, G. W. Review of solvent based carbon-dioxide capture Technologies. **Frontiers of Chemical Science and Engineering**, v. 9, p. 125-141, 2015.

NALBANDIAN, M. J.; ZHANG, M.; SANCHEZ, J.; CHOA, Y.-H.; NAM, J.; CWIERTNY, D. M.; MYUNG, N. V. Synthesis and optimization of Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanofibers for chromate adsorption from contaminated water sources. **Chemosphere**, v. 144, p. 975-981, 2016.

NASCIMENTO, R. F.; LIMA, A. C. A.; VIDAL, C. B.; MELO, D. Q.; RAULINO, G. S. C. Adsorção aspectos teóricos e aplicações ambientais. Fortaleza: Imprensa Universitária, 2014. 256 p.

NATRAH, F.; YOSOFF, F. M.; SHARIFF, M.; ABAS, F.; MARIANA, N. S. Screening of Malaysian indigenous microalgae for antioxidant properties and nutritional value. **Journal of Applied Phycology**, v. 19, p. 711-718, 2007.

NELSON, D.L.; COX, M. M. Lehninger - Princípios de Bioquímica. [S.I.]: 5. ed. Artmed, 2011.

OLIVIERI, G.; SALATINO, P.; MARZOCCHELLA, A. Advances in photobioreactors for intensive microalgal production: configurations, operating strategies and applications. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 89, p. 178-195, 2014.

OLIVIER, J. G. J.; JANSSENS-MAENHOUT, G.; MUNTEAN, M.; PETERS, J. A. H. W. **Trends in Globals CO<sub>2</sub> Emission: 2015 Report**. Background Studies. PBL Netherlands Environmental Assessment Agency, 2015.

PAES, C. R. S.; FARIA, G. R.; TINOCO, N. A. B.; CASTRO, D. J. F. A.; BARBARINO, E.; LOURENÇO, S. O. Growth, nutrient uptake and chemical composition of Chlorella sp. and Nannochloropsis oculata under nitrogen starvation. Latin American Journal of Aquatic Research, v. 44, p. 275-292, 2016.

PANDEY, A.; LEE, D-J.; CHISTI, Y.; SOCCOL, C. **Biofuels From Algae.** [S.I.]: 1. ed. Elsevier, 2014. 348 p.

PATEL, S.; HOTA, G. Iron oxide nanoparticle-immobilized PAN nanofibers: synthesis and adsorption studies. **RSC Advances**, v. 6, p. 1540215414, 2016.

PETRÍK, S. Industrial production technology for nanofibers. In: Nanofibers-Production, Properties and Functional Applications, 201. p. 1.

PIRES, J. C. M.; ALVIM-FERRAZ, M. C. M.; MARTINS, F. G.; SIMÕES, M. Carbon dioxide capture from flue gases using microalgae: Engineering aspects and biorefinery concept. **Renewable and Sustanable Energy Reviews,** v. 16, p. 3043-3053, 2012.

PLACZEK, M.; PATYNA, A.; WITCZAK, S. Technical evaluation of photobioreactors for microalgae cultivation. **E3S Web of Conferences,** v. 19, p. 02032, 2017.

PLAZA, M.; HERRERO, M.; CIFUENTES, A.; IBÁÑEZ, E. Innovative natural functional ingredients from microalgae. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 57, p. 7159-7170, 2009.

RADMANN, E. M.; CAMERINI, F. V.; SANTOS, T. D.; COSTA, J. A. V. Isolation and application of SO<sub>X</sub> and NO<sub>X</sub> resistant microalgae in Biofixation of CO<sub>2</sub> from thermoelectricity plants. **Energy Conversion and Management**, v. 52, p. 3132-3136, 2011.

RADMANN, E. M.; REINEHR, C. O.; COSTA, J. A. V. Optimization of the repeated batch cultivation of microalga *Spirulina platensis* in open raceway ponds. **Aquaculture**, v. 265, p. 118-126, 2007.

RAS, M.; STEYER, J. P.; BERNARD, O. Temperature effect on microalgae: a crucial factor for outdoor production. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v. 12, p. 153-164, 2013.

RAZZAK, S. A.; HOSSAIN, M. M.; LUCKY, R. A.; BASSI, A. S.; DE LASA, H. Integrated CO<sub>2</sub> capture, wastewater treatment and biofuel production by microalgae culturing - A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 27, p. 622-653, 2013.

REICHERT, C. C.; REINEHR, C. O.; COSTA, J. A. V. Semicontinuous cultivation of the cyanobacterium *Spirulina platensis* in a closed photobioreactor. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 23, p. 23–28, 2006.

RIPPKA, R.; DERUELLES, J.; WATERBURY, J. W.; HERDMAN, M.; STANIER, R. G. Genetic assignments, strain histories and properties of pure cultures of Cyanobacteria. **Journal of General Microbiology**, v. 111, p. 1-61, 1979.

RODOLFI, L.; ZITTELLI, G. C.; BASSI, N.; PADOVANI, G.; BIONDI, N.; BONINI, G.; TREDICI, M. R. Microalgae for oil: strain selection, induction of lipid synthesis and outdoormass cultivation in a low-cost photobioreactor. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 102, p. 100-120, 2009.

ROGINA, A. *Electrospinning* process: Versatile preparation method for biodegradable and natural polymers and biocomposite systems applied in tissue engineering and drug delivery. **Applied Surface Science,** v. 296, p. 221–230, 2014.

ROSA, G. M.; MORAES, L.; CARDIAS, B. B.; SOUZA, M. R. A. Z.; COSTA, J. A. V. Chemical absorption and CO<sub>2</sub> biofixation via the cultivation of *Spirulina* in semicontinuous mode with nutrient recycle. **Bioresource Technology**, v. 192, p. 321-327, 2015.

ROSA, G. M.; MORAES, L.; SOUZA, M. R. A. Z.; COSTA, J. A. V. *Spirulina* cultivation with a CO<sub>2</sub> absorbent: Influence on growth parameters and macromolecule production. **Bioresource Technology**, v. 200, p. 528-534, 2016.

ROSA, G. M.; MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Green alga cultivation with monoethanolamine: Evaluation of CO<sub>2</sub> fixation and macromolecule production. **Bioresource Technology**, v. 261, p. 206-212, 2018.

ROSA, G. M.; MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Fed-batch cultivation with CO<sub>2</sub> and monoethanolamine: influence on *Chlorella fusca* LEB 111 cultivation, carbon biofixation and biomolecules production. **Bioresource Technology**, v. 273, p. 627-633, 2019.

RUBIO, F. C.; FERNÁNDEZ, F. G. A.; PÉREZ, J. A. S.; CAMACHO, F. G.; GRIMA, E. M. Prediction of dissolved oxygen and carbon dioxide concentration profiles in tubular

photobioreactors for microalgal culture. **Biotechnology and Bioengineering,** v. 62, p. 71-86, 1999.

RUTHVEN, D. M. Principles of Adsorption and Adsorption Process. New York: John Wiley & Sons, 1984.

SALIH, F. M. Microalgae Tolerance to High Concentrations of Carbon Dioxide: A Review. **Journal of Environmental Protection,** v. 2, p. 648-654, 2011.

SCHMATZ, D. A.; UEBEL, L. S.; KUNTZLER, S. G.; DORA, C. L.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. Scaffolds containing *Spirulina* sp. LEB 18 biomass: development, characterization and evaluation of *in vitro* biodegradation. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, v. 15, p. 1–10, 2016.

SCHMIDELL, W.; LIMA, A. U.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Biotecnologia Industrial.** 2. ed. Edgard Blucher LTDA, Sao Paulo, 2001.

SCHMITZ, R.; MAGRO, C. D.; COLLA, L. M. Aplicações ambientais de microalgas. **Revista CIATEC – UPF,** v. 4, n. 1, p. 48-60, 2012.

SCHUURMANS, R. M.; ALPHEN P. V.; SCHUURMANS, J. M.; MATTHIJS, H. C. P.; HELLINGWERF, K. J. Comparison of the photosynthetic yield of cyanobacteria and green algae: different methods give different answers. **PLoS ONE**, v. 10, p. e0139061, 2015.

SEO, S-H.; HÁ, J-S.; YOO, C.; SRIVASTAVA, A.; AHN, C-Y.; CHO, D-H.; LA, H-J.; HAN, M-S.; OH, H-M. Light intensity as major factor to maximize biomass and lipid productivity of *Ettlia* sp. in CO2-controlled photoautotrophic chemostat. **Bioresource Technology**, v. 244, p. 621-628, 2017.

SHI, X.; ZHOU, W.; MA, D.; MA, Q.; BRIDGES, D.; MA, Y.; HU, A. *Electrospinning* of Nanofibers and Their Applications for Energy Devices. **Journal of Nanomaterials,** v. 2015, p. 1-20, 2015.

SINGH, J.; GU, S. Commercialization potential of microalgae for biofuels production. **Renewable Sustainable Energy Reviews,** v. 14, p. 2596-2610, 2010.

SKODRAS, G.; DIAMANTOPOULOU, I. R.; PANTOLEONTOS, G.; SAKELLAROPOULOS, G. P. Kinetic studies of elemental mercury adsorption in activated carbon fixed bed reactor. **Journal of Hazardous Materials**, v. 158, p. 1-13, 2008.

SLOCOMBE, S. P.; BENEMANN, J. R. Microalgal Production for Biomass and High Value Products. CRC Press, Boca Ratón, 2016.

SOCCOL, C. R.; PANDEY, A.; LARROCHE, C. Fermentation Processes Engineering in the Food Industry. CRC Press, 2013.

SUNDARAMURTHY, J.; LI, N.; KUMAR, P. S.; RAMAKRISHNA, S. Perspective of electrospun nanofibers in energy and environment. **Biofuel Research Journal**, v. 2, p. 44-54, 2014.

TEBBANI, S.; LOPES, F.; FILALI, R.; DUMUR, D.; PAREAU, D. CO<sub>2</sub> Biofixation by Microalgae. John Wiley & Sons Inc, Hoboken, 2014.

TERADA, D.; KOBAYASHI, H.; ZHANG, K.; TIWARI, A.; YOSHIKAWA, C.; HANAGATA, N. Transient charge-masking effect of applied voltage on *electrospinning* of pure chitosan nanofibers from aqueous solutions. Science and Technology of Advanced Materials, v. 13, n. 1, p. 15003-15011, 2012.

THAVASI, V.; SINGH, G.; RAMAKRISHNA, S. Electrospun nanofibers in energy and environmental applications. **Energy & Environmental Science**, v. 1, p. 205-221, 2008.

TOLEDO-CERVANTES, A.; MORALES, M.; NOVELO, E.; REVAH, S. Carbon dioxide fixation and lipid storage by *Scenedesmus obtusiusculus*. **Bioresource Technology**, v. 130, p. 652-658, 2013.

UEBEL, L. S.; SCHMATZ, D. A.; KUNTZLER, S. G.; DORA, C. L.; BAISCH, A. L. M.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. Quercetin and curcumin in nanofibers of polycaprolactone and poly(hydroxybutyrate- *co* -hydroxyvalerate): Assessment of *in vitro* antioxidant activity. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 133, p. 7286-7292, 2016.

VALIZADEH, A., FARKHANI, S. M. *Electrospinning* and electrospun nanofibres. **IET.** Nanobiotechnology, v. 8, p. 83-92, 2014.

VANTHOOR-KOOPMANS, M.; WIJFFELS, R. H.; BARBOSA, M. J.; EPPINK, M. H. M. Biorefinery of microalgae for food and fuel. **Bioresource Technology**, v. 135, p. 142-149, 2013.

VASUMATHI, K. K.; PREMALATHA. M.; SUBRAMANIAN, P. Parameters influencing the design of photobioreactor for the growth of microalgae. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, p. 5443-5450, 2012.

VAZ, B. S.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. CO<sub>2</sub> Biofixation by the Cyanobacterium *Spirulina* sp. LEB 18 and the Green Alga *Chlorella fusca* LEB 111 Grown Using Gas Effluents and Solid Residues of Thermoelectric Origin. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 178, p. 418-429, 2016a.

VAZ, B. S.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. Use of Solid Waste from Thermoelectric Plants for the Cultivation of Microalgae. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 2016, p. 1-10, 2016b.

VAZ, B. S.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. Innovative nanofiber technology to improve carbon dioxide biofixation in microalgae cultivation. **Bioresource Technology**, v. 273, p. 592-598, 2019.

VONSHAK, A. *Spirulina platensis (Arthrospira)* physiology, cell-biology and biotechnology. London: Taylor & Francis, 1997.

VRIEZE, S. D.; CAMP, T. V.; NELVIG, A.; HAGSTRÖM, B.; WESTBROEK, P.; CLERCK, K. D. The effect of temperature and humidity on *electrospinning*. Journal of Materials Science, v. 44, p. 1357-1362, 2009.

WANG, B.; LAN, C. Q.; HORSMAN, M. Closed photobioreactors for production of microalgal biomasses. **Biotechnology Advances**, v. 30, p. 904-912, 2012.

WANG, S. K.; STILES, A. R.; GUO, C.; LIU, C. Z. Microalgae cultivation in photobioreactors: An overview of light characteristics. **Engineering in Life Sciences**, v. 14, p. 550-559, 2014.

WILCOX, J.; HAGHPANAH, R.; RUPP, E. C.; HE, J.; LEE, K. Advancing Adsorption and Membrane-Separation Processes for the Gigaton Carbon Capture Challenge. **Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering,** v 5, p. 479-505, 2014.

YANG, J.; XU, M.; ZHANG, X.; HU, Q.; SOMMERFELD, M.; CHEN, Y. Life-cycle analysis on biodiesel production from microalgae: water footprint and nutrients balance. **Bioresource Technology, v.** 102, p. 159-165, 2011.

YEH, K. L.; CHANG, J. S. Effects of cultivation conditions and media composition on cell growth and lipid productivity of indigenous microalgae *Chlorella vulgaris* ESP-31. **Bioresource Technology,** v. 105, p. 120-127, 2012.

YONG, Z.; MATA, V.; RODRIGUES, A. E. Adsorption of carbon dioxide at high temperaturea review. **Separation and Purification Technology**, v. 26, p. 195-205, 2002.

XIAO, S.; LV, H.; TONG, Y.; XU, L.; CHEN, B. Thermal behavior and kinetics during the stabilization of polyacrylonitrile precursor in inert gas. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 122, p. 480-488, 2011.

XU, L.; WEATHERS, P. J.; XIONG, X-R; LIU, C-Z. Microalgal bioreactors: Challenges and Opportunities. **Engineering in Life Sciences**, v. 9, p. 178-189, 2009.

ZENG, X.; DANQUAH, M. K.; CHEN, X. D.; LU, Y. Microalgae bioengineering: From CO<sub>2</sub> fixation to biofuel production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews,** v. 15, p. 3252-3260, 2011.

ZENG, X.; DANQUAH, M. K.; ZHANG, S.; ZHANG, X.; WU, M.; CHEN, X. D.; NG, I. S.; JING, K.; LU, Y. Autotrophic cultivation of *Spirulina platensis* for CO<sub>2</sub> fixation and phycocyanin production. **Chemical Engineering Journal**, v. 183, p. 192-197, 2012.

ZHANG, K.; KURANO, N.; MIYACHI, S. Optimized aeration by carbon dioxide gas for microalgal production and mass transfer characterization in a vertical flat-plate photobioreactor. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 25, p. 97-101, 2002.

ZHANG, H.; ZENG, R.; CHEN, D.; LIU, J. A pivotal role of vacuolar H+-ATPase in regulation of lipid production in *Phaeodactylum tricornutum*. Scientific Reports, v. 6, p. 31319, 2016.

ZHANG, Z.; ZHANG, Z.; FERNÁNDEZ, Y.; MENÉNDEZ, J.A.; NIU, H.; PENG, J.; ZHANG, L.; GUO, S. Adsorption isotherms and kinetics of methylene blue on a low-cost adsorbent recovered from a spent catalyst of vinyl acetate synthesis. **Applied Surface Science**, v. 256, p. 2569-2576: 2010.

ZHAO, B.; SU, Y. Process Effect of Microalgalcarbon Dioxide Fixation and Biomass Production: A Review. **Renewable and Sustanable Energy Reviews,** v. 31, p. 121-132, 2014.

ZHENG, Q.; MARTIN, G. J. O.; KENTISH, S. E. Energy efficient transfer of carbon dioxide from flue gases to microalgal systems. **Energy and Environmental Science**, v. 9, p. 1074-1082, 2016.

ZHU, L. D.; HILTUNEN, E.; ANTILA, E.; ZHONG, J. J.; YUAN, Z. H.; WANG, Z. M. Microalgal biofuels: flexible bioenergies for sustainable development. **Renewable and Sustanable Energy Reviews**, v. 30, p. 1035-1046, 2014.

ZHU, J.; WEI, S.; RUTMAN, D.; HALDOLAARACHCHIGE, N.; YOUNG, D. P.; GUO, Z. Magnetic polyacrylonitrile-Fe@FeO nanocomposite fibers – *electrospinning*, stabilization and carbonization. **Polymer**, v. 52, p. 2947-2955, 2011.

## SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Aplicar as nanofibras poliméricas 10% PAN/ DMF como adsorventes físicos de CO<sub>2</sub> no cultivo da microalga *Spirulina* sp. LEB 18;
- Avaliar se ocorre a degradabilidade e/ou consumo das nanofibras pelas microalgas;
- Realizar cultivos semicontínuos outdoor utilizando as nanofibras poliméricas adsorventes.

APÊNDICES



Figura A2 - Nanofibras poliméricas 10% (m v<sup>-1</sup>) de PAN/DMF com 4% (m v<sup>-1</sup>) de NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>



Figura A3 - Nanofibras poliméricas com biomassa microalgal adsorvida ao final dos cultivos



Figura A1 - Nanofibras com 5% (m  $v^{\text{-}1})$  de PAN/ DMF