

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

BRUNA BARCELOS CARDIAS

TRANSFERÊNCIA DE CARBONO E PRODUÇÃO DE BIOMASSA MICROALGAL A
PARTIR DE DIFERENTES ESTRATÉGIAS PARA AUMENTO DA BIOFIXAÇÃO DE
CO₂

CURITIBA

2022

BRUNA BARCELOS CARDIAS

TRANSFERÊNCIA DE CARBONO E PRODUÇÃO DE BIOMASSA MICROALGAL A
PARTIR DE DIFERENTES ESTRATÉGIAS PARA AUMENTO DA BIOFIXAÇÃO DE
CO₂

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Jorge Alberto Vieira Costa

Coorientadora: Prof^a. Dra. Michele Greque de Moraes

CURITIBA

2022

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA

Cardias, Bruna Barcelos

Transferência de carbono e produção de biomassa microalgal a partir de diferentes estratégias para aumento da biofixação de Co_2 / Bruna Barcelos Cardias. – Curitiba, 2022.

1 recurso on-line : PDF.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia,.

Orientador: Jorge Alberto Vieira Costa

Coorientador: Michele Greque de Moraes

1. Absorção química. 2. Nanofibras. 3. Scenedesmus. 4. Spirulina. 5. Biomassa. 6. Dióxido de carbono – Transferência de. I. Universidade Federal do Paraná. II. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia,. III. Costa, Jorge Alberto Vieira. IV. Moraes, Michele Greque de. V. Título.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ENGENHARIA DE
BIOPROCESSOS E BIOTECNOLOGIA - 40001016036P8

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS E BIOTECNOLOGIA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **BRUNA BARCELOS CARDIAS** intitulada: **TRANSFERÊNCIA DE CARBONO E PRODUÇÃO DE BIOMASSA MICROALGAL A PARTIR DE DIFERENTES ESTRATÉGIAS PARA AUMENTO DA BIOFIXAÇÃO DE CO₂**, sob orientação do Prof. Dr. **JORGE ALBERTO VIEIRA COSTA**, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua **APROVAÇÃO** no rito de defesa.

A outorga do título de doutora está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 11 de Julho de 2022.

Assinatura Eletrônica

12/07/2022 14:12:55.0

JORGE ALBERTO VIEIRA COSTA
Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

12/07/2022 12:12:53.0

GABRIEL MARTINS DA ROSA

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE)

Assinatura Eletrônica

12/07/2022 12:06:03.0

CARLOS RICARDO SOCCOL

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

12/07/2022 09:34:56.0

MICHELE GREQUE DE MORAIS

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE)

Assinatura Eletrônica

15/07/2022 12:02:44.0

FRANCISCO GABRIEL ACIÉN FERNÁNDEZ

Avaliador Externo (UNIVERSIDAD DE ALMERIA)

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Paraná e ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, especialmente ao professor Soccol e professor Julio, bem como as secretárias Marta e Joyce, que sempre me deram suporte, prontamente disponíveis a qualquer questionamento.

À Universidade Federal do Rio Grande, que foi minha casa por 9 anos. Na FURG eu me tornei cientista e cresci profissionalmente e pessoalmente.

À CAPES, ao CNPq e MCTIC pelo apoio financeiro, tanto com as bolsas de estudo quanto nos projetos ligados ao LEB-MiBi e que tornaram possível o desenvolvimento do trabalho.

Ao meu orientador, professor Jorge Alberto Vieira Costa, pela confiança e parceria de todos esses anos. Sempre aberto, apoiando, opinando e deixando liberdade para que eu conduzisse meu trabalho. Levo muito de ti pra minha vida profissional e também pessoal. Muito obrigada!

À minha coorientadora, professora Michele Greque de Moraes, que me levou para o mundo da nanotecnologia, que desde o início da minha vida acadêmica foi uma curiosidade pra mim. Obrigada por abrir as portas do MiBi, ler e reler meus trabalhos, e pelas oportunidades de trabalhos em conjunto com a equipe.

À banca examinadora, por aceitar o convite, pelo tempo dedicado à leitura do trabalho e pelas contribuições que serão muito bem aproveitadas.

Ao professor Francisco Gabriel Ación Fernández e toda a sua equipe, que me recebeu e acolheu durante um ano e três meses na Universidad de Almería. *Gracias* pelo espaço concedido, pelo conhecimento repassado e por confiarem que eu poderia fazer um trabalho a altura do grupo de *Biotecnología de Microalgas Marinas*. Mariana, Marta, Ainoa, Tomás, Isma, Peña, Enrique, José, Martina, Cintia, Ana, Cristian, Guzmán. Tenho um carinho especial por todos, por nossas “cervezas y chupitos” e por todo o apoio que me deram no trabalho. Vocês formam uma equipe de ouro.

Aos colegas dos laboratórios LEB, MiBi, Centro Integrado de Análises (CIA) e CEME-SUL pelo suporte com análises, dúvidas e tudo o que foi necessário para construir esse trabalho.

A minha família (pai e mãe, mana, avós, tios, tias e primos), que me acompanha e apoia desde sempre. Que sofreu e comemorou junto cada conquista. Que ficou com o coração na mão quando eu atravesssei o oceano pra viver meu sonho, em meio a

uma pandemia. Mas que mostraram força e me fizeram acreditar que eu conseguiria. Tudo o que eu faço é para o orgulhar vocês.

Aos meus amigos e amigas de Rio Grande, Almería, Santo Augusto: Suelen, Priscila, Jéssica, Camila, Ana Paula, Kricelle, Luiza, Gabriel, Juliana, Bruna Vaz, Roque, Gabriela Curi, Etiele, Janaina, Karina, Mariana, Alessia, Letícia, Matheus, Igor, Chema, Raul, Nina, Carla, Luciano, Pavlos, Narjis, Patrícia, Natalia, Miriam, Isabel, Michele, Junior, Álvaro, Zike, Mateus, Lucas... tantas pessoas que eu poderia citar, que estiveram presentes na vida profissional e pessoal, perto ou a distância, que foram o apoio, a 2ª família, a parceria em todos os momentos. Nenhum trabalho é realizado sozinho e eu tenho a sorte de ter muita gente boa do meu lado, em qualquer lugar do mundo que eu vá.

Às histórias, pessoas, momentos que vivi nesses anos, um enorme carinho e muito obrigada, de coração!

“É justamente a possibilidade de realizar um sonho que torna a vida interessante.”

Paulo Coelho, O Alquimista

RESUMO

O dióxido de carbono (CO₂) é um dos principais gases de efeito estufa. As microalgas podem utilizar o CO₂ para produzir biomassa rica em proteínas, lipídios e carboidratos. A consolidação dessa tecnologia na captura do CO₂ necessita de maior eficiência de uso do carbono. Os métodos físicos (adsorção por membranas) e químicos (absorção com aminas) já utilizados na captura do CO₂ podem ser associados à biofixação. Além disso, conhecer como as condições ambientais afetam a transferência de carbono para o meio líquido é fundamental para reduzir perdas de CO₂. O objetivo desse estudo foi avaliar como a adição de nanofibras adsorventes no cultivo da microalga *Spirulina* sp. LEB 18 em reatores tubulares em escala laboratorial, e, como a injeção de CO₂ sob demanda do pH em cultivos de *Scenedesmus almeriensis* em reatores *raceway* e *thin-layer* em escala piloto, alteram a transferência de CO₂ no meio, a biofixação de CO₂ e a produção de biomassa. O efeito das nanofibras na biofixação de CO₂ e crescimento da microalga *Spirulina* sp. LEB 18 foi avaliado em fotobiorreatores tubulares (1,8 L), em condições *indoor*. As nanofibras de poliacrilonitrila foram desenvolvidas sem e com adição de 1% v v⁻¹ de monoetanolamina pela técnica de *electrospinning*. Os cultivos *outdoor* em reator *raceway* (11850 L) foram realizados com a microalga *Scenedesmus almeriensis*. Foi avaliada a influência da temperatura, radiação solar e pH na transferência de carbono. Além disso, o controle do pH por demanda de CO₂ durante o dia (tradicional) foi comparado com o controle do pH dia e noite (proposto). *Scenedesmus almeriensis* foi cultivada em reator *thin-layer* de 2400 L para avaliar a taxa (2, 5, 10 e 15 L min⁻¹) e local de injeção do CO₂ (coluna de dessorção e bomba de recirculação do cultivo) para controle do pH. As nanofibras aumentaram 17% a biofixação de CO₂ da microalga *Spirulina* com produtividade de proteínas 1,7 vezes maior que o cultivo sem adsorvente. Os cultivos de *Scenedesmus* mostraram mais de 80% de transferência do CO₂ para o cultivo durante todo o ano, com taxa de biofixação de até 69%. Controlando o pH apenas durante o dia, a demanda experimental de CO₂ pode ser até 13 vezes maior que a demanda teórica em função de radiação solar, pH e temperatura do cultivo. No controle de pH operado dia e noite, obteve-se produtividade de biomassa mais elevada (23,2 g m⁻² d⁻¹) que no controle de pH realizado apenas durante o dia. Nesse controle proposto, o aproveitamento de CO₂ chegou a 58%, sendo uma alternativa para reduzir as perdas de carbono e as flutuações do pH ao longo do dia. No reator *thin-layer*, independentemente do local de injeção do gás, a produtividade de biomassa mais elevada (até 29,5 g m⁻² d⁻¹) e menor consumo de CO₂ ocorreram com 10 L_{CO2} min⁻¹. A injeção de CO₂ na bomba de recirculação do cultivo é mais viável quando o reator não possui coluna de dessorção. As estratégias estudadas são adaptações que podem ser realizadas em cultivos já existentes e que contribuem com a captura do CO₂, além de aumentar a produção de matéria-prima renovável para *commodities* como os biocombustíveis.

Palavras-chave: Absorção química. Nanofibras. *Scenedesmus*. *Spirulina*.
Transferência de CO₂.

ABSTRACT

Carbon dioxide (CO₂) is one of the main greenhouse gases. Microalgae can use CO₂ to produce biomass rich in proteins, lipids, and carbohydrates. The consolidation of this technology in capturing CO₂ requires greater efficiency in the use of carbon. Physical (absorption by membranes) and chemical methods (absorption with amines) have been used to CO₂ capture and can be associated with biofixation. In addition, knowledge of how environmental conditions affect the carbon transfer to the liquid medium is essential to reduce CO₂ losses. Therefore, this study aimed to evaluate how the addition of adsorbent nanofibers in cultures of *Spirulina* sp. LEB 18 at laboratory scale, and, how the injection of CO₂ under pH demand in *Scenedesmus almeriensis* cultures in raceway and thin-layer reactors at pilot scale alter the CO₂ transfer in the medium, CO₂ biofixation and biomass production. The effect of the nanofibers on CO₂ biofixation and growth of the microalgae *Spirulina* sp. LEB 18 was evaluated in indoor tubular photobioreactors (1.8 L). The polyacrylonitrile nanofibers was developed without and with addition of 1% v v⁻¹ of monoethanolamine by electrospinning technique. Cultures in outdoor raceway reactors (11,850 L) were carried out with the microalgae *Scenedesmus almeriensis*. The influence of temperature, solar radiation and pH on CO₂ mass transfer was evaluated. In addition, pH control on CO₂ demand at daytime (traditional) was compared with day and nighttime control (proposed). *Scenedesmus almeriensis* was cultivated in 2,400 L thin-layer reactors to evaluate pH control by varying the rate (2, 5, 10 and 15 L min⁻¹) and CO₂ injection site (desorption column and medium recirculation pump). The nanofibers increased 17% of the CO₂ biofixation of the *Spirulina* microalgae, with protein productivity 1.7 times higher than the cultivation without adsorbent. *Scenedesmus* cultures showed transfer of CO₂ greater than 80% to the culture throughout the year, with a biofixation rate of up to 69%. In the day and nighttime pH control, greater biomass productivity was obtained (23.2 g m⁻² d⁻¹) using 58% of the incoming CO₂, an alternative to reduce carbon losses and pH fluctuations throughout the day. In thin-layer reactors, the highest biomass productivity (up to 29.5 g m⁻² d⁻¹) and lower CO₂ injection occurred with 10 L CO₂ min⁻¹ at both gas injection sites. Medium recirculation pump injection is more feasible in cases where the reactor does not have the desorption column attached. The strategies studied are adaptations can be carried out in existing cultures and contribute to CO₂ capture, in addition to the production of renewable raw materials for commodities such as biofuels.

Keywords: Adsorption. Chemical absorption. Nanofiber. *Scenedesmus*. *Spirulina*.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

FIGURA 1- AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO DE DIÓXIDO DE CARBONO EM PARTES POR MILHÃO (ppm) (A) E ÍNDICE ANUAL DE GASES DE EFEITO ESTUFA DE LONGA DURAÇÃO (B).	20
FIGURA 2- DEZ PAÍSES QUE MAIS PUBLICAM DOCUMENTOS COM O TERMO "MICROALGAE"	22
FIGURA 3- TRANSFERÊNCIA DE CO ₂ DA BOLHA DE GÁS PARA A FASE LÍQUIDA E PARA DENTRO DA CÉLULA (AS FORMAS DE CARBONO INORGÂNICO PREDOMINANTES DEPENDEM DO pH DO MEIO).....	24
FIGURA 4- BIOECONOMIA CIRCULAR: UTILIZAÇÃO EFICIENTE DE CO ₂ PARA DESENVOLVIMENTO DE BIOPRODUTOS A PARTIR DA BIOMASSA MICROALGAL	25
FIGURA 5- MICROGRAFIA DAS MICROALGAS <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 SOB AUMENTO DE 400X (A) E <i>Scenedesmus almeriensis</i> SOB AUMENTO DE 100X (B)	27
FIGURA 6- TRÊS CONFIGURAÇÕES DE FOTOBIOREATOR UTILIZADOS NOS CULTIVOS MICROALGAIS: TUBULAR, <i>THIN-LAYER</i> E <i>RACEWAY</i>	29
FIGURA 7. ORGANIZAÇÃO DOS ARTIGOS QUE COMPÕEM A TESE.....	37

CAPÍTULO II

FIGURA 1- NANOFIBRAS DISPERSAS NA SUPERFÍCIE DO CULTIVO NO FOTOBIOREATOR	42
FIGURA 2- NANOFIBRAS DESENVOLVIDAS PELO PROCESSO DE <i>ELECTROSPINNING</i>	45
FIGURA 3- DISTRIBUIÇÃO DO DIÂMETRO (FREQUÊNCIA RELATIVA, %) E DIÂMETRO MÉDIO (D _m , nm) DAS NANOFIBRAS DE PAN SEM MEA(A) E COM 1% (v v ⁻¹) DE MEA (B).	46
FIGURA 4- VARIAÇÃO DO pH (SÍMBOLO NÃO PREENCHIDO) E CONCENTRAÇÃO DE CARBONO INORGÂNICO DISSOLVIDO (CID, mg L ⁻¹) (SÍMBOLO SÓLIDO) NO MEIO DE CULTIVO DE <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 SEM	

NANOFIBRAS (□, ■), COM NANOFIBRAS COM 0% (v v ⁻¹) DE MEA (○, ●), E COM NANOFIBRAS COM 1% (v v ⁻¹) de MEA (Δ, ▲).....	50
--	----

CAPÍTULO III

FIGURA 1- (A) ESQUEMA DO REATOR (VISTA SUPERIOR E LATERAL). (B) IMAGEM DO <i>RACEWAY</i> UTILIZADO DURANTE OS EXPERIMENTOS, LOCALIZADO NO CENTRO DE PESQUISA IFAPA EM ALMERÍA (ESPANHA)	63
FIGURA 2- RADIAÇÃO SOLAR ($\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$) E TEMPERATURA AMBIENTE (°C) EM FUNÇÃO DA ESTAÇÃO (OUTONO, INVERNO, PRIMAVERA E VERÃO).....	68
FIGURA 3- VARIAÇÃO DA TEMPERATURA DE CULTIVO, pH, OXIGÊNIO DISSOLVIDO E FLUXO DE CO ₂ NO CULTIVO DE MICROALGAS EM FUNÇÃO DA ESTAÇÃO DO ANO (PRIMAVERA, VERÃO, OUTONO E INVERNO).	69
FIGURA 4- PRODUTIVIDADE DE BIOMASSA E FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA (Fv/Fm) DO CULTIVO DA MICROALGA <i>Scenedesmus almeriensis</i> ..	73
FIGURA 5- DESEMPENHO GERAL DO REATOR <i>RACEWAY</i> EM TERMOS DE CO ₂ EM FUNÇÃO DA ESTAÇÃO DO ANO. (A) ENTRADAS E SAÍDAS DE CO ₂ (g d ⁻¹); (B) EFICIÊNCIA DE CO ₂ (%).	74
FIGURA 6- COMPARAÇÃO ENTRE A DEMANDA DIÁRIA DE CO ₂ , EXPERIMENTAL E MODELADA, EM DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO. A DEMANDA DE CO ₂ FOI SIMULADA USANDO O MODELO PROPOSTO EM FUNÇÃO DOS VALORES HORÁRIOS DE RADIAÇÃO SOLAR, TEMPERATURA E pH NA CULTURA	76

CAPÍTULO IV

FIGURA 1- EVOLUÇÃO DO pH COM O VALOR DE <i>SETPOINT</i> (LINHA VERMELHA TRACEJADA) (A) E FLUXO DE ENTRADA DE CO ₂ (L min ⁻¹) (B) COM CONTROLE DE pH POR INJEÇÃO DE CO ₂ ATUANDO NO PERÍODO DIURNO E DURANTE OS PERÍODOS DIURNO E NOTURNO	87
FIGURA 2- TRANSFERÊNCIA DE MASSA DE CO ₂ NO CULTIVO MICROALGAL COM CONTROLE DE pH DURANTE O DIA E DURANTE DIA E NOITE.	90
FIGURA 3- RADIAÇÃO SOLAR E OXIGÊNIO DISSOLVIDO (OD) PRODUZIDO PELA CULTURA DE <i>Scenedesmus almeriensis</i>	92

CAPÍTULO V

FIGURA 1- ESQUEMA REPRESENTATIVO DA VISTA DE TOPO E LATERAL DO REATOR <i>THIN-LAYER</i> (A) E IMAGENS DO TANQUE (B), BOMBA DE RECIRCULAÇÃO DO CULTIVO (C) E COLUNA DE DESSORÇÃO (D).....	102
FIGURA 2- TEMPERATURA (T), RADIAÇÃO SOLAR (Rad) E OXIGÊNIO DISSOLVIDO (OD) COM INJEÇÃO DE CO ₂ DE 15 A 2 L min ⁻¹ NA COLUNA E BOMBA.....	105
FIGURA 3- VARIAÇÃO DE pH E INJEÇÃO DE CO ₂ NA COLUNA DE DESSORÇÃO E BOMBA DE RECIRCULAÇÃO DO CULTIVO EM DIFERENTES NAS TAXAS DE ENTRADA DO GÁS.....	107
FIGURA 4- TEMPO (min) QUE O SISTEMA INJETA CO ₂ NO CULTIVO DURANTE O DIA.....	108

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

TABELA 1- SISTEMAS DE CULTIVO PARA DIFERENTES ESPÉCIES DE MICROALGAS E RESPOSTAS DO CULTIVO.....	26
--	----

CAPÍTULO II

TABELA 1- DIÂMETROS MÉDIOS DAS NANOFIBRAS ($D_{\text{NANOFIBRA}}$) DESENVOLVIDAS COM VARIAÇÃO NA CONCENTRAÇÃO DE POLÍMERO PAN (C_{PAN}), CONCENTRAÇÃO DE MEA (C_{MEA}), TAXA DE ALIMENTAÇÃO (TA) E DIÂMETRO DO CAPILAR (D_{CAPILAR}).....	45
TABELA 2- TEMPERATURA DE FUSÃO (T_m , °C), ENTALPIA (H , J g ⁻¹), TEMPERATURA MÁXIMA DE DEGRADAÇÃO (T_{md} , °C), TEMPERATURA INICIAL DE DEGRADAÇÃO (T_{id} , °C) E TEMPERATURA FINAL DE DEGRADAÇÃO (T_{fd} , °C) DO POLÍMERO PAN, ABSORVENTE QUÍMICO MEA E NANOFIBRAS PRODUZIDAS COM 11,5% (m v ⁻¹) DE PAN E 0 OU 1% (v v ⁻¹) DE MEA.....	47
TABELA 3- CONCENTRAÇÃO DE BIOMASSA (X_{final}), PRODUTIVIDADE DE BIOMASSA (P_{final}), TAXA DE BIOFIXAÇÃO DE CO ₂ (TB), CONCENTRAÇÃO DE BIOMOLÉCULA ($C_{\text{proteínas}}$, $C_{\text{carboidratos}}$ e $C_{\text{lipídios}}$) E PRODUTIVIDADE DE BIOMOLÉCULAS ($P_{\text{proteínas}}$, $P_{\text{carboidratos}}$ e $P_{\text{lipídios}}$) EM ENSAIOS COM E SEM NANOFIBRAS.....	49

CAPÍTULO IV

TABELA 1- ENTRADA DE CO ₂ COM CONTROLE DE pH DURANTE O DIA E DURANTE DIA E NOITE (48 h DE ENSAIO)	88
TABELA 2- CONCENTRAÇÃO DE BIOMASSA (g L ⁻¹), PRODUTIVIDADE DE BIOMASSA (g m ⁻² d ⁻¹) E Fv/Fm DO CULTIVO MICROALGAL COM DIFERENTES CONTROLES DE pH.	93

CAPÍTULO V

TABELA 1- FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA (F_v/F_m), CONCENTRAÇÃO DE BIOMASSA (C_b), PRODUTIVIDADE DE BIOMASSA (P_b), TAXA DE BIOFIXAÇÃO DE CO_2 (T_b) E EFICIÊNCIA DE BIOFIXAÇÃO (E_{CO_2}) DOS CULTIVOS COM 10 E 15 $L_{CO_2} \text{ min}^{-1}$	109
--	-----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	17
1.1 OBJETIVOS.....	18
1.1.1 Objetivo Geral	18
1.1.2 Objetivos Específicos	19
1.2 JUSTIFICATIVA.....	19
CAPÍTULO I.....	23
2 REVISÃO TEÓRICO EMPÍRICA	23
2.1 BIOFIXAÇÃO DE CO ₂ POR MICROALGAS	23
2.1.1 Microalgas.....	25
2.1.2 Sistemas de cultivo	28
2.2 ESTRATÉGIAS UTILIZADAS PARA O AUMENTO DA BIOFIXAÇÃO DE CO ₂ ..	32
2.2.1 Fatores bióticos e abióticos	32
2.2.2 Tecnologias de fixação do CO ₂ que podem ser associados ao cultivo microalgal	35
3 ESTRUTURA DO ESTUDO.....	37
CAPÍTULO II.....	38
ARTIGO I: INCREMENTO DA PRODUTIVIDADE DE BIOMASSA E BIOMOLÉCULAS DE <i>SPIRULINA</i> SP. LEB 18 CULTIVADA COM NANOFIBRAS ADSORVENTES DE CO₂	38
1 INTRODUÇÃO.....	39
2 MATERIAL E MÉTODOS	40
2.1 PREPARO DE SOLUÇÕES POLIMÉRICAS PARA <i>ELECTROSPINNING</i>	40
2.2 DESENVOLVIMENTO DAS NANOFIBRAS	41
2.3 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOFIBRAS	41
2.4 CONDIÇÕES DE CULTIVO E DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS	42
2.5 RECUPERAÇÃO DE BIOMASSA E DETERMINAÇÃO DE BIOMOLÉCULAS...	43
2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	44
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
3.1 DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOFIBRAS DE PAN.....	44
3.2 EFEITO DAS NANOFIBRAS NO CRESCIMENTO E COMPOSIÇÃO DE <i>SPIRULINA</i> SP. LEB 18.....	48
4 CONCLUSÃO	54
REFERÊNCIAS	55

CAPÍTULO III.....	60
ARTIGO II: ANÁLISE GLOBAL DA DEMANDA E UTILIZAÇÃO DE CO₂ EM CULTIVO DE MICROALGA EM REATOR <i>RACEWAY</i> EM ESCALA PILOTO	60
1 INTRODUÇÃO.....	61
2 MATERIAIS E MÉTODOS	62
2.1 MICRORGANISMO E MEIO DE CULTIVO	62
2.2 PRODUÇÃO DE BIOMASSA	62
2.3 CONCENTRAÇÃO E PRODUTIVIDADE DE BIOMASSA	64
2.4 BALANÇO DE MASSA DE CARBONO	65
2.4.1 Entrada de massa de carbono	65
2.4.2 Saída de massa de carbono.....	65
2.5 MODELO DE DEMANDA DE CO ₂	66
2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	67
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	68
3.1 INFLUÊNCIA DAS CONDIÇÕES AMBIENTAIS NA DEMANDA DE CO ₂	68
3.2 BALANÇO DE CARBONO NO REATOR	73
3.3 DESENVOLVIMENTO DO MODELO MATEMÁTICO	75
4 CONCLUSÃO	77
REFERÊNCIAS	78
CAPÍTULO IV	82
ARTIGO III: CONTROLE DE PH DO CULTIVO DE MICROALGAS POR INJEÇÃO DE CO₂ NOS PERÍODOS DIURNO E NOTURNO.....	82
1 INTRODUÇÃO.....	83
2 MATERIAL E MÉTODOS	84
2.1 MICROALGA E MEIO DE CULTURA.....	84
2.2 FOTOBIORREATOR E CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS	84
2.3 ACOMPANHAMENTO DO CRESCIMENTO CELULAR.....	85
2.4 BALANÇO DE CARBONO	85
2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	86
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	86
3.1 CONTROLE DE PH E INJEÇÕES DE CO ₂	87
3.2 TRANSFERÊNCIA DE CO ₂ NO CULTIVO	89
3.3 INFLUÊNCIA DAS VARIÁVEIS DO CULTIVO NA PRODUÇÃO DE BIOMASSA	

4 CONCLUSÃO	94
REFERÊNCIAS	95
CAPÍTULO V	99
ARTIGO IV: CONTROLE DA ENTRADA DE CO₂ EM REATOR <i>THIN-LAYER</i> PARA AUMENTAR A TRANSFERÊNCIA DE GÁS EM CULTIVOS DE MICROALGAS ...	99
1 INTRODUÇÃO.....	100
2 MATERIAIS E MÉTODOS	101
2.1 MICROALGA E CONDIÇÕES DE CULTIVO.....	101
2.2 FOTOBIORREATOR E CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS	101
2.3 ANÁLISES DO CULTIVO	103
2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	103
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	103
4 CONCLUSÃO	111
REFERÊNCIAS	112
5 CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES	116
6 TRABALHOS PUBLICADOS DURANTE O DOUTORADO	117
REFERÊNCIAS GERAIS.....	118

1 INTRODUÇÃO

A fixação biológica pode auxiliar na redução do dióxido de carbono (CO_2) atmosférico quando este bioprocessos é realizado junto a grandes emissoras de gases de efeito estufa, como o setor de geração de energia e o siderúrgico. O processo de captura de CO_2 a partir de microalgas é promissor e pode se tornar sustentável (ZHOU et al., 2017). Quanto a eficiência de biofixação do CO_2 e formas de cultivo, as microalgas apresentam melhor desempenho que as plantas terrestres (KUO et al., 2017). A biomassa produzida na fixação de carbono, pode ser utilizada na obtenção de biocombustíveis como biodiesel (MARTÍNEZ et al., 2017) e bioetanol (FREITAS et al., 2017), componentes específicos com alto valor como pigmentos (HYNSTOVA et al., 2018; PRATES et al., 2018), na alimentação animal (SOUZA et al., 2021), biopesticidas (COSTA et al., 2019a), além do tratamento de efluentes (GONÇALVES et al., 2016).

Essa tecnologia vem sendo aplicada industrialmente e apresenta-se promissora. No entanto, os pesquisadores continuam buscando melhorias no processo para aumentar a eficiência de utilização do carbono e de produção de biomassa aliada à redução de custos. Isso pode ser realizado a partir de alterações no *design* do fotobiorreator, nas condições de cultivo, adição de tecnologias de fixação do CO_2 , entre outras, variando as espécies microalgais. O principal objetivo por trás dessas metodologias é aumentar a transferência de massa do CO_2 no meio líquido, visando minimizar as perdas do gás para a atmosfera e possibilitar melhor uso do carbono pelas microalgas (ACIÉN et al., 2017a; MORAIS, M.G. et al., 2019; ZHOU et al., 2017).

As possibilidades de aumentar a transferência de massa em qualquer tipo de reator são diversas. Alguns estudos têm associados a fixação química e biológica do CO_2 , obtendo-se respostas positivas, como incremento de carboidratos ou lipídios na biomassa e elevada eficiência de biofixação do CO_2 (CARDIAS et al., 2018; ROSA, et al., 2022; 2018; 2016; 2015). Comparados aos absorventes líquidos, a aplicação de adsorventes sólidos na captura de CO_2 é considerada como de fácil manuseio, com potencial aumento de escala, além de custo de regeneração baixo (BELTZUNG et al., 2018). A aplicação de nanomateriais como adsorventes de CO_2 em cultivos de microalgas tem ganhado espaço e apresenta resultados promissores (VAZ et al., 2020). Modificações nas nanoestruturas, como a adição de compostos, são

estratégias que visam o aumento do número de sítios de adsorção e formação de ligações químicas, além da interação física, entre o adsorvente e o gás adsorvido (KIM et al., 2017). Dessa forma, a adsorção física pode ser acrescentada aos processos de mitigação biológica e química, de forma a se obter resultados ainda mais promissores de fixação do CO₂.

Em cultivos de grande escala, o controle do pH é muito importante para alcançar os melhores valores de transferência de massa e aumentar a produtividade. A manutenção do pH ideal permite que a microalga mantenha suas atividades essenciais, utilize os nutrientes disponíveis no meio de forma efetiva, mantém a saúde celular e reduz o risco de contaminações por outros microrganismos. O controle do pH pode ser realizado sob demanda de CO₂, que vai se adequar as necessidades do cultivo, dependendo de variáveis a que está exposto, como luz e temperatura (RODRÍGUEZ-MIRANDA et al., 2020). A taxa de injeção do gás deve ser suficiente para manter o pH controlado, mas não elevada ao ponto de ser perdido para a atmosfera (LE GOUIC et al., 2021).

Mesmo tecnologias já consolidadas, como o cultivo microalgal para mitigação do CO₂, ainda apresentam lacunas que permitem a otimização do processo. Dessa forma, o objetivo desse estudo foi avaliar a biofixação de CO₂ e produção de biomassa em cultivos das microalgas *Spirulina* sp. LEB 18 e *Scenedesmus almeriensis*, em diferentes reatores, sistemas de cultivo e condições ambientais.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

O objetivo desse estudo foi avaliar como a adição de nanofibras adsorventes no cultivo da microalga *Spirulina* sp. LEB 18 em reatores tubulares em escala laboratorial, e, a injeção de CO₂ sob demanda do pH em cultivos de *Scenedesmus almeriensis* em reatores *raceway* e *thin-layer* em escala piloto, alteram a transferência de CO₂ no meio, a biofixação de CO₂ e a produção de biomassa.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Desenvolver nanofibras adsorventes a partir de solução polimérica de poliacrilonitrila (PAN) com o absorvente químico monoetanolamina (MEA) e, avaliar a biofixação de CO₂, o crescimento e composição da biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 cultivada com as nanofibras em fotobiorreator tubular vertical de escala laboratorial (1,8 L);
- Avaliar a transferência de CO₂ e o crescimento da microalga *Scenedesmus almeriensis* em fotobiorreator *raceway* de escala piloto (11850 L), com controle de pH sob demanda de CO₂ operando durante o período diurno;
- Avaliar a transferência de CO₂ e o crescimento da microalga *Scenedesmus almeriensis* em fotobiorreator *raceway* de escala piloto (11850 L), com controle de pH sob demanda de CO₂ operando durante os períodos diurno e noturno;
- Avaliar o melhor local e taxa de injeção do CO₂ em fotobiorreator *thin-layer* de escala piloto (2400 L), para aumentar a transferência de massa em cultivos da microalga *Scenedesmus almeriensis*.

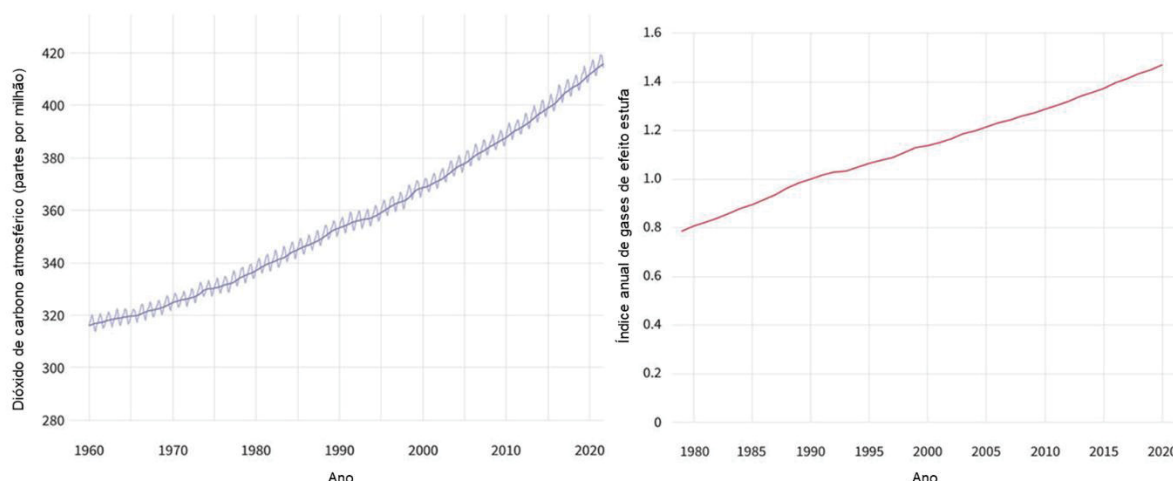
1.2 JUSTIFICATIVA

As emissões de CO₂ tem aumentado excessivamente ao longo dos últimos anos (FIGURA 1A) e o acúmulo de gases de efeito estufa (GEE) na atmosfera se torna um problema cada vez mais grave mundialmente. Os GEE retêm calor na atmosfera, elevando a temperatura terrestre. Em três décadas (1990-2020) o índice dos principais GEE (CO₂, metano, óxido nitroso e clorofluorcarbonetos) aumentou 47% (FIGURA 1B) (NOAA, 2022). A principal fonte de CO₂ são os combustíveis fósseis, porém, pode ser emitido no uso da terra para agricultura e pecuária, desmatamento e indústrias químicas. Em 2019, o CO₂ proveniente de atividade humana foi responsável por cerca de 80% de todas as emissões de GEE dos Estados Unidos (EUA). De 1990 a 2019 as emissões de CO₂ nos EUA aumentaram 3% (EPA, 2022).

A crise mundial natural do Covid-19 trouxe alguns ensinamentos que podem ser aplicados a crise climática global. A pandemia ressaltou a interdependência entre

a humanidade e a biodiversidade e mostrou que ações coletivas podem alterar, ou pelo menos amenizar a situação climática atual. Em poucas semanas depois do início da pandemia e do confinamento em todos os países, a demanda de petróleo e demais combustíveis fósseis caiu, diminuíram as emissões de CO₂ e o ar ficou mais limpo (PERKINS et al., 2021). As emissões globais de CO₂ caíram 5,8% (equivalente a 2 GtCO₂) em 2020 comparado a 2019, devido à redução global da atividade econômica e mobilidade (IEA, 2021). No entanto, é insustentável manter as estratégias utilizadas na pandemia, pois essas levaram a prejuízos na economia mundial e elevadas taxas de desemprego. Dessa forma, a lição que se leva desses últimos dois anos é que a redução pela demanda de petróleo e carvão é necessária e possível desde que se desenvolva novas estratégias (PERKINS et al., 2021).

FIGURA 1- AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO DE DIÓXIDO DE CARBONO EM PARTES POR MILHÃO (ppm) (A) E ÍNDICE ANUAL DE GASES DE EFEITO ESTUFA DE LONGA DURAÇÃO (B).
(A) (B)



FONTE: NOAA (2022)

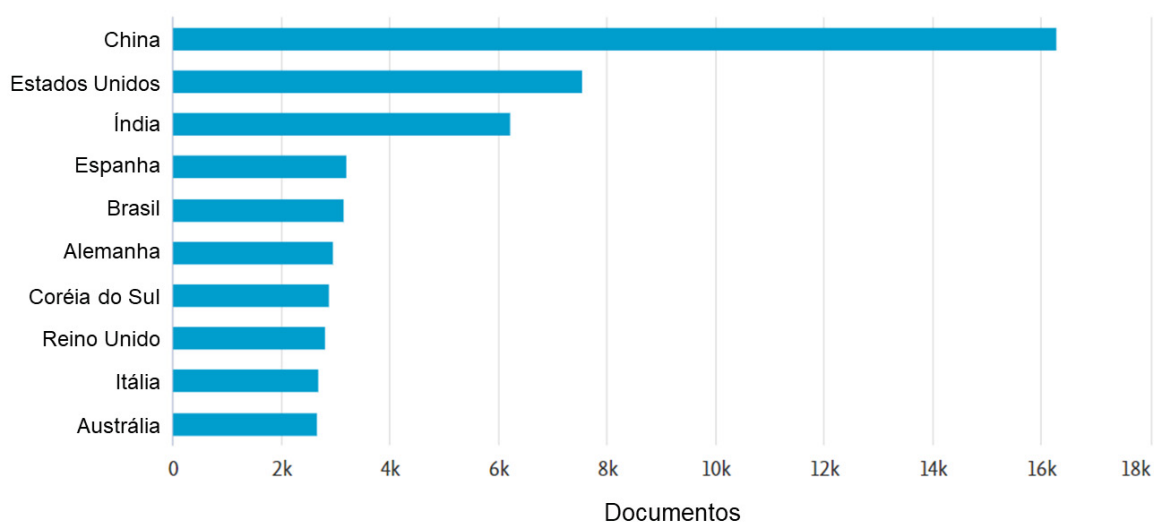
No cenário atual, as formas de reduzir os impactos das emissões de CO₂ estão na substituição total ou parcial dos combustíveis fósseis por energias renováveis e na captura do CO₂ pós-combustão (EPA, 2022). A captura de carbono gera riqueza ao planeta a partir de incentivos econômicos aos mercados existentes, prevenção de desastres ambientais causados por mudanças climáticas e transformação de um resíduo prejudicial (disponível em grande quantidade) em energia renovável ou outros produtos de alto valor (DANESHVAR et al., 2022). Entre os maiores consumidores de energia do mundo, o Brasil emprega a maior parte das energias renováveis, que pode

corresponder até 45% do consumo total de energia em 2023. A União Europeia é estimulada por metas para 2030, implementando políticas nacionais para melhoria da eficiência energética (IEA, 2018). O crescimento da bioenergia é tendência mundial e incentiva muitos projetos.

Diante do exposto, esse trabalho foi desenvolvido com colaborações entre o Programa de Pós-graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia (PPGEBB) da Universidade Federal do Paraná-UFPR, Laboratório de Engenharia Bioquímica (LEB) e Laboratório de Microbiologia e Bioquímica (MiBi), da Universidade Federal do Rio Grande (FURG). Além disso, parte do trabalho foi realizado na *Universidad de Almería*-Espanha, pelo programa de Doutorado Sanduíche do CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico). O LEB-FURG trabalha desde 1996 com cultivos de microalgas e desenvolveu diversos trabalhos e produtos relacionados ao tema. A partir dele houve a criação do MiBi-FURG, que desde 2014 atua com desenvolvimento de nanotecnologia para uso em cultivos microalgais. O PPGEBB é reconhecido pela CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) com conceito 7 pelo nível de excelência e internacionalização, sendo um dos mais bem avaliados no país e referência nacional e internacional quanto aos trabalhos em bioprocessos.

O grupo de *Biotecnologia de Microalgas Marinas* da *Universidad de Almería* é referência mundial em publicações na área de cultivos de microalgas, parceiro de diversas universidades da Europa e de outros lugares do mundo, além de colaborações com empresas do ramo. A *Universidad de Almería* está entre as cinco instituições que mais possuem publicações científicas sobre microalgas no mundo, sendo a Espanha o segundo país com mais publicações científicas por milhão de habitante do mundo (34 publicações científicas por milhão de habitante) (GARRIDO-CARDENAS et al., 2018). Almería é um local particularmente adequado para a produção de microalgas ao ar livre em larga escala, devido à alta irradiância solar e temperaturas elevadas durante grande parte do ano, fácil acesso a água do mar, extensa faixa de terras não-cultiváveis, boa infraestrutura e vasta experiência na agricultura e pesquisa com microalgas (APEL et al., 2017). Brasil e Espanha estão entre os cinco maiores pesquisadores de microalgas do mundo, somando mais de 6000 publicações nos últimos cinco anos (2017-2021) segundo levantamento na base de dados *Scopus* (FIGURA 2).

FIGURA 2- DEZ PAÍSES QUE MAIS PUBLICAM DOCUMENTOS COM O TERMO "MICROALGAE"



FONTE: Scopus (2021)

As parcerias e projetos dessas instituições, relacionadas a produção industrial de microalgas, visam contribuir com alguns dos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) da Organização das Nações Unidas (ONU). Os 17 ODS foram criados durante a Cúpula de Desenvolvimento Sustentável na Assembleia Geral da ONU em 2015, como metas a serem alcançadas até 2030. O tema microalgas, devido a versatilidade e benefícios de aplicação, pode ser incluído especialmente no: ODS 2 (Fome zero e agricultura sustentável), ODS 3 (Saúde e bem-estar), ODS 6 (Água potável e saneamento), ODS 7 (Energia limpa e acessível), ODS 9 (Indústria, inovação e infraestrutura), ODS 11 (Cidades e comunidades sustentáveis), ODS 12 (Consumo e produção responsáveis), ODS 13 (Ação contra a mudança global do clima), ODS 14 (Vida na água), ODS 15 (Vida terrestre), ODS 17 (Parcerias e meio de implementação).

Dessa forma, esse estudo visou responder questões relacionadas a utilização de cultivos microalgais em pequena e grande escala na biofixação de CO₂ e buscar métodos para maximizar os resultados de algumas tecnologias já utilizadas para que possam ser aplicadas em qualquer lugar do mundo.

CAPÍTULO I

2 REVISÃO TEÓRICO EMPÍRICA

2.1 BIOFIXAÇÃO DE CO₂ POR MICROALGAS

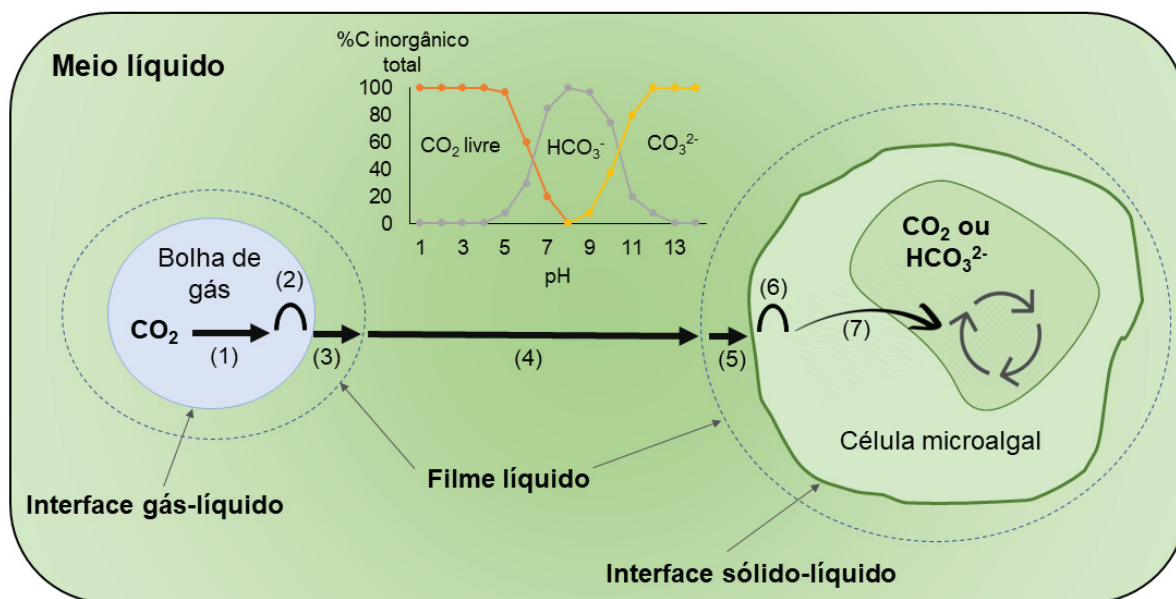
A valorização biológica do CO₂ combina a necessidade de capturar e reduzir as concentrações atmosféricas desse gás e de redução dos custos com nutrientes em processos como a produção de microalgas (LE GOUIC et al., 2021). O CO₂ é uma das principais fontes de carbono utilizadas pelas microalgas que podem convertê-lo diretamente em biomassa, utilizada integral ou parcialmente no desenvolvimento de diversos produtos (YEN et al., 2019).

A biomassa de microalgas é valiosa pois é composta de carboidratos, lipídios e proteínas, com aplicações que variam entre produtos farmacêuticos, fertilizantes, alimentação humana, ração animal e biocombustíveis. A biomassa seca de microalgas contém aproximadamente 50% de carbono molecular. Teoricamente, esses microrganismos fixam 1,8 kg de carbono para cada 1 kg de biomassa seca produzida (ACIÉN et al., 2017a). O CO₂, cujos suprimentos no ambiente aquático provêm principalmente da atmosfera, da respiração e da decomposição, pode apresentar-se sob diferentes formas químicas neste ambiente (PIERINI; MAGELA THOMAZ, 2004). Para ser assimilado pelos microrganismos fotossintéticos, o CO₂ atmosférico precisa ser primeiramente transferido pro meio líquido onde permanece na forma de carbono inorgânico dissolvido (CID) (FIGURA 3). Dependendo do pH da fase líquida, ocorrem reações que dissociam o carbono inorgânico em diferentes espécies químicas (CO₂ dissolvido, bicarbonato HCO₃⁻ e carbonato CO₃²⁻). O CO₂ dissolvido e o HCO₃⁻ podem ser assimilados pelas microalgas (LE GOUIC et al., 2021; TANG et al., 2011).

As proporções das diferentes formas de carbono estão associadas ao pH do meio (FIGURA 3). Valores de pH entre 6 e 9 são atribuídos a presença de bicarbonato (HCO₃⁻), ocorrendo o transporte ativo do CO₂ para dentro da célula microalgal onde ocorre a atuação da enzima anidrase carbônica. Em valores de pH mais baixos, entre 5 e 7, a difusão de CO₂ nas células das algas é mais provável de acontecer, no entanto, não são condições favoráveis para o crescimento desses microrganismos (AYATOLLAHI et al., 2021). Ou seja, se o pH aumenta (como resultado da absorção

do CO_2 pelos organismos fotossintéticos), o equilíbrio move-se para produção de carbonatos. Por outro lado, em valores mais baixos de pH (resultantes de processos de respiração e decomposição) as formas CO_2 e HCO_3^- predominam (PIERINI; MAGELA THOMAZ, 2004).

FIGURA 3- TRANSFERÊNCIA DE CO_2 DA BOLHA DE GÁS PARA A FASE LÍQUIDA E PARA DENTRO DA CÉLULA (AS FORMAS DE CARBONO INORGÂNICO PREDOMINANTES DEPENDEM DO pH DO MEIO)



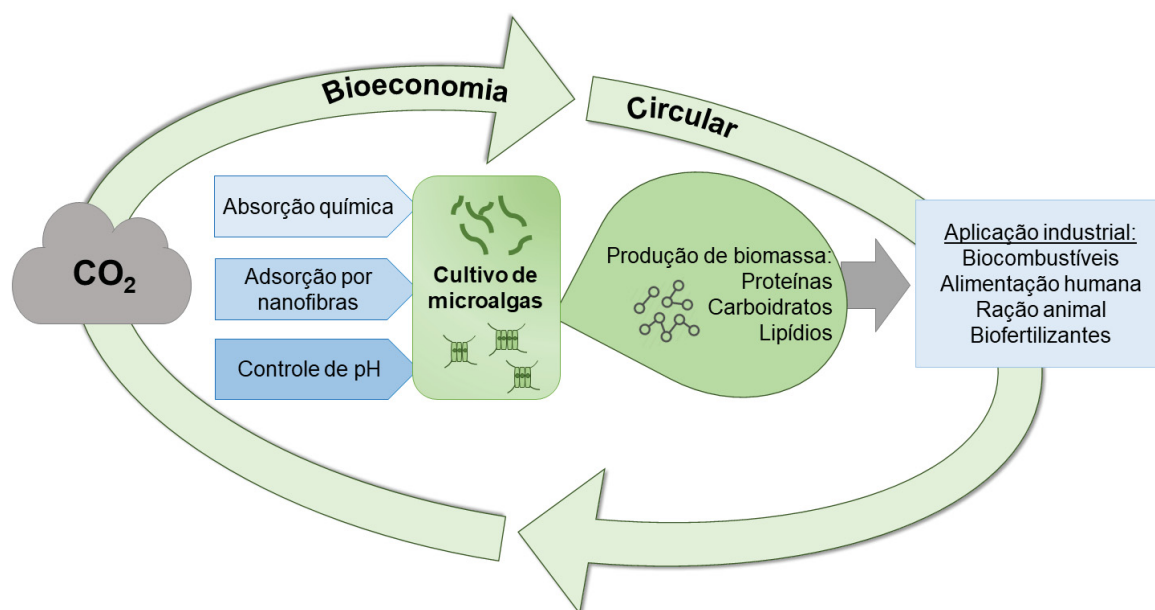
Passos para transferência de CO_2 do gás para a célula. **(1)** Transferência do interior da bolha para a interface gás-líquido. **(2)** Movimento através da interface gás-líquido. **(3)** Difusão através do filme relativamente estagnado ao redor da bolha. **(4)** Transporte através do meio líquido. **(5)** Difusão através do filme relativamente espesso que envolve a microalga. **(6)** Transporte para dentro da microalga. **(7)** Transporte através do citoplasma para o local onde ocorrem as reações de utilização do carbono.

FONTE: Adaptado e modificado de Assis Coelho et al. (2015) e Rodas-Zuluaga et al. (2021)

Diversas espécies de microalgas têm sido estudadas como tolerantes a altas concentrações de CO_2 , além de tolerantes a outros gases de combustão como NO_x e SO_x . A aplicação nesse campo é de crescente interesse pois muitas espécies apresentam resistência aos gases tóxicos. *Chlorella* sp., *Synechococcus* sp. (TAŞTAN et al., 2012), *Chlorella fusca*, *Spirulina* sp. (DUARTE et al., 2017), *Scenedesmus* sp. (SANTOS et al., 2016) e *Scenedesmus actus* (SINGH CHAUHAN et al., 2022) são alguns exemplos. Alguns parâmetros como concentração de CO_2 injetada, taxa específica de injeção e tempo de injeção do gás também são estudadas a fim de aumentar a transferência de massa do gás para o meio líquido e obter-se melhores taxas de biofixação, além de produzir biomassa rica em compostos (SANTOS et al.,

2016; MORAES et al., 2019). Dessa forma, os cultivos microalgais se baseiam no modelo de bioeconomia circular, que tem por objetivos a produção sustentável, utilização de fontes renováveis e conversão em produtos de alto valor agregado (MORAIS, E. G. et al., 2019; MOREIRA et al., 2021) (FIGURA 4). Esse conceito visa valorizar os fluxos secundários do processo de produção de um produto, obtendo-se zero produção de resíduos, que é também a base do conceito de biorrefinaria (DANESHVAR et al., 2022).

FIGURA 4- BIOECONOMIA CIRCULAR: UTILIZAÇÃO EFICIENTE DE CO₂ PARA DESENVOLVIMENTO DE BIOPRODUTOS A PARTIR DA BIOMASSA MICROALGAL



FONTE: O Autor (2022)

2.1.1 Microalgas

Entre as espécies de microalgas mais estudadas em processos de biofixação de CO₂ estão: *Chlorella vulgaris* (CHANG et al., 2016), *Scenedesmus obliquus*, *Chlorella pyrenoidosa* (TANG et al., 2011), *Chlorella fusca* (COMITRE et al., 2021), *Spirulina sp.* (CARDIAS et al., 2018), *Tetraselmis sp.* (WIDAYAT et al., 2021) e *Nannochloropsis gaditana* (MORAES et al., 2019). Cada espécie responde diferente as condições de cultivo a que está exposta. Muitas vezes apresentam elevada produtividade de biomassa, porém baixa biofixação de CO₂, devido ao tipo de fotobiorreator (FBRT), por exemplo (TABELA 1).

TABELA 1- SISTEMAS DE CULTIVO PARA DIFERENTES ESPÉCIES DE MICROALGAS E RESPOSTAS DO CULTIVO

Microalga	Sistema/ reator	Condições de cultivo	Respostas do cultivo*	Referência
<i>Chlorella vulgaris</i> FACHB-31	Indoor/ FBRT de placa plana de 1,8 L	Meio BG-11	$X_{\max}$ 2,3 g L ⁻¹ TB 4,4 gCO ₂ L ⁻¹	Chang et al. (2016)
<i>Chlorella fusca</i> LEB 111	Indoor/ FBRT tubular vertical 1,8 L	Meio BG 11, nanofibras adsorventes, injeção de 15% v v ⁻¹ de CO ₂	X_{final} 2,5 g L ⁻¹ P_{final} 0,08 g L ⁻¹ d ⁻¹ TB 0,14 gCO ₂ L ⁻¹ d ⁻¹	Comitre et al. (2021)
<i>Chlorella pyrenoidosa</i> SJTU-2	Indoor/ FBRT erlenmeyer 1 L	Meio BG-11 com injeção de 10% de CO ₂	$X_{\max}$ 1,55 g L ⁻¹ $P_{\max}$ 0,144 g L ⁻¹ d ⁻¹ TB $_{\max}$ 0,26 gCO ₂ L ⁻¹ d ⁻¹	Tang et al. (2011)
<i>Scenedesmus obliquus</i> SJTU-3	Indoor/ FBRT erlenmeyer 1 L	Meio BG-11 com injeção de 10% de CO ₂	$X_{\max}$ 1,84 g L ⁻¹ $P_{\max}$ 0,155 g L ⁻¹ d ⁻¹ TB $_{\max}$ 0,29 gCO ₂ L ⁻¹ d ⁻¹	Tang et al. (2011)
<i>Spirulina</i> sp. LEB 18	Indoor/ FBRT tubular vertical 1,8 L	Meio Zarrouk, com 1.64 mmol L ⁻¹ de dietanolamina + 0.41 mmol L ⁻¹ de K ₂ CO ₃ , injeção de 0,36 mLCO ₂ mL _{meio} ⁻¹ d ⁻¹	$X_{\max}$ 2,10 g L ⁻¹ $P_{\max}$ 0,174 g L ⁻¹ d ⁻¹ TB $_{\max}$ 0,32 gCO ₂ L ⁻¹ d ⁻¹ Eco ₂ 43,7% m m ⁻¹	Cardias et al. (2018)
<i>Nannochloropsis gaditana</i>	Outdoor/ FBRT tubular horizontal 3,0 m ³	Meio de água do mar artificial, injeção de 1,9 mLCO ₂ L ⁻¹ min ⁻¹	P 0,24 g L ⁻¹ d ⁻¹ Eco ₂ 67% m m ⁻¹	Moraes et al. (2019)
<i>Scenedesmus</i> sp.	Outdoor/ FBRT raceway 100 m ²	Meio Arnon, injeção de 10% de CO ₂ e taxa de 100 L min ⁻¹	P 8 g m ² d ⁻¹ TB 1,8 gCO ₂ m ⁻² d ⁻¹	Santos et al. (2016)
<i>Microchloropsis salina</i> (SAG 40.85)	Indoor/ FBRT thin-layer 8 m ²	Meio de água do mar artificial modificado (concentração de nutrientes 3x maior), injeção de 5% v v ⁻¹ de CO ₂ a 120 L h ⁻¹	X 15,4 g L ⁻¹ Eco ₂ 43% m m ⁻¹	Schädler et al. (2019)

*Concentração de biomassa (X), produtividade de biomassa (P), taxa de biofixação de CO₂ (TB), eficiência de fixação do CO₂ (Eco₂).

Spirulina pode crescer em concentrações de CO₂ de até 35% v v⁻¹, mas a produtividade de biomassa geralmente é maior em concentrações até 10% v v⁻¹. Em altas concentrações de CO₂ pode observar-se decréscimo nos valores de taxa específica de crescimento por alteração nas características fotossintéticas do microrganismo (ALMOMANI et al., 2019; GONÇALVES et al., 2016). O aumento da injeção de CO₂ de 0 para 10% aumenta a taxa de biofixação de CO₂ de 0,062 para 0,378 g L⁻¹ d⁻¹ (ALMOMANI et al., 2019). O metabolismo dessa espécie mostra-se flexível, uma vez que apresenta resultados similares de taxa de biofixação de CO₂ em diferentes condições de cultivo (MORAIS; COSTA, 2007a; SYDNEY et al., 2010). A habilidade de *Spirulina* crescer em faixas de temperatura de 20 a 38 °C mostra a tolerância da cepa a alterações ambientais e facilita sua aplicação industrial (DUARTE et al., 2017).

A cepa de *Spirulina* sp. LEB 18 (FIGURA 5A) foi isolada na Lagoa Mangueira, próxima a Usina Termelétrica Presidente Médici-UTPM, no estado do Rio Grande do Sul (Brasil). A amostra de água de onde foi isolada a microalga apresentava temperatura próxima a 50 °C e altas concentrações de CO₂, visto a proximidade da Lagoa Mangueira com a usina termelétrica (MORAIS; COSTA, 2007a). *Spirulina* sp. LEB 18 pode crescer em meios com gás de combustão e resíduos de carvão (VAZ et al., 2016), com até 18% de CO₂ puro (MORAIS; COSTA, 2008). O alto valor do pH do meio de cultura de *Spirulina* (10-10,4) favorece a disponibilidade do HCO₃⁻ formado a partir do CO₂, quando comparado a outras culturas, como por exemplo, *Chlorella*, que tende a crescer melhor em pH mais baixo (8,4-9,4) (VAZ et al., 2016).

FIGURA 5- MICROGRAFIA DAS MICROALGAS *Spirulina* sp. LEB 18 SOB AUMENTO DE 400X (A) E *Scenedesmus almeriensis* SOB AUMENTO DE 100X (B)



Fonte: (A) Laboratório de Engenharia Bioquímica (2018) e (B) O Autor (2020)

Scenedesmus tem potencial para aplicação industrial na redução de CO₂ de gases de combustão de usinas termelétricas devido a sua alta tolerância ao gás (MORAIS; COSTA, 2007b), pois cresce em concentrações de até 50% v v⁻¹. Porém a redução do pH do meio, devido a altos níveis de CO₂, pode reduzir a atividade da anidrase carbônica e inibir o crescimento celular (TANG et al., 2011). *Scenedesmus* pode ser produzida *outdoor* em reatores abertos com nutrientes provenientes apenas de águas residuais, mostrando-se muito robusta (MORALES-AMARAL et al., 2015). Essa espécie tem habilidade de crescer e acumular altos níveis de triacilgliceróis dependendo das condições de cultivo, podendo ser aplicada, por exemplo, na produção de biodiesel (TRIVEDI et al., 2022).

Scenedesmus almeriensis (FIGURA 5B) é uma cepa de crescimento rápido e altamente produtiva. Foi isolada e está naturalmente presente em Almería, adaptada às condições climáticas dessa região localizada na costa sul da Espanha continental, sendo um microrganismo mesófilo com temperatura ótima de 35 °C, podendo suportar até 48 °C. O pH 8 é ótimo para seu crescimento e apresenta bom desempenho em elevada irradiância (1625 µE m⁻² s⁻¹) (COSTACHE et al., 2013; MORILLAS-ESPAÑA et al., 2020; SÁNCHEZ et al., 2008b). Além da alta tolerância a condições de elevada temperatura e iluminância, essa cepa tem potencial em processos de biorremediação (CIARDI et al., 2022) atuando por exemplo, no tratamento de águas residuais suínas integrado a produção sustentável de fonte proteica para aquacultura (TOMÁS-ALMENAR et al., 2018).

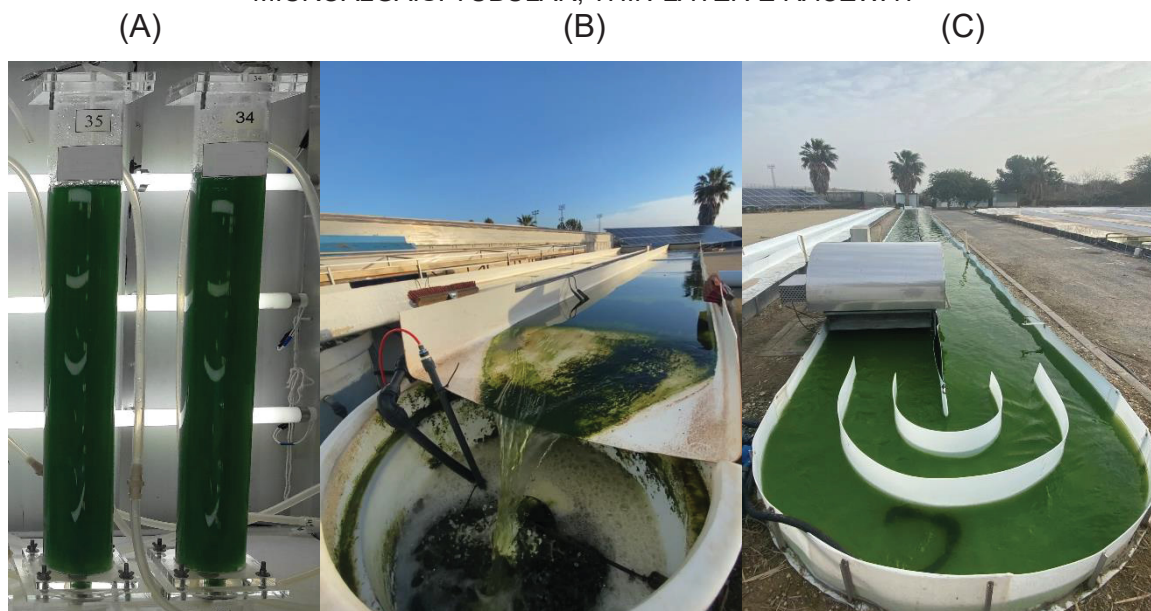
Cada cepa tem condições ótimas e específicas que devem ser determinadas para aumentar sua produtividade e projetar um fotobiorreator e um sistema de cultivo apropriado para sua produção. A avaliação dessas condições pode ocorrer em curto prazo ou em longos períodos, que pode demonstrar com clareza a influência das alterações diárias das condições no desempenho do microrganismo (COSTACHE et al., 2013).

2.1.2 Sistemas de cultivo

O aumento de escala de fotobiorreatores pode ser realizado aumentando as medidas do reator (comprimento, diâmetro, altura) ou até mesmo o número de unidades e formato do sistema. O que se torna um desafio é manter a luz, temperatura, mistura e transferência de massa ideais em grandes volumes de cultivo

(RODAS-ZULUAGA et al., 2021). O volume de cultivo parece influenciar na produtividade de biomassa. Rodas-Zuluaga et al. (2021) estudaram o crescimento de *Porphyridium purpureum* UTEX LB275 em diferentes volumes de cultura (16, 80 e 400 L) em fotobiorreatores de sacos de polietileno (40 cm de largura e 200 cm de comprimento). Constatou-se que a maior concentração de biomassa ($1,25 \text{ g L}^{-1}$) foi obtida nos cultivos de tamanho intermediário (80 L), mas a maior taxa de crescimento específica ($0,20 \text{ d}^{-1}$) ocorreu no cultivo de 16 L. Além dos tamanhos, os formatos de fotobiorreatores podem ser variados (FIGURA 6).

FIGURA 6- TRÊS CONFIGURAÇÕES DE FOTOBIORREATOR UTILIZADOS NOS CULTIVOS MICROALGAIS: TUBULAR, *THIN-LAYER* E *RACEWAY*



FONTE: O Autor (2021)

Os reatores tubulares (FIGURA 6A) são o tipo de reator fechado mais utilizados em escala industrial e a cultura é recirculada por bomba ou aeração. A relação adequada entre comprimento e diâmetro evita o acúmulo de O_2 e reduz as perdas de CO_2 para a atmosfera. O diâmetro ainda deve permitir que a luz penetre no cultivo, evitando sombreamento, que também pode ocorrer pela aderência das células na parede do fotobiorreator. Apesar dos custos relativamente mais altos de construção comparados aos reatores abertos, os reatores fechados facilitam a manutenção de monoculturas e o controle das condições de cultivo (ACIÉN et al., 2017a; 2017b). Nesse tipo de reator, a qualidade da biomassa torna-se mais importante que o volume de produção (RODRÍGUEZ-MIRANDA et al., 2020). A pureza da biomassa em

reatores fechados a torna aplicável em produtos de alto valor agregado como produtos farmacêuticos (CORRÊA DA SILVA et al., 2020; SANTOS et al., 2020; SOZMEN et al., 2018) e alimentícios (ALMEIDA et al., 2020; LUCAS et al., 2020; VEIGA et al., 2020).

Ao nível de grande escala, geralmente são utilizados reatores abertos do tipo *thin-layer* (FIGURA 6B) ou *raceway* (FIGURA 6C) pela facilidade de construção e limpeza, além de material mais barato, comparados aos tubulares. Por esses motivos, para *commodities* de baixo valor, como os biocombustíveis, é economicamente mais viável a utilização de fotobiorreatores abertos (APEL; WEUSTER-BOTZ, 2015). A produtividade em sistemas abertos geralmente é baixa ($1,0 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$) devido à dificuldade de mistura e perdas de CO_2 (MASOJÍDEK et al., 2015). No entanto, algumas modificações nos reatores podem evitar a redução de biomassa.

Os reatores *thin-layer* se caracterizam pela baixa profundidade da cultura (0,5 a 5 cm) que recircula por uma superfície plana com inclinação de 0,1 a 2% (ACIÉN et al., 2017b; MORILLAS-ESPAÑA et al., 2020). A fina camada de cultivo maximiza a utilização da luz, resultando em reatores com uma das maiores produtividades por área ($30\text{-}50 \text{ g m}^{-2}$) (SÁNCHEZ-ZURANO et al., 2020). No entanto, esses reatores tem algumas desvantagens como gradientes de pH e temperatura, além de acúmulo de oxigênio e baixa transferência de massa (BARCELÓ-VILLALOBOS et al., 2019).

Os primeiros reatores *raceway* foram reportados a mais de 50 anos atrás e são muito conhecidos e estudados. A grande vantagem desse tipo de reator é o elevado volume de produção em uma menor área ocupada, quando comparado a outros reatores. Além disso, sua geometria facilita a construção, e uma vez definida a superfície total, é dividido em canais por onde recircula o cultivo. Porém, os *raceway* apresentam baixa eficiência de utilização da luz dependendo da profundidade do cultivo, o que reduz a produtividade. Além de muitas vezes apresentarem baixa transferência de massa gás-líquido se não forem bem projetados (ACIÉN et al., 2017a).

Nos sistemas *indoor* (interno), temperatura e iluminância são variáveis geralmente controladas e mantidas em valores ótimos para a cultura. O pH sofre pouca variação nesse sistema de cultivo pois, em geral, as taxas fotossintéticas são menores e há menor consumo de CO_2 e nutrientes, comparado ao sistema *outdoor* (externo) (PÉREZ-LÓPEZ et al., 2017). A possibilidade de manter as condições ideais de cultivo faz com que no sistema *indoor* seja obtida elevada produtividade de

biomassa (MASOJÍDEK et al., 2015). As condições ainda podem ser moduladas para a produção de biomoléculas de interesse, como acúmulo de polihidroxibutirato (PHB) em *Chlorella fusca* pela redução da fase clara de 12 h para 6 h (CASSURIAGA et al., 2018). Ou ainda, acúmulo de compostos com atividade anti-inflamatória em *Chlorella miniata* em diferentes temperaturas e intensidade luminosa (SOZMEN et al., 2018).

Nos sistemas de cultivos *outdoor* a iluminação e temperatura variam de acordo com as mudanças climáticas de cada estação do ano. Ainda, em dias de muito sol, pode ocorrer maior evaporação de cultivo, ou, em dias chuvosos, ocorre diluição do meio e aumento de volume nos reatores abertos. A iluminação é a principal responsável pela excitação dos pigmentos durante a fotossíntese, que afeta diretamente o crescimento da microalga. A luz natural tem a vantagem da redução dos custos do processo e redução da queima de combustíveis fósseis para gerar energia (DUARTE et al., 2017). Cultivos *outdoor* podem apresentar tempo de duplicação celular até metade do valor que de cultivos *indoor*, devido a temperatura mais alta que aumenta a taxa fotossintética (PÉREZ-LÓPEZ et al., 2017). Os principais problemas na maioria dos sistemas de cultivo com reatores abertos *outdoor* são contaminação, mistura desigual, baixa concentração de biomassa, baixa eficiência de utilização de CO₂ e forte influência do clima no cultivo (APEL; WEUSTER-BOTZ, 2015).

Basicamente, dois regimes são utilizados para o cultivo de microalgas: batelada ou semi-contínuo. O regime em batelada (ou descontínuo) é mais simples, pois a microalga é inoculada com os nutrientes necessários e só é retirada no final do processo, determinado pela concentração celular, fase estacionária, ou tempo específico de cultivo. No regime semi-contínuo, a microalga é inoculada com os nutrientes e é colhida em intervalos regulares, que podem ser definidos por tempo ou de acordo com a taxa de crescimento, sendo adicionado meio de cultivo fresco para repor o volume retirado (MASOJÍDEK et al., 2015). Em geral, o cultivo semi-contínuo tem maior produtividade de biomassa em comparação com o cultivo em batelada (PETER et al., 2022).

Independente do regime, sistema ou fotobiorreator utilizado, a busca por estratégias que aumentem a transferência de massa do CO₂ para o meio líquido é constante. Adaptações e variáveis do cultivo são avaliadas a fim de otimizar e aumentar a produtividade de biomassa e a biofixação de CO₂. O custo de produção é diretamente dependente dessas respostas e impulsiona as pesquisas nessa área.

2.2 ESTRATÉGIAS UTILIZADAS PARA O AUMENTO DA BIOFIXAÇÃO DE CO₂

2.2.1 Fatores bióticos e abióticos

A concentração de biomassa, o rendimento diário e a fixação de carbono são influenciados pelas variáveis físico-químicas atreladas ao cultivo, como: concentração de oxigênio produzido na fotorrespiração, variação do pH pelo consumo de CO₂, temperatura e irradiância devido as condições climáticas e sazonais (JIMÉNEZ et al., 2003; MORALES et al., 2018). As flutuações nas condições ambientais diariamente e ao longo do ano podem causar estresse celular e promover adaptação em diversas características do sistema biológico das microalgas (GARCÍA-MAÑAS et al., 2019; JEBALI et al., 2018).

Irradiância, ciclo de luz e temperatura geralmente são mantidas constantes em cultivos *indoor*. No entanto, as condições ambientais exercem forte influência em sistemas *outdoor*, devido ao clima e localização. Algumas microalgas são capazes de adaptar-se as variações nas condições ambientais, e, alguns produtores utilizam cepas de verão e cepas de inverno, para manter a produção o ano todo. Locais com luz solar abundante e pouca chuva são particularmente interessantes para o cultivo microalgal (APEL; WEUSTER-BOTZ, 2015). A luz é um dos fatores que mais influencia a produtividade de biomassa, visto que em meses com elevada radiação solar ocorre, em geral, maior produtividade de biomassa. No entanto, a produtividade parece não estar relacionada com a eficiência fotossintética, já que esta pode reduzir em meses com radiação solar muito alta devido a fotoinibição (MORILLAS-ESPAÑA et al., 2020).

A temperatura adequada do cultivo promove crescimento microalgal. Elevadas temperaturas podem reduzir a produção de biomassa devido a desnaturação de proteínas/enzimas e efeitos inibitórios sobre a fisiologia da célula. As variações diárias e sazonais na temperatura também afetam a saúde celular (YEN et al., 2019). Durante o dia, a temperatura da cultura aumenta porque a entrada de energia é maior do que a saída, que resulta principalmente da evaporação (BARCELÓ-VILLALOBOS et al., 2019b). Durante a noite, os cultivos podem sofrer resfriamento, criando gradientes de temperatura que podem estressar as células (APEL; WEUSTER-BOTZ, 2015).

O acúmulo de oxigênio produzido pela fotossíntese, devido à baixa capacidade de dessorção do reator, reduz o desempenho da cultura e a solubilidade do CO₂ (BARCELÓ-VILLALOBOS et al., 2019b). A concentração de oxigênio dissolvido acima de 30 mg L⁻¹ decresce até 15% o rendimento da fluorescência da clorofila em cultivos de *Spirulina* (JIMÉNEZ et al., 2003). Uma remoção insuficiente de O₂ do cultivo, muitas vezes relacionada ao design do reator, pode levar a redução da produtividade de biomassa (MORILLAS-ESPAÑA et al., 2020).

A manutenção do pH ideal para a espécie microalgal é de extrema importância, pois evita a contaminação por outras culturas, facilita a difusão de nutrientes para dentro da célula e a utilização do CO₂. A produção de biomassa microalgal provoca variação no pH do meio de cultivo. Tal variação ocorre devido à solubilização e consumo de CO₂ e outros substratos e a produção de metabólitos (ACIÉN et al., 1999; APEL; WEUSTER-BOTZ, 2015; MORAIS; COSTA, 2007b). O fornecimento de carbono é amplamente utilizado para controlar e manter o pH próximo ao valor ideal, que é importante para garantir condições ótimas de operação dentro do reator (BARCELÓ-VILLALOBOS et al., 2019b). Tradicionalmente o pH é controlado nos reatores de microalgas apenas durante a fase clara, quando ocorre a fotossíntese. Dessa forma, o pH pode variar significativamente durante a noite, prejudicando as microalgas. Essa variação pode levar a perdas de produtividade e maior necessidade de CO₂ para manter a variável no seu valor ótimo ao longo do dia. Dessa forma, o controle pode ser otimizado para reduzir os custos de produção de biomassa, aproveitando melhor o CO₂ (RODRÍGUEZ-MIRANDA et al., 2019).

O coeficiente de difusão do CO₂ na água é cerca de 10⁴ vezes menor que no ar, devido a maior viscosidade do líquido. Dessa forma, na injeção do gás no meio, a transferência de massa deve ser levada em conta para que não falte carbono para o crescimento da microalga (LE GOUIC et al., 2021). Além disso, as perdas de gás, que dependem do *design* do reator e condições ambientais do cultivo, devem ser consideradas. Até 4,4 kg de CO₂ kg⁻¹ de biomassa podem ser necessários em cultivos de *Chlorella* sp. em reator *thin-layer* de 55 m². Mesmo com o aumento da taxa de injeção do gás, pode ocorrer a redução do grau de mitigação dependendo da configuração de biorreator (DOUCHA et al., 2005) que influencia no tempo de retenção do gás (AYATOLLAHI et al., 2021).

As microalgas podem crescer em diferentes taxas de injeção de CO₂, que vai influenciar significativamente as respostas de crescimento. A maior taxa de

crescimento em concentrações mais elevadas de CO₂ pode estar relacionada com a maior disponibilidade de carbono no meio. Além disso, Rubisco e anidrase-carbônica, enzimas responsáveis pelo metabolismo do carbono, são influenciadas pela abundância de CO₂ (ANJOS et al., 2013; YANG; GAO et al., 2003) até determinado nível para não reduzir demais o pH e inibir o crescimento celular (TANG et al., 2011). A forma de injeção do gás no cultivo é de grande importância para se obter a transferência adequada para a célula. Os métodos de fluxo e mistura nos fotobiorreatores, tanto com agitação mecânica quanto aeração de gases são importantes nesse sentido. Isso inclui a taxa de aeração e tamanho de bolhas dos gases (MORAES et al., 2019; ZHAO; SU, 2014), além da injeção conjunta ou separada de CO₂ e ar.

Ferramentas de modelagem e simulação, podem ser utilizadas nos projetos de biorreatores novos ou já existentes, a fim de superar as barreiras que as flutuações nas variáveis dos cultivos podem gerar. Modelos são baseados em balanços de massa e fenômenos de transporte, além de equações que simulam como as variáveis ambientais atuam nos fenômenos biológicos dentro da célula. Modelos baseados em princípios fundamentais podem ser aplicados a diferentes fotobiorreatores para prever as respostas do cultivo e aumentar sua aplicabilidade (FERNÁNDEZ et al., 2012). Existem modelos que preveem a influência da luz, temperatura, oxigênio dissolvido, pH, entre outras variáveis, no crescimento microalgal ou consumo de carbono. Em geral, os modelos existentes consideram a influência individual das variáveis na resposta do cultivo. No entanto, o efeito sinérgico entre os principais fatores que influenciam o crescimento e biofixação de carbono podem tornar o modelo mais abrangente e aplicável (CHANG et al., 2016). Dessa forma, essa ferramenta pode auxiliar na determinação da capacidade de transferência de massa e desempenho geral dos fotobiorreatores, para a ampliação de escala (BARCELÓ-VILLALOBOS et al., 2018). O desenvolvimento e aplicação de modelos matemáticos, baseados em dados reais do cultivo, pode ser uma ferramenta que demonstre antecipadamente respostas de crescimento e utilização do carbono pelas microalgas.

2.2.2 Tecnologias de fixação do CO₂ que podem ser associados ao cultivo microalgal

2.2.2.1 Adsorção por nanofibras

Os nanomateriais como materiais adsorventes de CO₂ têm sido desenvolvidos com o intuito de auxiliar as tecnologias que buscam aliviar as alterações climáticas e concentração atmosférica de GEE. Os gases apresentam diferentes tamanhos moleculares e são adsorvidos nos poros da nanoestrutura. Várias estruturas e morfologias de nanomateriais são estudadas para aplicação na adsorção de gases, incluindo nanopartículas, nanoesferas e, em destaque, as nanofibras (LU et al., 2021).

Um dos métodos mais econômicos de síntese das nanofibras é pela técnica de *electrospinning* (KOLY et al., 2020). No *electrospinning* as nanofibras são extrusadas de uma solução polimérica pela influência de um campo elétrico produzido no equipamento. Essa técnica permite alterar as características físicas e químicas das nanofibras a partir das condições do equipamento ou da solução polimérica, aumentando a eficiência de produção e tornando o processo versátil e estável (KIM et al., 2017; WANG et al., 2014).

O polímero poliacrilonitrila (PAN) apresenta uma matriz composta de grupos funcionais nitrogenados ideal para a adsorção de CO₂. Mais de 90% das fibras de carbono produzidas no mundo são obtidas do PAN. No equipamento, parâmetros como potencial elétrico, diâmetro do capilar, taxa de alimentação da solução e distância entre capilar e coletor são ajustados a fim de conseguir fibras com diâmetro menor que 1000 nm, homogêneas e alongadas (KIRECCI et al., 2011; MORAIS et al., 2021; GU et al., 2008).

As nanofibras podem ser modificadas a fim de induzir propriedades para aplicações específicas (CHAÚQUE et al., 2016), como aumentar a interação com o CO₂ e a eficiência de adsorção. A adição de etanolaminas na solução pode ser realizada com esse objetivo. As nanofibras modificadas com etanolaminas, além do mecanismo físico de captura do gás nos poros, contam com o mecanismo químico onde o CO₂ forma ligações fortes com os grupos amina (LU et al., 2021).

As nanofibras podem ser adicionadas no cultivo microalgal para aumentar a biofixação de CO₂. Esse nanomaterial pode ser reutilizado em até 3 ciclos de adsorção de CO₂, mantendo eficiência acima de 80% (VAZ et al., 2019a), podendo reduzir os

custos de aplicação e reduzir a produção de resíduos. A literatura não apresenta nenhum trabalho sobre cultivos microalgais com adição de nanofibras de PAN produzidas com MEA para biofixação de CO₂.

2.2.2.2 Absorção química

Os solventes químicos mais utilizados na captura de carbono são as aminas. Existem vários tipos de aminas como monoetanolamina (MEA), dietanolamina (DEA) e metildietanolamina (MDEA), que se diferenciam pela cinética de reação com o CO₂, capacidade de absorção e equilíbrio, estabilidade e poder de corrosão. MEA é uma amina simples e com cinética de reação rápida. Por sua elevada eficiência de absorção (>90%), foi o primeiro solvente a base de amina aplicado em usinas termelétricas, de petróleo, gás natural e produtos químicos, e é uma das tecnologias de captura de CO₂ pós-combustão mais consolidadas (DANESHVAR et al., 2022; MUKHTAR et al., 2020; MUMFORD et al., 2015). No entanto, uma desvantagem da absorção por aminas é a elevada energia necessária para a regeneração do solvente e os problemas de corrosão nos equipamentos (DANESHVAR et al., 2022).

Dessa forma, a tecnologia de absorção pode ser combinada com outras a fim de alcançar maior desempenho e reduzir os desafios causados pelos solventes químicos. Estudos demonstraram efeitos positivos na biofixação de CO₂, além de incremento em biomoléculas como carboidratos e lipídios, em cultivos de *Chlorella fusca* LEB 111 com adição de MEA (ROSA et al., 2018). Em cultivos de *Spirulina* sp. LEB 18, além da adição de MEA (ROSA et al., 2015), foi estudada a adição da mistura de DEA com carbonato de potássio (CARDIAS et al., 2018).

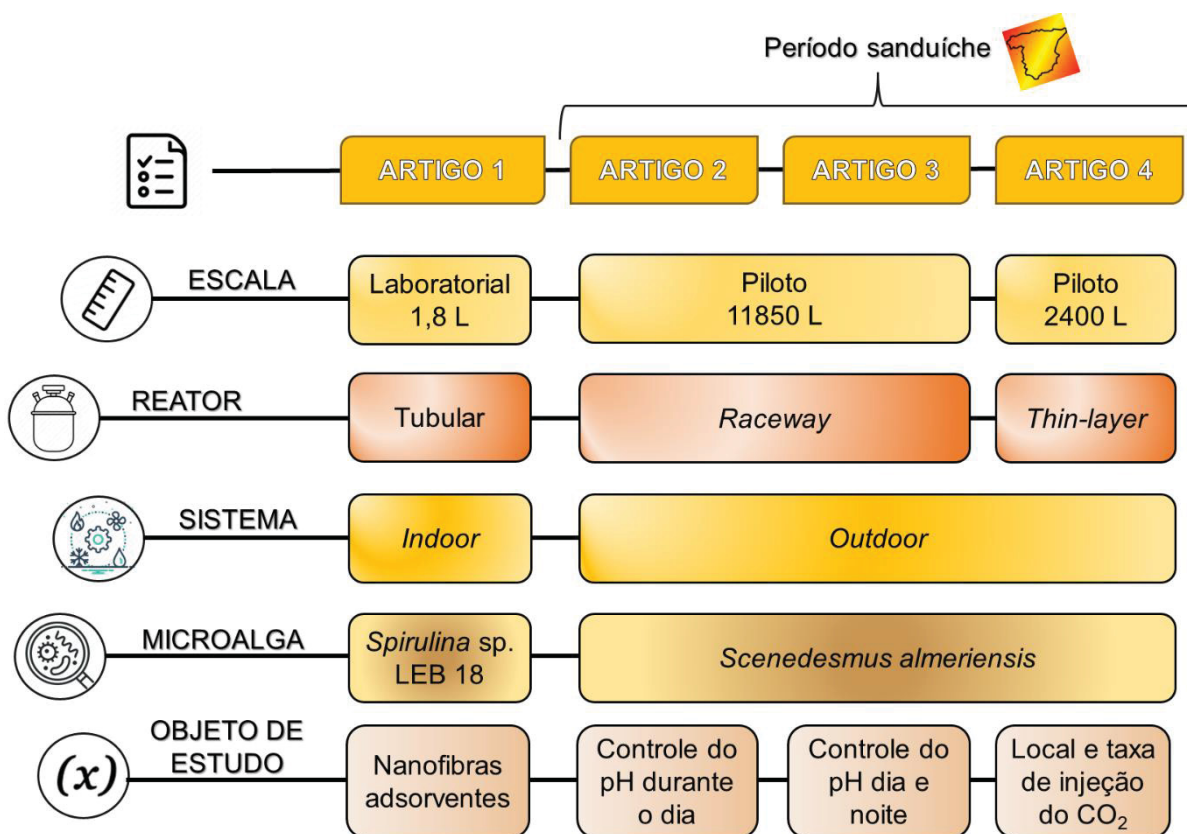
Algumas tecnologias de entrega do CO₂ ao cultivo microalgal através de membranas, após o gás estar dessorvido no absorvente químico, tem mostrado respostas de aumento na produtividade volumétrica e na concentração da biomassa microalgal. Essa configuração de sistema mostra redução na perda de carbono para a atmosfera (ZHENG et al., 2016), no entanto, ainda existem várias operações unitárias até o CO₂ ser entregue ao cultivo. Porém, vale ressaltar que essa combinação de sistemas químico, físico e biológico é interessante no intuito de agregar os efeitos positivos de cada tecnologia de fixação do carbono e aumentar os resultados de mitigação de CO₂.

3 ESTRUTURA DO ESTUDO

Baseado nos conceitos abordados na revisão bibliográfica, o presente estudo foi dividido em quatro artigos, como mostra a FIGURA 7, intitulados:

- **Artigo 1:** Incremento da produtividade de biomassa e biomoléculas de *Spirulina* sp. LEB 18 cultivada com nanofibras adsorventes de CO₂;
- **Artigo 2:** Análise global da demanda e utilização de CO₂ em cultivos de microalgas em reator *raceway* em escala piloto;
- **Artigo 3:** Controle de pH do cultivo de microalgas por injeção de CO₂ nos períodos diurno e noturno;
- **Artigo 4:** Controle da entrada de CO₂ em reator *thin-layer* para aumentar a transferência de gás em cultivos de microalgas.

FIGURA 7. ORGANIZAÇÃO DOS ARTIGOS QUE COMPÕEM A TESE



CAPÍTULO II

ARTIGO I: INCREMENTO DA PRODUTIVIDADE DE BIOMASSA E BIOMOLÉCULAS DE *Spirulina* sp. LEB 18 CULTIVADA COM NANOFIBRAS ADSORVENTES DE CO₂

RESUMO

A remediação de CO₂ é um trabalho urgente e desafiador para aliviar as mudanças climáticas globais. As microalgas são capazes de converter eficientemente CO₂ em biomassa com potencial para desenvolver bioprodutos como os biocombustíveis. Devido à sua estrutura porosa e alta área superficial, as nanofibras podem ser adicionadas aos cultivos de microalgas para maximizar a captura de CO₂. O desempenho das nanofibras adsorventes pode ser alterado com a adição de compostos que alteram suas características físicas ou químicas. A monoetanolamina (MEA), utilizada industrialmente como absorvente químico de CO₂ pode ser adicionada à solução polimérica para produção das nanofibras. Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi comparar a biofixação de CO₂, produtividade e composição da biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 cultivada sem e com nanofibras de poliacrilonitrila com até 3% v v⁻¹ de adição de MEA. Nanofibras uniformes com diâmetro médio de 768 nm foram desenvolvidas com até 1% de MEA. Concentrações maiores do absorvente químico formaram nanofibras irregulares ou ainda impossibilitaram a dissolução do polímero. As maiores taxas de biofixação de CO₂ e concentração de biomassa foram obtidas em cultivo com nanofibras sem MEA (327,6 mg L⁻¹ d⁻¹ e 3,94 g L⁻¹, respectivamente). A biomassa obtida nesse cultivo apresentou produtividade de lipídios e proteínas 2,1 e 1,7 vezes maior, respectivamente, que o ensaio sem nanofibras. Portanto, as nanofibras de PAN atuam como adsorventes de CO₂, melhorando a biofixação do gás pela microalga *Spirulina* sp. LEB 18 que contribui com a produção de biomassa e com o incremento de proteínas e lipídios.

Palavras-chave: Biofixação. *Electrospinning*. Monoetanolamina. Microalga.

Poliacrilonitrila.

1 INTRODUÇÃO

A mudança climática intensificada pelo acúmulo de gases de efeito estufa na atmosfera é uma das principais preocupações atuais de autoridades políticas e científicas de todo o mundo. O Acordo de Paris, aprovado em 2015 por 195 países, estabeleceu metas para a redução das emissões de gases de efeito estufa, principalmente no que diz respeito à redução do uso de combustíveis fósseis. A redução das atividades durante a crise global do Covid-19 reduziu as emissões globais de CO₂ em 5,8% em 2020. O maior declínio desde a crise financeira global de 2009. A demanda por petróleo e carvão diminuiu, enquanto a demanda por energia renovável aumentou. Apesar disso, a concentração média anual de CO₂ na atmosfera permaneceu elevada, chegando a 412,5 partes por milhão. Em 2021, as emissões globais de CO₂ relacionadas à produção de energia voltaram a crescer cerca de 4,8% à medida que a demanda por carvão, petróleo e gás retomou o crescimento com a recuperação da economia (IEA, 2021). Os investidores também estão preocupados com o impacto que o Acordo de Paris pode ter na economia, uma vez que os combustíveis fósseis são a principal fonte de energia para muitas indústrias (BRASIL, 2016).

O cultivo de microalgas pode ser utilizado para tratamento de efluentes e redução de gases de efeito estufa (COSTA et al., 2019). A microalga *Spirulina* tem grande capacidade de biofixação de CO₂ e produção de biomassa, o que a torna ideal para esse tipo de aplicação (MORAIS; COSTA, 2007). Como o metabolismo desse microrganismo reage a mudanças no ambiente externo, as condições de cultivo podem ser modificadas para melhorar a captura de CO₂ e estimular a biossíntese de compostos (MORAIS et al., 2015). As microalgas do gênero *Spirulina* (*Arthrospira*) representam mais de 30% da biomassa produzida globalmente e são amplamente aplicáveis em alimentos, cosméticos, biofertilizantes e biocombustíveis (COSTA et al., 2019).

Como a principal barreira para a produção industrial de microalgas é o custo do meio de cultivo, estão sendo buscadas alternativas para viabilizar essa tecnologia industrialmente (CARVALHO et al., 2018). O CO₂ puro pode ser substituído por gases de combustão industrial, reduzindo o custo de €247 para €68 por tonelada de CO₂ (ACIÉN et al., 2016). Assim, o alto retorno energético pode ser obtido pela combinação

do cultivo de microalgas com processos químicos e/ou físicos de fixação de CO₂ (VO HOANG NHAT et al., 2018) para obtenção de bioprodutos.

Recentemente, estudos sobre a aplicação de nanofibras de poliacrilonitrila (PAN) no cultivo da microalga *Chlorella fusca* LEB 111 mostraram que a biofixação de CO₂ pode ser aumentada em até 57% em comparação com o cultivo sem nanofibras (VAZ et al., 2019b). A alta área superficial e porosidade das nanofibras proporcionam excelente capacidade de adsorção de gases (SUN et al., 2014). A estrutura porosa facilita o transporte de massa principalmente em aplicações na fase líquida, que é o fator chave para a adsorção de CO₂ dissolvido no meio de cultura (BELTZUNG et al., 2018). O polímero sintético PAN forma nanofibras com estabilidade térmica, química e mecânica, tornando-as fortes e resistentes (YAN et al., 2018). As vantagens desse polímero são que, além da interação física, a presença de nitrogênio na estrutura polimérica permite uma interação química favorável com o gás, aumentando a capacidade de adsorção do gás (BELTZUNG et al., 2018).

Estudos associaram a fixação química e biológica de CO₂ em busca de melhores resultados na mitigação do gás (CARDIAS et al., 2018; ROSA et al., 2018). Assim, a adsorção física e a absorção química podem complementar os processos de mitigação biológica para obter resultados ainda mais promissores em relação à fixação de CO₂. Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi comparar a biofixação de CO₂, produtividade e composição da biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 cultivada sem e com nanofibras de poliacrilonitrila com até 3% v v⁻¹ de adição de MEA.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 PREPARO DE SOLUÇÕES POLIMÉRICAS PARA *ELECTROSPINNING*

Soluções com 10, 11 ou 11,5% (m v⁻¹) de polímero PAN (150.000 g mol⁻¹, Sigma-Aldrich®, EUA) foram preparadas com solvente dimetilformamida (DMF), com base nos estudos de Vaz et al. (2019a, 2019b). A concentração do absorvente químico MEA foi de 0, 1, 2 ou 3% (v v⁻¹), para observar o efeito do absorvente químico na solução polimérica. Para soluções contendo MEA, o PAN foi dissolvido em 90% do volume de DMF e mantido sob agitação por 16 h. Em seguida, a mistura de MEA com o volume de solvente de 10% restante foi adicionada à solução polimérica e mantida

sob agitação por mais 2 h. As soluções sem MEA foram mantidas sob agitação por 18 h.

2.2 DESENVOLVIMENTO DAS NANOFIBRAS

O equipamento de *electrospinning* consistiu de uma bomba de deslocamento positivo (Modelo KDS 100, KD Scientific, EUA) e uma fonte de alta tensão, corrente contínua (Modelo ET 5000 CC, Electric Test Seta, Brasil). As soluções poliméricas foram injetadas através de capilares com diâmetros de 0,55 e 0,70 mm, taxas de alimentação da solução de 400 a 800 $\mu\text{L h}^{-1}$, distâncias do capilar ao coletor de 150 a 180 mm e potenciais elétricos de 15 a 23 kV. As condições para produção de nanofibras foram baseadas nos estudos de Vaz et al. (2019a, 2019b). Os testes foram conduzidos a 22 ± 3 °C com umidade relativa de $45 \pm 5\%$.

2.3 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOFIBRAS

A forma e o diâmetro das nanofibras foram determinados por microscopia eletrônica de varredura (MEV) (JEOL JSM-6610 LV, Japão), onde foram realizadas 50 medições. Antes da análise, as amostras foram fixadas em um suporte metálico e revestidas com ouro por meio de um diodo *sputtering* (Denton Vacuum 111 CAR001-0038, EUA) (ASTM, 2010). Para avaliar a molhabilidade, o ângulo de contato (Θ) da água com as nanofibras foi medido com microscópio digital Blue (x60). Uma gota de água foi colocada na superfície das nanofibras e o ângulo de contato foi medido com o software *Surftens* 3.0.

A medição da estabilidade térmica e solvente residual foi realizada em um analisador termogravimétrico (TGA) (Shimadzu DTG-60, Japão) de acordo com a metodologia descrita por ASTM (2013). A análise foi realizada em 2 a 6 mg de amostra, de temperatura ambiente até 400 °C, com taxa de aquecimento constante de 10 °C min^{-1} e atmosfera inerte consistindo de gás nitrogênio a uma vazão de 30 mL min^{-1} .

Um calorímetro de varredura diferencial (*differential scanning calorimeter*, DSC) (Shimadzu DSC-60, Japão) foi usado para determinar a temperatura de fusão das nanofibras. Aproximadamente 4 mg de amostra foram colocados em uma cápsula de alumínio e selados com uma tampa. As amostras foram testadas sob atmosfera de

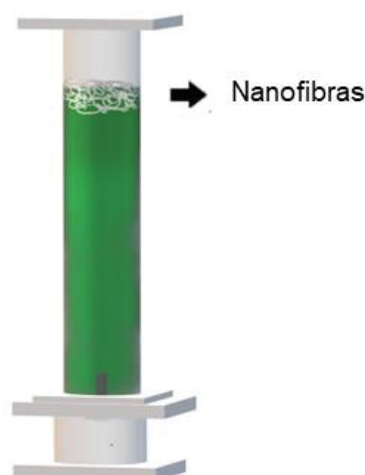
nitrogênio com vazão de 50 mL min^{-1} , variação de temperatura ambiente até $400 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e taxa de aquecimento de $10 \text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$. A temperatura de fusão foi determinada a partir da temperatura de fusão de pico mostrada na curva DSC (ASTM, 2014).

2.4 CONDIÇÕES DE CULTIVO E DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS

O microrganismo utilizado foi a microalga *Spirulina* sp. LEB 18 obtida da coleção de culturas do Laboratório de Engenharia Bioquímica (LEB) da Universidade Federal do Rio Grande (FURG, Rio Grande, RS, Brasil). Os ensaios foram realizados em fotobiorreatores tubulares verticais de 1,8 L (volume útil de 0,9 L) com concentração inicial de biomassa (X_0) de $0,2 \text{ g L}^{-1}$. O meio de cultivo utilizado foi o Zarrouk (1966) sem fonte de carbono, composto por (g L^{-1}): K_2PO_4 (0,5), NaNO_3 (2,5), K_2SO_4 (1,0), NaCl (1,0), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,2), CaCl_2 (0,04), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,01), EDTA (0,08), solução de micronutrientes ($1,0 \text{ mL L}^{-1}$) e solução metálica ($1,0 \text{ mL L}^{-1}$). Os ensaios foram realizados em duplicata em estufa de cultivo a $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$, fotoperíodo de 12 h claro/12 h escuro, iluminação de $41,6 \text{ } \mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, agitação promovida por ar comprimido (MORAIS; COSTA, 2007) e tempo de cultivo de 21 d.

As nanofibras adsorventes foram adicionadas na concentração de $0,2 \text{ g L}^{-1}$ dispersas livremente no meio de cultivo (FIGURA 1). O ensaio controle foi realizado sem as nanofibras para comparação.

FIGURA 1- NANOFIBRAS DISPERSAS NA SUPERFÍCIE DO CULTIVO NO FOTOBIORREATOR



Fonte: O Autor (2022)

A concentração de carbono inorgânico dissolvido (CID, mg L⁻¹) no meio foi determinada a cada 72 h a partir da medição da alcalinidade total (titulação com HCl) e pH, que são relacionados pelas equações do balanço de carbono no meio (ROSA et al., 2015).

As nanofibras foram retiradas do meio de cultura ao final dos experimentos e secas em estufa com circulação de ar a 50 °C até peso constante. Após a secagem, as nanofibras foram pesadas e a biomassa retida (biomassa_{retida}, g) foi calculada pela Equação 1, onde a nanofibra_{final} (g) é a massa das nanofibras com biomassa microalgal aderida e nanofibra_{inicial} (g) é a massa das nanofibras adicionadas no início do cultivo. A partir desses dados, a concentração final de biomassa microalgal (X_{final}, g L⁻¹) foi calculada pela Equação 2, onde X_{espectrofotômetro} (g L⁻¹) é a concentração de biomassa no último dia de cultivo obtida por leituras espectrofotométricas e V_{final} é o volume de cultivo no final do experimento (L).

$$\text{biomassa}_{\text{retida}} = \text{nanofibra}_{\text{final}} - \text{nanofibra}_{\text{inicial}} \quad \text{Equação 1}$$

$$X_{\text{final}} = X_{\text{espectrofotômetro}} + (\text{biomassa}_{\text{retida}} / V_{\text{final}}) \quad \text{Equação 2}$$

A produtividade de biomassa final foi calculada (P_{final}, mg L⁻¹ d⁻¹) (Equação 3), onde X_{final} (g L⁻¹) é a biomassa no tempo final de cultivo (t_{final}, d) e X₀ é a concentração de biomassa inicial no dia zero (t₀, d); e então, foi calculada a taxa de biofixação de CO₂ (TB, mg L⁻¹ d⁻¹) (Equação 4), onde x_{cbm} é a fração mássica do carbono na biomassa, considerada aproximadamente 0,5 (CARDIAS et al., 2018), e M_{CO2} e M_C são as massas molares de CO₂ e carbono, respectivamente.

$$P_{\text{final}} = (X_{\text{final}} - X_0) / (t_{\text{final}} - t_0) \quad \text{Equação 3}$$

$$TB = P_{\text{final}} \cdot x_{\text{cbm}} \cdot (M_{\text{CO2}} / M_{\text{C}}) \quad \text{Equação 4}$$

2.5 RECUPERAÇÃO DE BIOMASSA E DETERMINAÇÃO DE BIOMOLÉCULAS

A biomassa produzida foi recuperada do meio de cultura ao final dos ensaios por centrifugação (Hitachi Himac CR-GIII, Japão) a 15200 g e 20 °C por 20 min,

ressuspendida em água destilada e centrifugada novamente nas mesmas condições. Após centrifugação, a biomassa recuperada foi congelada a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, liofilizada por 48 h e armazenada até a caracterização (ROSA et al., 2018).

A determinação de carboidratos e proteínas foi realizada nos extratos de biomassa obtidos por ruptura celular em sonda ultrassônica (COLE PARMER CPX 130 - Illinois - EUA). O teor de carboidratos foi quantificado pelo método fenol-sulfúrico de Dubois et al. (1956) utilizando curva padrão de glicose. A concentração de proteína foi determinada pelo método colorimétrico usando curva padrão de albumina de soro bovino (LOWRY et al., 1951). A determinação da concentração lipídica foi baseada na extração dos lipídios polares e apolares usando solventes clorofórmio e metanol (FOLCH et al., 1957).

A produtividade de proteínas ($P_{\text{proteínas}}$, $\text{mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$), carboidratos ($P_{\text{carboidratos}}$, $\text{mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$) e lipídios ($P_{\text{lipídios}}$, $\text{mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$) foi calculada multiplicando-se P_{final} ($\text{mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$) com a concentração mássica da biomolécula de interesse ($g_{\text{macromolécula}} g_{\text{biomassa}}^{-1}$) (ROSA et al., 2018).

2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados apresentados foram comparados por análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de Tukey ao nível de confiança de 95% no software *Statistica 8.0*.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

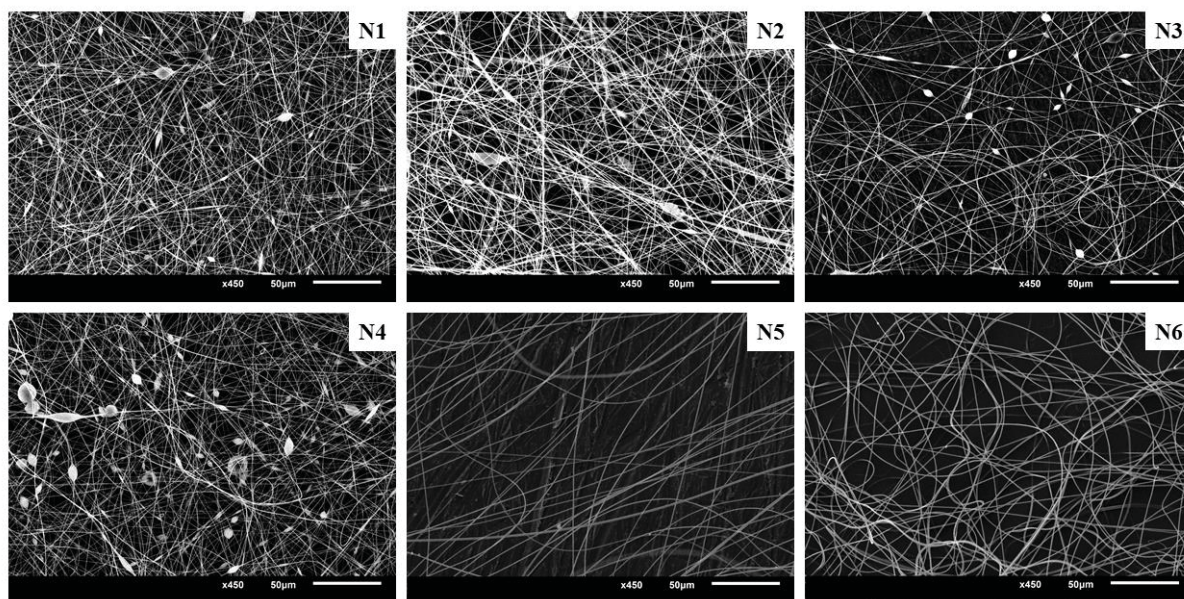
3.1 DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOFIBRAS DE PAN

As condições da solução polimérica e os parâmetros do *electrospinning* com os respectivos diâmetros obtidos nas nanofibras desenvolvidas são mostrados na TABELA 1. Nanofibras uniformes foram obtidas com 11,5% (m v^{-1}) de PAN, com diâmetro do capilar de 0,55 mm, taxa de alimentação de $800\text{ }\mu\text{L h}^{-1}$, distância do capilar ao coletor de 180 mm e potencial elétrico de 25 kV com 1% v v^{-1} de MEA (amostra N5) e sem MEA (amostra N6) (FIGURA 2). Estas condições foram escolhidas para produzir nanofibras com diâmetros de aproximadamente 700-800 nm e utilizadas nos testes subsequentes no cultivo da microalga.

TABELA 1- DIÂMETROS MÉDIOS DAS NANOFIBRAS ($D_{\text{nanofibra}}$) DESENVOLVIDAS COM VARIAÇÃO NA CONCENTRAÇÃO DE POLÍMERO PAN (C_{PAN}), CONCENTRAÇÃO DE MEA (C_{MEA}), TAXA DE ALIMENTAÇÃO (TA) E DIÂMETRO CAPILAR (D_{capilar}).

Amostra	C_{PAN} (% m v ⁻¹)	C_{MEA} (% v v ⁻¹)	TA ($\mu\text{L h}^{-1}$)	D_{capilar} (mm)	$D_{\text{nanofibra}}$ (nm)
N1	10	1	400	0,55	404 $\pm$ 0,08
N2	10	1	500	0,55	529 $\pm$ 0,07
N3	10	2	500	0,70	540 $\pm$ 0,08
N4	11	2	500	0,55	444 $\pm$ 0,05
N5	11,5	1	800	0,55	768 $\pm$ 0,11
N6	11,5	0	800	0,55	793 $\pm$ 0,08

FIGURA 2- NANOFIBRAS DESENVOLVIDAS PELO PROCESSO DE *ELECTROSPINNING*

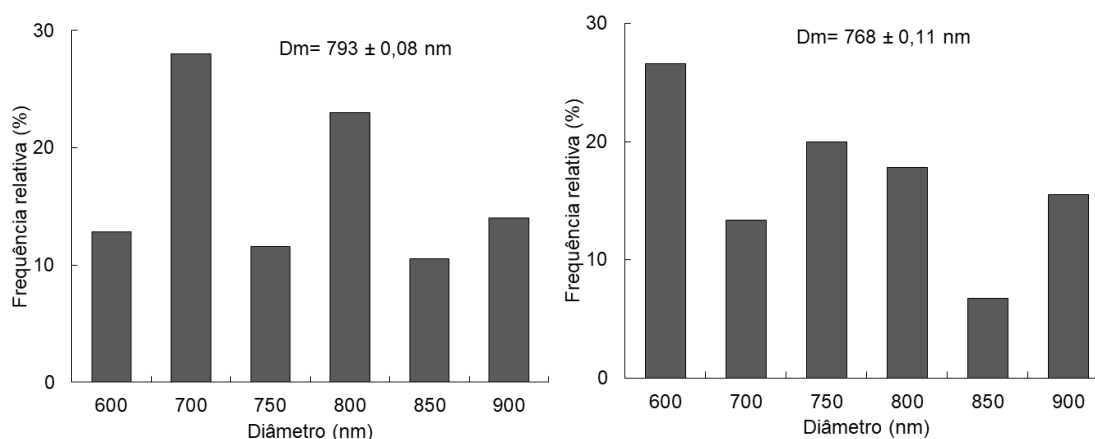


As demais condições (amostras N1 a N4) não foram utilizadas devido à presença de grânulos (pontos brancos) que tornavam as nanofibras não uniformes. A formação de grânulos pode ocorrer quando o emaranhamento molecular das cadeias poliméricas aumenta. Com maior concentração de polímero, fibras regulares são produzidas porque as forças viscoelásticas de emaranhamento predominam e suprimem a prevalência de instabilidade capilar (MATULEVICIUS et al., 2016). Os diâmetros observados nestas amostras descartadas foram de aproximadamente 400 nm, mas continham grânulos com diâmetros maiores que 1 μm . A concentração de

polímero na solução deve ser adequada para obter um jato uniforme. Segundo Kirecci et al. (2011), soluções com até 8% m v⁻¹ de PAN formaram fibras finas com muitos grânulos, e o limite mínimo de polímero para produção de nanofibras sem grânulos foi de 10% m v⁻¹ usando potenciais elétricos de 1,5 a 4,0 kV cm⁻¹. A adição de 3% v v⁻¹ de MEA na solução polimérica não permitiu a dissolução completa do polímero, não sendo possível utilizá-la para produzir nanofibras.

Vaz et al. (2019a) desenvolveram nanofibras uniformes e com diâmetro de aproximadamente 689 nm, para adsorção de CO₂ em cultivo de microalgas, com 10 % m v⁻¹ de PAN em solvente DMF, potencial elétrico de 25 kV, taxa de alimentação de 500 µL h⁻¹, distância do capilar ao coletor de 14 cm e diâmetro do capilar de 0,70 mm. Segundo os autores, a adição de 4% (m v⁻¹) de nanopartículas de Fe₂O₃ à solução polimérica reduziu o diâmetro das nanofibras para 434 nm. No presente estudo, mais de 60% das nanofibras sem MEA apresentaram diâmetros entre 700 e 800 nm (FIGURA 3A). A adição de MEA à solução reduziu ligeiramente o diâmetro das nanofibras, com aproximadamente 60% das nanofibras produzidas entre 600 e 750 nm (FIGURA 3B).

FIGURA 3- DISTRIBUIÇÃO DO DIÂMETRO (FREQUÊNCIA RELATIVA, %) E DIÂMETRO MÉDIO (Dm, nm) DAS NANOFIBRAS DE PAN SEM MEA(A) E COM 1% (v v⁻¹) DE MEA (B).
(A) (B)



A análise do ângulo de contato (Θ) realizada nas nanofibras com 11,5% (m v⁻¹) de PAN com 0 e 1% (v v⁻¹) de MEA mostrou que $\Theta=0^\circ$. A gota de água espalhou-se instantaneamente sobre a superfície da nanofibra, confirmando o caráter hidrofílico das nanofibras de PAN, independentemente da adição de MEA. As propriedades hidrofílicas do polímero PAN são fornecidas pelo grupo ciano (CN), que é polar

(PANDA; DE, 2015). Além disso, parâmetros de processamento como a concentração do polímero influenciam a morfologia e as propriedades das nanofibras e podem acentuar sua polaridade (MOGHADHAM; HASANZADEH, 2013). As membranas hidrofílicas sofrem menos incrustação e são altamente atraídas pela água, mas não são solubilizadas, reduzindo a barreira física às macromoléculas que são adsorvidas à superfície (AZIZO et al., 2017). A alta hidrofiliabilidade das nanofibras neste estudo é interessante. Essa característica garante a estabilidade do nanomaterial em contato com o líquido, podendo o nanomaterial adsorver o CO₂ dissolvido no meio de cultura, mantendo-o disponível para a microalga por mais tempo.

A análise de TGA mostrou que não restaram vestígios do solvente usado na solução polimérica, pois o ponto de ebulição do DMF é 153 °C e não houve mudança visível nas curvas próximas a essa temperatura. A temperatura máxima de degradação (T_{md} , °C), temperatura inicial de degradação (T_{id} , °C) e temperatura final de degradação (T_{fd} , °C) das nanofibras com e sem MEA foram semelhantes, mostrando que as nanofibras são termicamente estáveis até aproximadamente 312 °C (TABELA 2).

TABELA 2- TEMPERATURA DE FUSÃO (T_m , °C), ENTALPIA (H , J g⁻¹), TEMPERATURA MÁXIMA DE DEGRADAÇÃO (T_{md} , °C), TEMPERATURA INICIAL DE DEGRADAÇÃO (T_{id} , °C) E TEMPERATURA FINAL DE DEGRADAÇÃO (T_{fd} , °C) DO POLÍMERO PAN, ABSORVENTE QUÍMICO MEA E NANOFIBRAS PRODUZIDAS COM 11,5% (m v⁻¹) DE PAN E 0 OU 1% (v v⁻¹) DE MEA.

Amostra	T_m	H	T_{md}	T_{id}	T_{fd}
PAN	325,8	407,1	327,8	319,1	334,8
MEA*	89,3	185,4	133,0	89,7	148,3
Nanofibras	T_m	H	T_{md}	T_{id}	T_{fd}
0% MEA	296,7	382,0	317,6	312,7	320,4
1% MEA	298,9	423,4	319,6	315,6	322,6

*Valores de MEA retirados de Wei et al. (2019)

A temperatura máxima de degradação das amostras foi de aproximadamente 320 °C, o que indica estabilidade térmica mesmo com a adição de MEA na solução polimérica. O PAN é um polímero amorfo que apresenta pontos de degradação em aproximadamente 330 e 430 °C e é frequentemente incorporado a outros polímeros como suporte para melhorar a estabilidade térmica dos materiais (MAPAZI et al.,

2018). O cultivo de microalgas é realizado em temperaturas mais amenas. Os cultivos *indoor*, em geral, são realizados a 30 °C, e nos cultivos *outdoor* a temperatura pode variar de 10 a 50 °C, com cepas termotolerantes, dependendo do local e da época (PIRES et al., 2012). Dessa forma, a estabilidade térmica das nanofibras é interessante quando são projetadas para serem utilizadas em cultivo ao ar livre, em larga escala, sem controle de temperatura, que é o método mais utilizado para mitigar os gases de efeito estufa.

MEA mostra dois picos na análise de DSC, um pico exotérmico a 120 °C e um pico endotérmico a 320 °C, com temperatura de fusão de 89,3 °C (WEI et al., 2019). O polímero PAN mostra um pico exotérmico acentuado a aproximadamente 290 °C devido a reações de ciclização, liberando grande quantidade de calor em pouco tempo (FLEMING et al., 2014). As nanofibras apresentam temperaturas superiores às do MEA puro, mas inferiores às do PAN. Isso demonstra que ao formar nanofibras, os materiais sofrem modificações, e a adição de MEA altera essa estrutura, elevando todas as temperaturas em pelo menos 2 °C, além da diferença de entalpia, o que demonstra maior estabilidade à perda de massa.

3.2 EFEITO DAS NANOFIBRAS NO CRESCIMENTO E COMPOSIÇÃO DE *Spirulina* sp. LEB 18

As nanofibras foram distribuídas na superfície do cultivo, e parte da biomassa microalgal aderiu às fibras. Vaz et al. (2019b) utilizaram uma tela de aço inoxidável como suporte para as nanofibras dentro da cultura, a fim de reduzir a "perda" da biomassa que ficou retida na nanofibra. No entanto, o contato reduzido entre a microalga e a nanofibra dificultou a utilização do gás aprisionado no adsorvente, reduzindo os parâmetros cinéticos e de biofixação em relação ao cultivo sem o suporte.

Observamos que nanofibras podem ser inseridas no cultivo, obtendo aumento no crescimento da microalga *Spirulina* sp. LEB 18. Os melhores resultados de X_{final} (3,95 g L⁻¹) e P_{final} (178,7 mg L⁻¹ d⁻¹) foram obtidos nos ensaios com nanofibras sem MEA (TABELA 3). Em estudos de Groberhode et al. (2017), com o crescimento de *Chlamydomonas reinhardtii* em superfícies compostas por PAN foi observado que o polímero não é tóxico para os microrganismos, pois seu crescimento não é alterado. Outros autores (VAZ et al., 2019b) cultivaram *Chlorella fusca* LEB 111 em

fotobiorreatores *erlenmeyer* de 0,5 L a 25 °C, com 0,3 g L⁻¹ de nanofibras 10 % (m v⁻¹) de PAN + 4% (m v⁻¹) de nanopartículas de Fe₂O₃, obtendo máxima concentração de biomassa de 0,94 g L⁻¹ e produtividade de biomassa de 48,8 mg L⁻¹ d⁻¹. Os autores afirmam que a adição de nanofibras aumentou a concentração de biomassa e a produtividade em relação ao cultivo sem nanomateriais, confirmando os resultados do presente estudo.

O cultivo com nanofibras contendo MEA não apresentou diferença significativa quanto a $X_{\text{máx}}$ e $P_{\text{máx}}$ do cultivo sem nanofibras. A concentração de biomassa no ensaio com nanofibras sem MEA foi 23% maior do que no ensaio com nanofibras com MEA. *Spirulina* sp. LEB 18 nas mesmas condições de temperatura, luminosidade e concentração inicial de biomassa do presente estudo, pode crescer na presença de até 0,41 mmol L⁻¹ de MEA (equivalente a 25 mg L⁻¹) (ROSA et al., 2015). A concentração de MEA dos ensaios do presente estudo foi de 2 mg L⁻¹, de acordo com a concentração de nanofibras adicionadas, valor 10 vezes menor que o máximo tolerado pela microalga de acordo com Rosa et al. (2015).

TABELA 3- CONCENTRAÇÃO DE BIOMASSA (X_{final}), PRODUTIVIDADE DE BIOMASSA (P_{final}), TAXA DE BIOFIXAÇÃO DE CO₂ (TB), CONCENTRAÇÃO DE BIOMOLÉCULA ($C_{\text{Proteínas}}$, $C_{\text{Carboidratos}}$ e $C_{\text{Lipídios}}$) E PRODUTIVIDADE DE BIOMOLÉCULAS ($P_{\text{Proteínas}}$, $P_{\text{Carboidratos}}$ e $P_{\text{Lipídios}}$) EM ENSAIOS COM E SEM NANOFIBRAS.

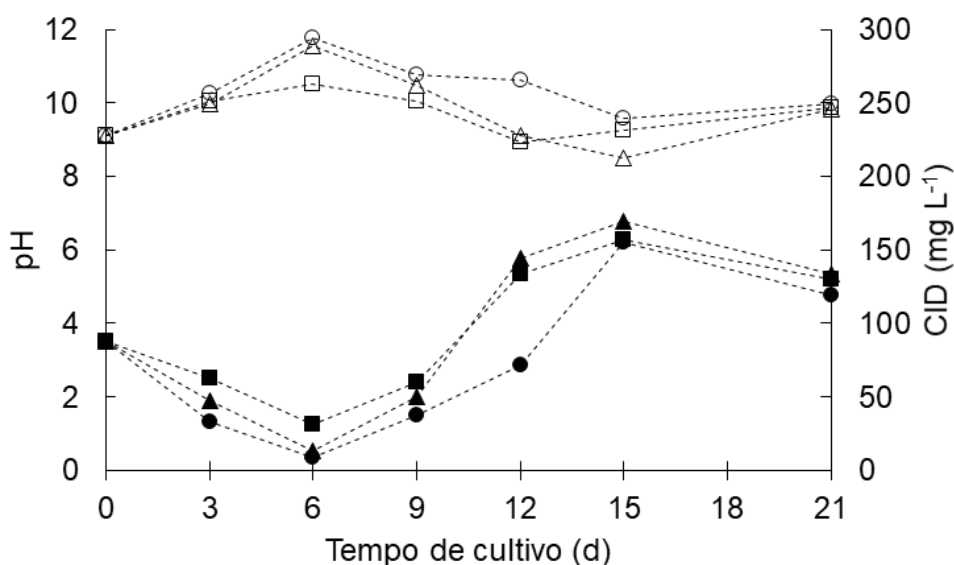
Parâmetros	Sem nanofibras	Nanofibras 0% MEA	Nanofibras 1% MEA
X_{final} , g L ⁻¹	3,39 ± 0,08 ^b	3,95 ± 0,08 ^a	3,22 ± 0,10 ^b
P_{final} , mg L ⁻¹ d ⁻¹	151,8 ± 3,7 ^b	178,7 ± 3,9 ^a	143,6 ± 4,7 ^b
TB, mg L ⁻¹ d ⁻¹	278,4 ± 6,9 ^b	327,6 ± 7,6 ^a	263,2 ± 8,6 ^b
$C_{\text{Proteínas}}$, % m m ⁻¹	52,4 ± 4,86 ^b	59,3 ± 4,95 ^a	58,6 ± 3,15 ^a
$C_{\text{Carboidratos}}$, % m m ⁻¹	19,8 ± 5,75 ^a	12,1 ± 3,32 ^b	10,2 ± 1,84 ^b
$C_{\text{Lipídios}}$, % m m ⁻¹	7,74 ± 0,27 ^b	10,9 ± 0,62 ^a	10,3 ± 0,86 ^a
$P_{\text{Proteínas}}$, mg L ⁻¹ d ⁻¹	239,9 ± 11,3 ^c	404,0 ± 16,2 ^a	296,3 ± 10,5 ^b
$P_{\text{Carboidratos}}$, mg L ⁻¹ d ⁻¹	74,1 ± 6,6 ^a	68,8 ± 5,9 ^a	52,3 ± 4,5 ^b
$P_{\text{Lipídios}}$, mg L ⁻¹ d ⁻¹	35,8 ± 1,2 ^c	76,6 ± 4,4 ^a	53,2 ± 4,4 ^b

Média ± desvio padrão. Letras sobrescritas idênticas na mesma linha indicam que as médias não diferem significativamente ao nível de confiança de 95% ($p \geq 0,05$).

Cardias et al. (2018), adicionaram 0,41 a 3,28 mmol L⁻¹ de dietanolamina (DEA) e K₂CO₃ no cultivo de *Spirulina* sp. LEB 18. Os autores observaram que a maior concentração de absorventes químicos inibe o crescimento e a produtividade das microalgas. O cultivo com adição da mistura de 1,64 mmol L⁻¹ de DEA com 0,41 mmol L⁻¹ de K₂CO₃ apresentou maiores X_{máx} (2,10 g L⁻¹) e P_{máx} (1,74 g L⁻¹ d⁻¹). No presente estudo, foi obtida produtividade de biomassa semelhante, porém, a concentração de biomassa foi 1,9 vezes maior. Assim, acredita-se que o CO₂ se ligue quimicamente aos grupos nitrogenados do MEA presentes nas nanofibras e não apenas fisicamente como nas nanofibras sem MEA. Dessa forma, ocorre uma ligação mais forte que não permite que o CO₂ seja liberado para o meio e fique disponível para as microalgas. A interação química favorável entre grupos de nitrogênio e CO₂ ocorre devido à polaridade da superfície das interações ácido-base e dipolo-quadrupolo (BELTZUNG et al., 2018).

O ensaio com nanofibras sem MEA apresentou a melhor taxa de biofixação de CO₂ de 327 mg L⁻¹ d⁻¹, compatível com o aumento da concentração de carbono inorgânico dissolvido (CID) (FIGURA 4). Aumento na taxa de biofixação de até 2 vezes para a microalga *Chlorella fusca* LEB 111 em fotobiorreatores tubulares foi observado com a adição de até 0,3 g L⁻¹ de nanofibras de PAN contendo nanopartículas de Fe₂O₃ (VAZ et al., 2020).

FIGURA 4- VARIAÇÃO DO pH (SÍMBOLO NÃO PREENCHIDO) E CONCENTRAÇÃO DE CARBONO INORGÂNICO DISSOLVIDO (CID, mg L⁻¹) (SÍMBOLO SÓLIDO) NO MEIO DE CULTIVO DE *Spirulina* sp. LEB 18 SEM NANOFIBRAS (□, ■), COM NANOFIBRAS COM 0% (v v⁻¹) DE MEA (○, ●), E COM NANOFIBRAS COM 1% (v v⁻¹) DE MEA (Δ, ▲).



Nos primeiros dias de cultivo, a concentração de CID diminuiu devido ao aumento do pH do meio. Durante o crescimento de microalgas, o consumo de carbono dissolvido no meio de cultura provoca esse aumento de pH (DEAMICI et al. 2019). O pH influencia a transferência de massa de CO_2 para a fase líquida e, em condições típicas de cultivos de microalgas, a melhor taxa de transferência ocorre em pH 8. Com o decorrer do cultivo, o CID tende a aumentar devido à absorção de CO_2 , enquanto o pH diminui (DE GODOZ et al., 2014) devido à formação de espécies HCO_3^- e à liberação de íons H^+ (BAO et al., 2012).

O CID varia de acordo com o pH do meio. Em todos os ensaios, a maior concentração de CID ocorreu no 15º dia de experimento, onde os valores de pH foram mais próximos de 8. Apenas os estudos de Vaz et al. (2019b) relataram aumento no CID com a adição de nanofibras de 10% (m v^{-1}) de PAN + 4% (m v^{-1}) de nanopartículas de Fe_2O_3 . Os autores associam o maior acúmulo de CID com o melhor crescimento da microalga *Chlorella fusca* LEB 11, porque mais carbono está disponível para o consumo. Rosa et al. (2022) observaram valores de pH mais baixos (entre 7,0 e 8,4) em *Spirulina* sp. LEB 18 cultivada com MEA. Esta faixa de pH não é ideal para esta espécie de microalga, mas é de se esperar quando o CO_2 é usado como fonte de carbono. A concentração de MEA utilizada pelos autores (0,1 a 0,41 mmol L^{-1}) eleva o valor de CID até aproximadamente 220 mg L^{-1} no 15º dia de ensaio.

A biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 cultivada com adição de nanofibras, com 0 e 1% de MEA, apresentou maior teor de lipídios e proteínas e redução na concentração de carboidratos em comparação com a biomassa cultivada sem nanofibras (TABELA 3). O teor de lipídios aumentou aproximadamente 3%, e o teor de proteínas aumentou 6% nos cultivos com nanofibras em relação ao controle. O aumento do teor de lipídios pode ocorrer por estresse celular ou por aumento do CID, o que leva a uma menor relação nitrogênio/carbono (N/C) no meio (VAZ et al., 2020) e, consequentemente, menor produção de proteínas.

No presente estudo, no cultivo com adição de nanofibras, houve maior síntese de lipídios e proteínas em paralelo. Ambos os incrementos podem ser resultado da manutenção da relação N/C no nível ideal (DIANURSANTI; SANTOSO, 2015). Além disso, o aumento do teor de proteína pode estar relacionado ao aumento da concentração celular (MORAIS et al., 2019), como observado no presente estudo. As nanofibras, atuando como adsorventes de CO_2 , podem regular a disponibilidade de nutrientes no meio e manter a relação N/C, facilitando o aumento de proteínas

concomitante à formação de compostos ricos em carbono, como os lipídios. Comitre et al. (2021) obtiveram aumento da concentração de lipídios de 62,8% na cultura de *Chlorella fusca* LB 111 com a dupla renovação das nanofibras no 7º e 15º de cultivo que, segundo os autores, ocorreu devido à maior concentração de carbono disponível no meio.

Vaz et al. (2019b) observaram aumento apenas na concentração de carboidratos de *Chlorella fusca* LEB 111 cultivada com 0,1 g L⁻¹ de nanofibras com 10% (m v⁻¹) de PAN + nanopartículas de Fe₂O₃. Os autores associaram ao aumento do carbono inorgânico disponível no meio devido ao desempenho das nanofibras como adsorventes de CO₂. Dependendo das condições ambientais, as células podem preferir sintetizar lipídios em vez de carboidratos como reserva energética, reduzindo assim a concentração de um contra o aumento do outro (LARI et al., 2016), o que corrobora os resultados obtidos no presente estudo. Os valores de carboidratos e lipídios são semelhantes aos relatados por Rosa et al. (2016) para a mesma cepa de microalga cultivada com 0,41 mmol L⁻¹ de NaOH (11 e 11,1% m m⁻¹, respectivamente) e superiores a adição de 0,41 mmol L⁻¹ de MEA (8,5 e 9,4% m m⁻¹, respectivamente).

O aumento de lipídios geralmente ocorre em condições de estresse, o que dificulta a obtenção simultânea de alta produtividade de biomassa e produção de lipídios (POH et al., 2020). Em cultivos semi-contínuos de *Spirulina* sp. LEB 18, Rosa et al. (2015) observaram que a adição de 0,2 mmol L⁻¹ de MEA a cada renovação de nutrientes do meio não teve efeito sobre a concentração de lipídios, mas aumentou a concentração de carboidratos e proteínas na biomassa. Os autores relataram 44,4% m m⁻¹ de proteínas, 28,2 m m⁻¹ de carboidratos e 8,3% m m⁻¹ de lipídios na biomassa final.

Observando a produtividade das macromoléculas, que é uma análise quantitativa mais realista, pois considera a concentração das macromoléculas e a produtividade da biomassa (ROSA et al., 2018), a diferença entre os resultados é exaltada. O ensaio com nanofibras 0% de MEA produziu 1,7 vezes mais proteínas (P_{Proteínas} de 404 mg L⁻¹ d⁻¹), 2,1 vezes mais lipídios (P_{Lipídios} de 76,6 mg L⁻¹ d⁻¹) que o ensaio sem nanofibras ($p \leq 0,05$), e produtividade de carboidratos equivalente ($p \geq 0,05$) nos 3 ensaios (P_{Carboidratos} aproximadamente de 68 mg L⁻¹ d⁻¹).

As proteínas são macromoléculas de grande interesse industrial, pois podem atuar como transportadores de membranas, reguladores de processos metabólicos, enzimas e alguns aminoácidos podem ser precursores de hormônios, vitaminas e

outras biomoléculas (MANFREDINI et al., 2020). Estudos com adição de 100 mg L⁻¹ de MEA no cultivo de *Chlorella fusca* LEB 111 mostraram aumento na concentração de lipídios, mas não na P_{Lipídios} em relação ao ensaio controle (ROSA et al., 2018). Segundo os autores, fatores externos podem causar estresse, reduzindo a produção de biomassa e aumentando a produção de compostos de reserva. No presente estudo, não foi observada redução na produtividade de biomassa no ensaio com nanofibras 0% MEA. No entanto, o ensaio com nanofibras 1% MEA apresentou concentração de biomassa igual ao controle ($p \leq 0,05$), o que reduz o valor da produtividade das macromoléculas. No entanto, o ensaio nanofibras 1% MEA apresentou P_{Proteínas} e P_{Lipídios} maiores que o controle (23 e 51% maiores, respectivamente).

Spirulina é uma fonte potencial de biocompostos de alto valor agregado, principalmente proteínas, vitaminas, minerais e ácidos graxos. Os hidrolisados proteicos de *Spirulina* podem conter peptídeos com atividade antioxidante estável, promissores para o desenvolvimento de alimentos funcionais (PEREIRA et al., 2018). As proteínas também podem ser aplicadas nas indústrias cosmética, farmacêutica, de alimentação humana e de ração animal. Em geral, os lipídios de *Spirulina* são formados, predominantemente, por ácidos graxos de 16 e 18 carbonos, considerados essenciais, mas não produzidos pelo organismo, precursores de hormônios e neurotransmissores. Eles precisam, portanto, ser adicionados à dieta de humanos e animais (MORAIS et al., 2019).

Estes resultados mostram a possibilidade de cultivar *Spirulina* sp. LEB 18 com adição de nanofibras para a síntese de moléculas de interesse comercial, como lipídios e proteínas, mantendo alta produtividade de biomassa, além do importante papel das microalgas na biofixação de CO₂. Devido à sua versatilidade e uso comercial crescente (PERSANO et al., 2013), as nanofibras podem ser aplicadas como soluções ambientais e biotecnológicas. Conforme apresentado neste estudo, as nanofibras podem ser utilizadas na adsorção de CO₂ concomitante à biofixação do gás e produção de biomassa de microalgas. Por sua vez, de acordo com Costa et al. (2019), a produção de biomassa de microalgas ocorre comercialmente como um ciclo, onde a biomassa é convertida em diversos bioprodutos e produz energia. Assim, todas as frações de biomassa podem ser utilizadas; por exemplo, carboidratos podem ser na produção de bioetanol (CARDIAS et al., 2020), lipídios na produção de biodiesel

(MORAIS et al., 2018) e proteínas para obtenção de peptídeos (PEREIRA et al., 2018) ou ração animal (BLEAKLEY; HAYES, 2017).

4 CONCLUSÃO

As nanofibras de PAN com 0 e 1% de MEA apresentaram diâmetro menor que 800 nm. A maior taxa de biofixação de CO₂ (327,6 mg L⁻¹ d⁻¹) foi obtida no cultivo de *Spirulina* sp. LEB 18 com nanofibras de PAN sem MEA. A produtividade de lipídios e proteínas no cultivo com nanofibras aumentou 2,14 e 1,7 vezes, respectivamente, em relação ao cultivo controle, o que foi relacionado ao efeito de adsorção de CO₂ dos nanomateriais. As nanofibras como adsorventes de CO₂ no cultivo de microalgas podem ajudar a mitigar esse gás de efeito estufa, tornando o processo mais eficiente enquanto se obtém biomassa e biomoléculas, fechando um ciclo comercial e energético.

REFERÊNCIAS

- ACIÉN, F. G.; GÓMEZ-SERRANO, C.; MORALES-AMARAL, M. M.; FERNÁNDEZ-SEVILLA, J. M.; MOLINA-GRIMA, E. Wastewater treatment using microalgae: how realistic a contribution might it be to significant urban wastewater treatment? **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, n. 21, p. 9013–9022, 2016.
- ASTM. American Society for Testing and Materials. **E986 – 04**: Standard practice for scanning electron microscope beam size characterization. West Conshohocken, PA, USA, 2010.
- ASTM. American Society for Testing and Materials. **D3850-12**: Standard test method for rapid thermal degradation of solid electrical insulating materials by thermogravimetric method (TGA). West Conshohocken, PA, USA, 2013.
- ASTM. American Society for Testing and Materials. **D7426-08**: Standard Test Method for Assignment of the DSC Procedure for Determining. West Conshohocken, PA, USA, 2014.
- AZIZO, A. S.; WIRZAL, M. D. H.; BILAD, M. R.; YUSOFF, A. R. M. Assessment of nylon 6, 6 nanofibre membrane for microalgae harvesting. **AIP Conference Proceedings**, v. 1891, 2017.
- BAO, Y.; LIU, M.; WU, X.; CONG, W.; NING, Z. In situ carbon supplementation in large-scale cultivations of *Spirulina platensis* in open raceway pond. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 17, n. 1, p. 93–99, 2012.
- BELTZUNG, A.; KLAUE, A.; COLOMBO, C.; et al. Polyacrylonitrile Nanoparticle-Derived Hierarchical Structure for CO₂ Capture. **Energy Technology**, v. 6, n. 4, p. 718–727, 2018.
- BLEAKLEY, S.; HAYES, M. Algal Proteins: Extraction, Application, and Challenges Concerning Production. **Foods**, v. 6, n. 5, p. 33, 2017.
- BRASIL. NDC **Contribuição Nacionalmente Determinada para Consecução do Objetivo da Convenção-Quadro das Nações Unidas sobre Mudança do Clima**. 2016. Disponível em: <[http://www.mma.gov.br/images/arquivo/80108/BRASIL iNDC portugues FINAL.pdf](http://www.mma.gov.br/images/arquivo/80108/BRASIL%20INDC%20portugues%20FINAL.pdf)>. Acesso em 12 abr 2022.
- CARDIAS, B. B.; MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. CO₂ conversion by the integration of biological and chemical methods: *Spirulina* sp. LEB 18 cultivation with diethanolamine and potassium carbonate addition. **Bioresource Technology**, v. 267, 2018.
- CARDIAS, B. B.; TREVISOL, T. C.; BERTUOL, G. G.; COSTA, J. A. V.; SANTOS, L. O. Hydrolyzed *Spirulina* Biomass and Molasses as Substrate in Alcoholic Fermentation with Application of Magnetic Fields. **Waste and Biomass Valorization**, n. 0123456789, 2020.

CARVALHO, J. C.; BORGHETTI, I. A.; CARTAS, L. C.; WOICIECHOWSKI, A. L.; SOCCOL, V. T.; SOCCOL, C. R. Biorefinery integration of microalgae production into cassava processing industry: Potential and perspectives. **Bioresource Technology**, v. 247, p. 1165–1172, 2018.

CHOI, W.; KIM, G.; LEE, K. Influence of the CO₂ absorbent monoethanolamine on growth and carbon fixation by the green alga *Scenedesmus* sp. **Bioresource Technology**, v. 120, p. 295–299, 2012.

COMITRE, A. A.; VAZ, B. S.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. Renewal of nanofibers in *Chlorella fusca* microalgae cultivation to increase CO₂ fixation. **Bioresource Technology**, v. 321, n. October 2020, p. 124452, 2021.

COSTA, J. A. V.; FREITAS, B. C. B.; ROSA, G. M.; MORAES, L.; MORAIS, M. G.; MITCHELL, B. G. Operational and economic aspects of *Spirulina*-based biorefinery. **Bioresource Technology**, v. 292, p. 121946, 2019.

DEAMICI, K. M.; SANTOS, L. O.; COSTA, J. A. V. Use of static magnetic fields to increase CO₂ biofixation by the microalga *Chlorella fusca*. **Bioresource Technology**, v. 276, p. 103–109, 2019.

DE GODOS, I.; MENDOZA, J. L.; ACIÉN, F. G.; et al. Evaluation of carbon dioxide mass transfer in raceway reactors for microalgae culture using flue gases. **Bioresource Technology**, v. 153, p. 307–314, 2014.

DIANURSANTI; SANTOSO, A. Increasing Lipid Accumulation of *Chlorella vulgaris* Using *Spirulina platensis* in Flat Plate Reactor for Synthesizing Biodiesel. **Energy Procedia**, v. 65, p. 58–66, 2015.

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, p. 350–356, 1956.

FLEMING, R.; PARDINI, L. C.; ALVES, N.; GARCIA, E.; BRITO, C. Synthesis and thermal behavior of polyacrylonitrile/vinylidene chloride copolymer. **Polimeros**, v. 24, n. 3, p. 259–268, 2014.

FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, H. S. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissue. **Journal of Biological Chemistry**, v. 226, n. 1, p. 497–509, 1957.

GROBERHODE, C.; WEHLAGE, D.; GROTHE, T.; GRIMMELSMANN, N.; FUCHS, S.; HARTMANN, J.; MAZUR, P.; RESCHKE, V.; SIEMENS, H.; RATTENHOLL, A.; HOMBURG, S. V.; EHRMANN, A. Investigation of microalgae growth on electrospun nanofiber mats. **AIMS Bioengineering**, v. 4, n. 3, p. 376–385, 2017.

IEA. International Energy Agency. **Review 2021 Assessing the effects of economic recoveries on global energy demand and CO₂ emissions in 2021 Global Energy**. 2021. Disponível em: <https://www.iea.org/reports/global-energy-review-2021>. Acesso em: 10 mar. 2022.

KIRECCI, A.; ÖZKOÇ, Ü.; İÇOĞLU, H. İ. Determination of optimal production parameters for polyacrylonitrile nanofibers. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 124, n. 6, p. 4961–4968, 2011.

LARI, Z.; MORADI-KHEIBARI, N.; AHMADZADEH, H.; ABRISHAMCHI, P.; MOHEIMANI, N. R.; MURRY, M. A. Bioprocess engineering of microalgae to optimize lipid production through nutrient management. **Journal of Applied Phycology**, v. 28, n. 6, p. 3235–3250, 2016.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. Protein determination with the Folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, v. 193, n. 1, p. 265–275, 1951.

MANFREDINI, P. G.; CAVANHI, V. A. F.; COSTA, J. A. V.; COLLA, L. M. Bioactive peptides and proteases: characteristics, applications and the simultaneous production in solid-state fermentation. **Biocatalysis and Biotransformation**, v. 39, n. 5, p. 360–377, 2020.

MAPAZI, O.; MATABOLA, K. P.; MOUTLOALI, R. M.; NGILA, C. J. High temperature thermochromic polydiacetylene supported on polyacrylonitrile nanofibers. **Polymer**, v. 149, p. 106–116, 2018.

MATULEVICIUS, J.; KLIUCININKAS, L.; PRASAUSKAS, T.; BUIVYDIENE, D.; MARTUZEVICIUS, D. The comparative study of aerosol filtration by electrospun polyamide, polyvinyl acetate, polyacrylonitrile and cellulose acetate nanofiber media. **Journal of Aerosol Science**, v. 92, p. 27–37, 2016.

MOGHADAM, B. H.; HASANZADEH, M. Predicting contact angle of electrospun pan nanofiber mat using artificial neural network and response surface methodology. **Advances in Polymer Technology**, v. 32, n. 4, p. 1–9, 2013.

MORAIS, E. G. DE; CASSURIAGA, A. P. A.; CALLEJAS, N.; Martinez, N.; Vieitez, I.; Jachmanián, I.; Santos, L. O.; Morais, M. G.; Costa, J. A. V. Evaluation of CO₂ Biofixation and Biodiesel Production by *Spirulina* (*Arthrospira*) Cultivated In Air-Lift Photobioreactor. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 61, p. 18161339, 2018.

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. Carbon dioxide fixation by *Chlorella kessleri*, *C. vulgaris*, *Scenedesmus obliquus* and *Spirulina* sp. cultivated in flasks and vertical tubular photobioreactors. **Biotechnology Letters**, v. 29, n. 9, p. 1349–1352, 2007.

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

PANDA, S. R.; DE, S. Preparation, characterization and antifouling properties of polyacrylonitrile/polyurethane blend membranes for water purification. **RSC Advances**, v. 5, n. 30, p. 23599–23612, 2015.

PEREIRA, A. M.; LISBOA, C. R.; COSTA, J. A. V. High protein ingredients of microalgal origin: Obtainment and functional properties. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 47, p. 187–194, 2018.

PERSANO, L.; CAMPOSEO, A.; TEKMEK, C.; PISIGNANO, D. Industrial upscaling of electrospinning and applications of polymer nanofibers: A review. **Macromolecular Materials and Engineering**, v. 298, n. 5, p. 504–520, 2013.

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 Sustainable Energy Reviews**, v. 16, n. 5, p. 3043–3053, 2012.

POH, Z. L.; KADIR, W. N. A.; LAM, M. K.; UEMURA, Y.; SUPARMANIAM, U.; LIM, J. W.; SHOW, P. L.; LEE, K. T. The effect of stress environment towards lipid accumulation in microalgae after harvesting. **Renewable Energy**, v. 154, p. 1083–1091, 2020.

ROSA, G. M.; MORAES, L.; CARDIAS, B. B.; SOUZA, M. R. A. Z.; COSTA, J. A. V. Chemical absorption and CO₂ 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.; DE SOUZA, M. DA R. A. Z.; COSTA, J. A. V. *Spirulina* cultivation with a CO₂ 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 CO₂ fixation and macromolecule production. **Bioresource Technology**, v. 261, p. 206–212, 2018.

ROSA, G. M.; MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Biomolecule concentrations increase in *Chlorella fusca* LEB 111 cultured using chemical absorbents and nutrient reuse. **Bioenergy Research**, v. 15, n. 1, p. 131–140, 2022.

SAMARAKOON, P. A. G. L.; ANDERSEN, N. H.; PERINU, C.; JENS, K. J. Equilibria of MEA, DEA and AMP with bicarbonate and carbamate: A Raman study. **Energy Procedia**, v. 37, n. 1876, p. 2002–2010, 2013.

SUN, S.; HU, D.; CHEN, J.; LIU, T.; ZHAO, L. Effects of carbon nanofiber on the dissolution and diffusion of CO₂ in polypropylene nanocomposites. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 94, p. 252–260, 2014.

SUN, Z.; ZHANG, D.; YAN, C.; CONG, W.; LU, Y. Promotion of microalgal biomass production and efficient use of CO₂ from flue gas by monoethanolamine. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 90, n. 4, p. 730–738, 2015.

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, 2019a.

VAZ, B. S.; MASTRANTONIO, D. J. S.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. Green alga cultivation with nanofibers as physical adsorbents of carbon dioxide: Evaluation of gas biofixation and macromolecule production. **Bioresource Technology**, v. 287, 2019b.

VAZ, B.S.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. Physical and biological fixation of CO₂ with polymeric nanofibers in outdoor cultivations of *Chlorella fusca* LEB 111. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 151, p. 1332–1339, 2020.

VO HOANG NHAT, P.; NGO, H. H.; GUO, W. S.; Chang, S.W.; Nguyen, D. D.; Nguyen, P. D.; Buic, X. T.; Zhang, X B.; Guo, J. B. Can algae-based technologies be an affordable green process for biofuel production and wastewater remediation? **Bioresource Technology**, v. 256, p. 491–501, 2018.

WEI, M.; HUANG, A. C.; SHU, C. M.; ZHANG, L. Thermal Decomposition and Nonisothermal Kinetics of Monoethanolamine Mixed with Various Metal Ions. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–9, 2019.

YAN, Z.; WU, M.; HU, B.; Yao, M.; Zhang, L.; Lu, Q.; Pang, J. Electrospun UiO-66/polyacrylonitrile nanofibers as efficient sorbent for pipette tip solid phase extraction of phytohormones in vegetable samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1542, p. 19–27, 2018.

ZARROUK, C. Contribution à l'étude d'une cyanophycée. Influence de Divers Facteurs Physiques et Chimiques Sur la Croissance et la Photosynthèse de *Spirulina maxima*. **Ph.D. Thesis, Université De Paris, Paris. - References - Scientific Research Publishing**, p. 1966, 1966.

CAPÍTULO III

ARTIGO II: ANÁLISE GLOBAL DA DEMANDA E UTILIZAÇÃO DE CO₂ EM CULTIVO DE MICROALGA EM REATOR *RACEWAY* EM ESCALA PILOTO

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a demanda de CO₂ em reator *raceway* em escala piloto (80 m²) em função das condições ambientais. Os resultados demonstraram que a demanda de CO₂ é função direta da produtividade da biomassa, sendo principalmente função da radiação solar e da temperatura. A demanda de carbono variou de 7 a 20 g m⁻²·d⁻¹ do inverno ao verão, e de 0,0 a 0,06 L_{CO2} m⁻²·min⁻¹ da noite ao meio-dia. Neste projeto, os resultados demonstram que o fosso adequadamente projetado permitiu transferir de forma otimizada o carbono (CO₂) da fase gasosa para a fase líquida. Mais de 80% de eficiência foi medida independentemente das condições ambientais. No entanto, a fixação de CO₂ pela biomassa variou de 49 a 69%. As maiores perdas corresponderam ao carbono inorgânico removido com o sobrenadante e a descarbonização no canal, representando até 35% do total de carbono fornecido. Ao comparar os valores experimentais com os obtidos no modelo, confirmou-se que foi injetado mais CO₂ do que o esperado para ajustar o pH do cultivo. Assim, o modelo pode ser utilizado para analisar o consumo de CO₂ de qualquer *raceway*, bem como otimizar as condições de operação para reduzir seus custos de produção.

Palavras-chave: CO₂. Condições ambientais. Microalga. *Raceway*. Radiação solar. Temperatura.

1 INTRODUÇÃO

As microalgas são capazes de fornecer inúmeros compostos e com grande variedade de aplicações: desde nutracêuticos ou alimentos funcionais, até tratamento de efluentes e redução de CO₂ (ARAÚJO et al., 2021). Esses microrganismos podem assimilar diferentes fontes de carbono inorgânico (CO₂, HCO₃⁻) e transformá-los em moléculas orgânicas complexas, como proteínas, carboidratos e ácidos graxos (CHANG et al., 2016). A produção de microalgas requer uma grande quantidade de carbono inorgânico. De acordo com a equação básica da fotossíntese, são necessários até 1,8 kg de CO₂ para produzir 1 kg de biomassa de microalgas. Se produzido usando o ar ambiente como fonte de carbono, a produtividade máxima que pode ser alcançada usando reatores *raceway* é em torno de 5 g·m⁻²·d⁻¹ (SUTHERLAND et al., 2014). Este valor é muito inferior à produtividade máxima de biomassa do reator industrial, que pode chegar a até 30 g·m⁻²·d⁻¹ quando CO₂ puro é introduzido no sistema sob demanda (QUIROZ-ARITA et al., 2020).

Tanto a produtividade da biomassa quanto a eficiência de utilização do CO₂ dependem das características do reator (projeto e condições operacionais) e fatores ambientais (radiação solar e temperatura). Mais de 95% da produção de algas do mundo é realizada usando reatores *raceway*. As principais razões incluem seus baixos custos de construção, facilidade de ampliação e baixos requisitos energéticos (CAIA et al., 2018). Esses reatores apresentam algumas limitações, como alto risco de contaminação e baixa produtividade, esta última atribuída ao uso ineficiente da luz (BARCELÓ-VILLALOBOS et al., 2019a) e falta de controle eficiente das variáveis.

A produção de biomassa em condições externas é função de mudanças nas condições ambientais, como temperatura e radiação solar (MEHAR et al., 2019). A variável mais facilmente controlada em reatores *raceway* é o pH, geralmente controlado por injeção de CO₂ sob demanda. Para otimizar a eficiência de utilização de CO₂, a transferência de massa da fase gasosa para a fase líquida deve ser suficiente para satisfazer as exigências das culturas (SANTOS et al., 2016). Em reatores *raceway*, a profundidade da cultura geralmente varia entre 0,15 e 0,30 m. O tempo de residência do gás injetado na cultura está negativamente correlacionado com a profundidade das culturas e a capacidade de transferência de massa do sistema (DE GODOS et al., 2014; PAWLOWSKI et al., 2014). Para resolver este

problema, diferentes sistemas de injeção de CO₂ têm sido propostos, sendo a utilização de fosso o mais amplamente implementado. Essa estratégia permite aumentar o tempo de residência dos gases na cultura, assim, maior quantidade total de CO₂ é transferida para o líquido. Embora o uso de reatores *raceway* com fosso seja uma prática comum, o número de estudos avaliando seu desempenho em larga escala é muito limitado. Além disso, o efeito das condições ambientais na demanda de CO₂ das culturas de microalgas raramente é relatado.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de utilização de CO₂ em reator *raceway* em função das variações horárias e anuais dos parâmetros da cultura e comparar as respostas com modelos matemáticos previamente existentes.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 MICRORGANISMO E MEIO DE CULTIVO

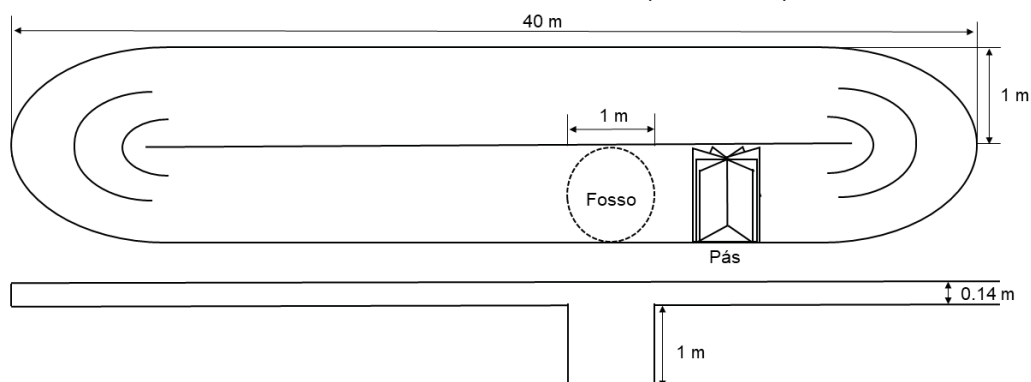
A microalga utilizada neste estudo foi *Scenedesmus almeriensis* (CCAP 276/24), que é uma cepa altamente produtiva e robusta que mostrou potencial para ser produzida em larga escala (MORILLAS-ESPAÑA et al., 2020). O meio de cultura utilizado foi Mann & Myers (FERNÁNDEZ et al., 2012), formulado com fertilizantes (g·L⁻¹): K₂PO₄ (0,14), MgSO₄ (0,18), NaNO₃ (0,9), e 0,02 Karentol® (Kenogard, Barcelona, Spain), composto por boro, cobre, ferro, manganês, molibdênio e zinco.

2.2 PRODUÇÃO DE BIOMASSA

A produção de biomassa foi realizada em reator *raceway* em escala piloto (FIGURA 1) localizado nas instalações do IFAPA (*Instituto Andaluz de Investigación y Formación Agrária, Pesquera, Alimentaria y de la Producción Ecológica*, Almería, Espanha). O reator é composto por dois canais de 40 m de comprimento e 1,0 m de largura conectados por curvas de 180°, com área total de 80 m². O reator foi equipado com um fosso de 0,65 m³ (1 m de diâmetro x 1 m de profundidade) localizado 1,8 m a jusante das pás. Os canais foram confeccionados em polietileno de baixa densidade de 3 mm de espessura enquanto as curvas e fossa foram feitas de polietileno de alta

densidade de 3 mm de espessura. A mistura do cultivo foi realizada por pás de aço inoxidável com diâmetro de 1,5 m acionada por motor elétrico (W12 35 kW, 1.500 rpm, Ebarba, Barcelona, Espanha) com redução de engrenagem (WEB Iberica, S.A., Barcelona, Espanha). A velocidade das pás foi controlada com inversor de frequência (CFW 08 WEB Ibérica, S.A., Barcelona, Espanha) e mantida constante a velocidade de $0,2 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$. A carbonatação foi realizada no fosso, onde o CO_2 puro foi injetado usando três placas difusoras de membrana localizadas na parte inferior (AFD 270, EcoTec, Espanha).

FIGURA 1- (A) ESQUEMA DO REATOR (VISTA SUPERIOR E LATERAL). (B) IMAGEM DO RACEWAY UTILIZADO DURANTE OS EXPERIMENTOS, LOCALIZADO NO CENTRO DE PESQUISA IFAPA EM ALMERÍA (ESPAÑA)



O inóculo foi produzido utilizando fotobiorreator tubular de $3,0 \text{ m}^3$ sob condições controladas de pH, temperatura e concentração de oxigênio dissolvido. Para inoculação, 5 m^3 de meio de cultura fresco foram introduzidos no reator seguido de 3 m^3 de inóculo. Finalmente, o reator *raceway* foi completado com meio fresco até a profundidade de cultivo de 0,14 m (volume total de $11,85 \text{ m}^3$). A concentração inicial

de biomassa foi de $0,2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$. O reator foi operado em modo descontínuo até atingir concentração de biomassa de $1,0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$. Em seguida, o reator foi operado em modo semi-contínuo com taxa de diluição de $0,2 \text{ d}^{-1}$, ideal para reatores *raceway* no sul da Espanha (MORILLAS-ESPAÑA et al., 2020). A evaporação foi compensada pela adição diária de água fresca e o reator foi operado 24 horas por dia.

A temperatura da cultura não foi controlada e variou conforme a temperatura ambiente e a radiação solar. O pH 8,0 foi mantido constante por injeção sob demanda de CO_2 puro no fosso durante o dia (MORALES-AMARAL et al., 2015). A vazão de CO_2 foi monitorada por medidores de vazão (PF3W SMC, Alemanha) e regulada por válvulas solenóides *On/Off*, ativadas automaticamente a partir de um Controle Supervisório e Aquisição de Dados (SCADA). O reator foi equipado com sondas de pH e temperatura (pH5083T, Crison, Espanha), conectadas a um multímetro (MM44, Crison, Espanha) e software (LabView, National Instruments) para aquisição e controle de dados.

Os dados foram obtidos de três dias representativos por estação do ano (durante 2020), observando as variáveis de temperatura e radiação solar. As medições da temperatura ambiente e da radiação solar foram feitas a cada segundo. As medições de temperatura do cultivo, pH, oxigênio dissolvido (OD) e fluxo de CO_2 do cultivo foram tomadas e registradas a cada 10 s.

2.3 CONCENTRAÇÃO E PRODUTIVIDADE DE BIOMASSA

As culturas foram avaliadas diariamente por observações microscópicas (Leica, ICC50 HD, Alemanha) para verificar o estado da cultura. A concentração de biomassa na amostra diluída foi verificada por meio de medidas espectrofotométricas, sendo a absorbância monitorada em 680 e 750 nm (COSTACHE et al., 2015). A concentração de biomassa (C_b , $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) foi determinada por peso seco, medido por filtração a vácuo de 80 mL de cultivo através de filtros de $0,45 \mu\text{m}$, secos em estufa a 80°C por 24 h. A produtividade da biomassa (P_b , $\text{g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$) foi calculada como o produto da C_b pela taxa de diluição ($0,2 \text{ d}^{-1}$) (SANCHEZ-ZURANO et al., 2020).

2.4 BALANÇO DE MASSA DE CARBONO

Para determinar a eficiência de utilização de carbono, foi realizado um balanço de massa de carbono completo para o reator. Diferentes parâmetros foram considerados para analisar a eficiência de fornecimento de carbono no sistema, tais como: injeção de gás CO_2 (entrada de C- CO_2), Carbono Inorgânico Total contido no meio de cultura (CIT), CO_2 consumido no fosso (CO_2 -fosso), consumo por descarbonização (descarbonização de CO_2), carbono consumido pela produção de biomassa (C-biomassa) e o carbono perdido no sobrenadante (C-sobrenadante) no processo de colheita da biomassa.

2.4.1 Entrada de massa de carbono

Dois fatores foram analisados como fonte de entrada de carbono: entrada C- CO_2 e CIT no meio de cultura. Os registros de injeções de gás ($L_{\text{CO}_2} \text{ min}^{-1}$) foram analisados e transformados em gramas de carbono por dia usando a conversão do peso molar e a Lei dos gases ideais. O CIT foi estimado de acordo com as dimensões do reator, onde 95% do carbono é matéria inorgânica.

2.4.2 Saída de massa de carbono

A saída de massa de carbono foi analisada de acordo com o consumo de carbono que ocorre em diferentes seções do processo de cultivo de microalgas:

1. O carbono assimilado no fosso (CO_2 -fosso). Leva em consideração a quantidade de CO_2 consumida pelo reator ($L_{\text{CO}_2} \text{ min}^{-1}$) e a eficiência do fosso (90%).
2. O carbono consumido para produzir biomassa (C-biomassa). Relaciona a produtividade de biomassa ($\text{g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$), área do reator (m^2), taxa de carbono por biomassa ($1,2 \text{ kg}_{\text{carbono}} \text{ kg}_{\text{biomassa}}^{-1}$) e a proporção média de carbono na biomassa microalgal (45%).
3. O carbono liberado por aspersão (saída do fosso de CO_2) refere-se ao carbono obtido pela diferença entre a entrada de carbono no sistema (entrada de C-

CO₂) e o carbono assimilado no fosso (CO₂-fosso), todos multiplicados pela taxa C/CO₂ (0,27).

4. A saída de carbono no sobrenadante da cultura colhida (C-sobrenadante) refere-se ao CIT multiplicado pela razão.

5. O carbono liberado pelo processo de descarbonização (CO₂-descarbonização). Leva-se em consideração um balanço entre o carbono introduzido no sistema pela injeção de gás CO₂, o carbono do meio de cultura e a saída (fosso, biomassa e sobrenadante).

Para determinar a eficiência de utilização de carbono foi realizado um balanço de massa completo para o reator. A **entrada pela injeção de CO₂** é medida diariamente, a cada 10 segundos, pelo sistema. A **entrada do meio de cultura** está relacionada ao carbono inorgânico total, sendo 95% do carbono inorgânico. A **entrada de CO₂ no fosso** é calculada a partir do CO₂ que entra considerando 90% de eficiência do reservatório. A **saída na biomassa** é considerada como tendo 45% de composição de carbono. A **descarbonização** é todo o carbono não transferido para o meio/biomassa. O **carbono no sobrenadante** relaciona a entrada de CO₂ em cada estação com a entrada no inverno, onde se observa o menor consumo. A **eficiência fotossintética** é calculada a partir da relação entre produtividade de biomassa e radiação solar, considerando o calor de combustão da biomassa como 20 MJ kg⁻¹ (ACIÉN et al., 2012).

2.5 MODELO DE DEMANDA DE CO₂

Para determinar a demanda de CO₂ do sistema, foram utilizados modelos previamente reportados (MORALES-AMARAL et al., 2015; IPPOLITI et al., 2016). O primeiro modelo estima a demanda de CO₂ pela fotossíntese em função da irradiância média (I_{av} , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). I_{av} é calculada em função da irradiância na superfície da cultura (I_0 , $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$), coeficiente de extinção de biomassa (K_a , $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$), concentração de biomassa (C_b , g L^{-1}) e o caminho da luz dentro do reator (p , m) (Equação 1). A demanda de CO₂ aumenta hiperbolicamente com a irradiância média ($PCO_2(I_{av})$), conforme definido pela Equação 2, valores de n e I_k sendo 2 e 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectivamente e Q_{CO_2} (L min^{-1}) o fluxo de CO₂ que entra no fosso (BARCELÓ-VILLALOBOS et al., 2019b). Como o desempenho da fotossíntese é influenciado

pelas condições das culturas (como temperatura e pH). Equações que consideram esses efeitos são incluídas no modelo ($\overline{PCO2}(T)$, Equação 3) e ($\overline{PCO2}(pH)$, Equação 4) (IPPOLITI et al., 2016). $T_{ótima}$ e $pH_{ótimo}$, são a temperatura e o pH ótimos para *S. almeriensis*, considerados 25 °C e 8, respectivamente. O modelo final de demanda de CO_2 ($PCO2(lav, T, pH)$) é o resultado da multiplicação entre os fatores de irradiância, temperatura e pH (Equação 5).

$$I_{av} = \frac{I_0}{K_a \cdot C_b \cdot p} (1 - \exp(-K_a \cdot C_b \cdot p)) \quad \text{Equação 1}$$

$$PCO2(I_{av}) = \frac{Q_{CO2_{máx}} \cdot I_{av}^n}{I_k^n + I_{av}^n} \quad \text{Equação 2}$$

$$\overline{PCO2}(T) = \quad \text{Equação 3}$$

$$\frac{(T - T_{máx})(T - T_{mín})^2}{(T_{ótima} - T_{mín})[(T_{ótima} - T_{mín})(T - T_{ótima}) - (T_{ótima} - T_{máx})(T_{ótima} + T_{mín} - 2T)]}$$

$$\overline{PCO2}(pH) = \quad \text{Equação 4}$$

$$\frac{(pH - pH_{máx})(pH - pH_{mín})^2}{(pH_{ótimo} - pH_{mín})[(pH_{ótimo} - pH_{mín})(pH - pH_{ótimo}) - (pH_{ótimo} - pH_{máx})(pH_{ótimo} + pH_{mín} - 2pH)]}$$

$$PCO2(lav, T, pH) = PCO2(I_{av}) \cdot \overline{PCO2}(T) \cdot \overline{PCO2}(pH) \quad \text{Equação 5}$$

2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

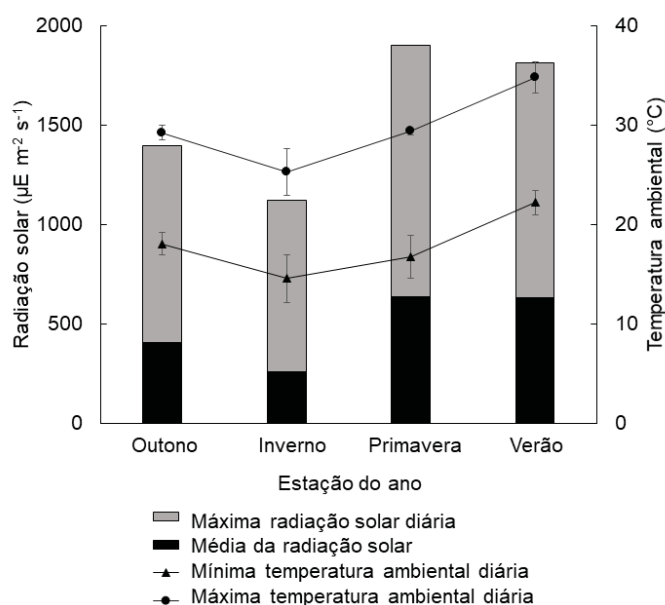
A análise estatística foi realizada por meio do *Statgraphics Centurion* 18. As diferenças entre os parâmetros da cultura avaliada foram analisadas por meio da análise de variância (ANOVA). A comparação de Tukey par a par das médias foi realizada para identificar onde ocorreram as diferenças amostrais, com significância estatística quando $p < 0,05$. Para identificar as relações entre as diferentes variáveis, foi realizada a análise PCA (*Principal Component Analysis*).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 INFLUÊNCIA DAS CONDIÇÕES AMBIENTAIS NA DEMANDA DE CO₂

As condições ambientais têm efeito marcante no desempenho das células de microalgas, determinando a demanda de CO₂ das culturas. A luz é o parâmetro mais importante na modelagem do crescimento de microalgas por ser uma fonte de energia para a fotossíntese (DARVEHEI et al., 2018). A disponibilidade de luz depende da localização e do projeto do reator (FERNÁNDEZ et al., 2016). Além disso, as culturas de microalgas ao ar livre estão expostas a diferentes condições ambientais diárias e sazonais que afetam a disponibilidade de luz. A radiação solar máxima em Almería (Espanha) é alta durante todo o ano, variando de 1120 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ no inverno a 1900 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ no verão (FIGURA 2). A primavera teve dias levemente nublados e valores médios de radiação solar de até 950 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Os dias nublados eram mais comuns no outono. A taxa de fotossíntese de *S. almeriensis* apresenta valores máximos ($3,5 \times 10^{-5} \text{ mol O}_2 \text{ g}_{\text{biomassa}}^{-1} \text{ min}^{-1}$) quando a radiação solar varia entre 400 e 1000 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (COSTACHE et al., 2013).

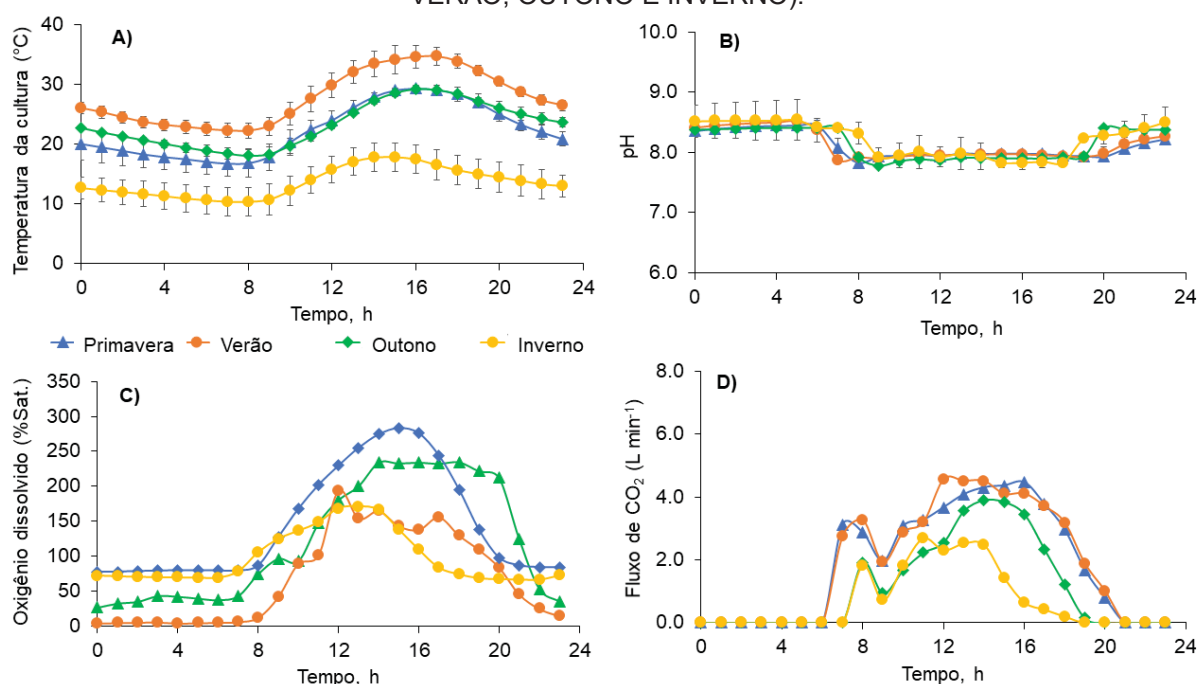
FIGURA 2- RADIAÇÃO SOLAR ($\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$) E TEMPERATURA AMBIENTE ($^{\circ}\text{C}$) EM FUNÇÃO DA ESTAÇÃO (OUTONO, INVERNO, PRIMAVERA E VERÃO).



São apresentados valores médios $\pm$ desvio padrão das máximas/mínimas de temperatura considerando 3 dias homogêneos (com radiação solar e temperaturas típicas) de cada estação. Os valores de radiação solar consideram apenas as horas de luz de 3 dias homogêneos de cada estação.

A temperatura nesta região é moderada a alta durante todo o ano. Temperaturas ambientais médias de $11,5 \pm 3,2$ °C foram observadas no inverno e $24,9 \pm 0,9$ °C no verão. No entanto, as temperaturas máximas ultrapassaram os 30 °C no verão (FIGURA 2). De acordo com Costache et al. (2013), a taxa fotossintética máxima ocorre a 35 °C e diminui lentamente até a temperatura de 10 °C. Acima de 35 °C, a taxa de fotossíntese reduz drasticamente, com a morte celular ocorrendo a 52 °C. Sob condições nutricionais adequadas, os principais fatores que influenciam na taxa de fotossíntese são: irradiância, temperatura, pH e concentração de oxigênio dissolvido (FALKOWSKI; OLIVER, 2007). No inverno e no verão, os valores máximos de temperatura da cultura foram $17,8 \pm 2,4$ °C e $34,7 \pm 1,6$ °C, respectivamente (FIGURA 3A) e $29,6 \pm 0,3$ °C, na primavera e no outono. À noite, a temperatura foi reduzida em cerca de 8 °C no inverno e 12 °C no resto do ano. A temperatura da cultura variou da temperatura ambiente em aproximadamente 2-5 °C na primavera e no verão, respectivamente. Variações semelhantes foram relatadas em estudos anteriores (BARCELÓ-VILLALOBOS et al., 2018, MORILLAS-ESPAÑA et al., 2020). No geral, não foi observado superaquecimento da cultura.

FIGURA 3- VARIAÇÃO DA TEMPERATURA DE CULTIVO, pH, OXIGÊNIO DISSOLVIDO E FLUXO DE CO₂ NO CULTIVO DE MICROALGAS EM FUNÇÃO DA ESTAÇÃO DO ANO (PRIMAVERA, VERÃO, OUTONO E INVERNO).



O pH na faixa de 7,0 a 9,0 não tem grande influência na taxa fotossintética. A taxa fotossintética máxima de *Scenedesmus* ocorre em pH 8 (COSTACHE et al., 2013). No entanto, desvios de pH de curta duração devido a perturbações da cultura ou condições ambientais reduzem fortemente o desempenho desta microalga (RODRÍGUEZ-MIRANDA et al., 2020). Em cultivos de *Spirulina*, o pH permaneceu constante durante o outono, inverno e primavera, mesmo sem algum mecanismo de controle do pH. No verão, o pH aumenta naturalmente, mostrando que as condições ambientais influenciam nessa variável (JIMÉNEZ et al., 2003). O pH foi controlado durante o dia, confirmando a adequação do sistema de controle utilizado e aumentou para aproximadamente 8,5 durante a noite (FIGURA 3B). Essa tendência foi observada durante todas as estações. A produção de *Scenedesmus* exigiu mais CO₂ no verão e na primavera para manter o pH sob controle. Isso se deve principalmente às condições de temperatura e radiação solar que permitiram aumentar a taxa de crescimento do microrganismo.

Altas concentrações de oxigênio dissolvido foram observadas anteriormente em reatores *raceway*. O cultivo de *Spirulina* em *raceway* de 450 m² apresentou grande variabilidade de oxigênio dissolvido ao longo do ano, com valores mínimos de 1,01 mgO₂ L⁻¹ (115% Sat.) no inverno a 33 mgO₂ L⁻¹ (375% Sat.) no verão (JIMÉNEZ et al., 2003). Cultivo de *Scenedesmus* em *raceway* de 100 m² acumulou 70% Sat. de oxigênio dissolvido durante a noite e 204% Sat. durante o período de luz, com valores diários de radiação de 1200 µE m⁻² s⁻¹ (BARCELÓ-VILLALOBOS et al., 2019a). O acúmulo de O₂ em reatores *raceway* pode ocorrer devido à baixa transferência de massa gás-líquido por sua geometria e condições operacionais, além de alta radiação solar que pode aumentar a fotorrespiração (KAZBAR et al., 2019). Os baixos valores de produtividade de biomassa podem estar relacionados à fotorrespiração, processo no qual ocorre o consumo de oxigênio dependente da luz e a produção de CO₂ (MENDOZA et al., 2013; MORONEY et al., 2013). No presente estudo, os valores de oxigênio dissolvido variaram ao longo do ano. A menor produção de oxigênio foi observada no inverno (máximo 15 mgO₂ L⁻¹, 171% Sat.) e verão (máximo 17,1 mgO₂ L⁻¹, 194% Sat.). O valor máximo de oxigênio dissolvido foi no outono (24,9 mgO₂ L⁻¹, 283% Sat.). O acúmulo de oxigênio nas condições analisadas no presente estudo parece ter menor influência do que as demais variáveis (temperatura, radiação solar e pH) na produtividade de biomassa.

O controlador *On/Off* é um tipo simples e eficaz de controle *feedback*. O algoritmo utilizado faz com que o gás seja injetado de acordo com a demanda biológica do sistema (FERNÁNDEZ et al., 2012; PAWLOWSKI et al., 2014). A injeção de CO₂ sob demanda permite a manutenção do pH no valor ideal para a cepa e a otimização do crescimento de microalgas (GALÈS et al., 2020). Além disso, outro objetivo do uso de injeção de CO₂ sob demanda é fornecer o carbono necessário para o crescimento de microalgas (MEHAR et al., 2019). A entrada de CO₂ no outono ocorreu entre 8 h e 19 h (11 horas de luz solar), entre 8 h e 17 h no inverno (9 horas de luz solar) e entre 7 h e 20 h no verão e primavera (13 horas de luz solar). As estações mais quentes têm mais horas de luz solar e, portanto, as reações fotossintéticas das microalgas ocorrem durante um período de tempo mais longo (FIGURA 3D). Nas primeiras horas do dia, a entrada de CO₂ tem valores máximos de 115 g m⁻² d⁻¹ no verão e primavera, e 65 g m⁻² d⁻¹ no inverno e outono. Isso é necessário para reduzir o pH para 8, após o valor de pH subir para 8,5 com o sistema de controle desligado durante a noite. A demanda de CO₂ variou durante o dia em função da radiação solar e da temperatura. Os valores máximos foram alcançados entre meio-dia e 16 h. A demanda horária máxima de CO₂ variou entre as estações de $3,9 \pm 0,9$ g m⁻² h⁻¹ a $6,7 \pm 0,5$ g m⁻² h⁻¹ no inverno e no verão, respectivamente. Considerando que as válvulas *On/Off* foram utilizadas para fornecer CO₂ com vazão constante de 10 L min⁻¹, significa que as válvulas operaram entre 27 e 45% de sua capacidade de abertura nessas condições.

Trabalhos anteriores demonstraram que em reator *raceway* de 50 m² com taxa de transferência de CO₂ de 10,4 g m⁻² d⁻¹, assumindo uma eficiência de uso de 90% de CO₂, a produtividade de biomassa foi de 17,5 g m⁻² d⁻¹ (DE GODOS et al., 2014). A demanda de CO₂ de reatores *raceway*, em um cenário de produtividade ótima, é estimada em 10 g_{CO2} m⁻² h⁻¹, o que corresponde a uma produtividade de biomassa de 25 g m⁻² d⁻¹. Assumindo que são necessários 1,8 g de CO₂ para produzir 1 g de biomassa, e a produtividade está concentrada nas cinco horas centrais do dia (DE GODOS et al., 2014). No presente estudo, considerando essas premissas, estimou-se a produção de 9,8 a 16,8 g_{biomassa} m⁻² d⁻¹. No entanto, a produtividade de biomassa obtida foi de 38% a 27% superior ao estimado no inverno e no verão, respectivamente.

Os valores de Fv/Fm variaram entre 0,60 e 0,70 (FIGURA 4), dentro da faixa ideal para qualquer microalga. Esses valores indicam que a cultura não está sob nenhuma condição de estresse. Encontra-se em condições ótimas de disponibilidade

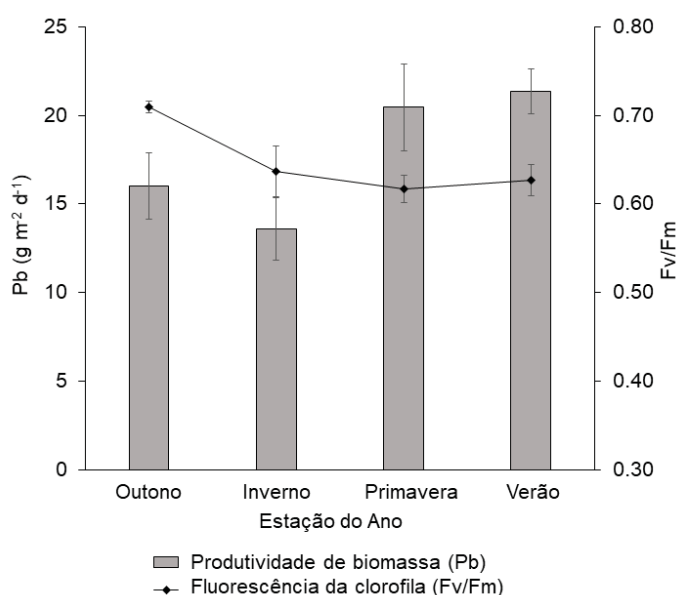
de luz e nutrientes (MORILLAS-ESPAÑA et al., 2020). A primavera e o verão apresentam valores de F_v/F_m menores em relação ao outono e inverno ($0,62 \pm \leq 0,05$, $0,63 \pm \leq 0,05$, $0,64 \pm \leq 0,05$ e $0,71 \pm \leq 0,05$, respectivamente), provavelmente devido à maior disponibilidade de luz, que afeta levemente os fotossistemas. No entanto, o valor de F_v/F_m ainda está dentro do ideal. Isso demonstra que *S. almeriensis* é altamente resistente às flutuações sazonais de temperatura e radiação, como mostrado em outros estudos (MORILLAS-ESPAÑA et al., 2020).

Valores de produtividade de biomassa entre $7\text{--}20 \text{ g m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ podem ser alcançados dependendo da estação (irradiância e temperatura) pela microalga *Scenedesmus* em reatores *raceway* (MORILLAS-ESPAÑA et al., 2020). Normalmente, a maioria das espécies de microalgas apresenta valores máximos de produtividade de biomassa durante o verão que diminui progressivamente durante o outono até atingir um mínimo no inverno. Na primavera, a concentração de células começa a aumentar novamente (JIMÉNEZ et al., 2003). Temperaturas entre 30 e 40 °C e radiação solar acima $1300 \mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ favorecem a produção de biomassa (SÁNCHEZ et al., 2008a). A produtividade de biomassa no verão e na primavera foi de $21,3 \pm 1,3 \text{ g m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ e $20,5 \pm 2,4 \text{ g m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$, respectivamente, e $16,0 \pm 1,9 \text{ g m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ e $13,6 \pm 1,8 \text{ g m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ no outono e inverno, respectivamente (FIGURA 4). A produtividade média anual de biomassa que pode ser esperada do sistema é de $0,13 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ a taxa de diluição de 30%, para o volume total de cultura de $11,85 \text{ m}^3$ (MORILLAS-ESPAÑA et al., 2020).

A demanda de CO_2 por unidade de superfície variou de 75,3 a 28,3 $\text{gCO}_2 \text{ m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$. A razão CO_2 -biomassa foi de 2,9 e 1,7 $\text{gCO}_2 \text{ g}_{\text{biomassa}}^{-1}$ no verão e no inverno, respectivamente. Esses valores eram esperados, visto que são necessários cerca de 1,8 $\text{gCO}_2 \text{ g}_{\text{biomassa}}^{-1}$. A produção de *S. almeriensis* em reatores tubulares de $2,5 \text{ m}^3$ com 75% de eficiência de uso de CO_2 exigiu 2,3 g de CO_2 por g de biomassa (ACIÉN et al., 2012). Independentemente do tipo de reator utilizado, deve-se fornecer CO_2 suficiente para a produção de biomassa adequada considerando a eficiência do sistema na conversão de substrato em produto (SANTOS et al., 2016). No geral, maior eficiência fotossintética foi obtida no outono/inverno quando comparada à primavera/verão. A maior concentração de biomassa reduz a disponibilidade de luz, e a alta radiação solar na região durante a primavera/verão, não permite que a microalga absorva toda a luz que chega à cultura. De fato, a eficiência fotossintética em reatores *raceway* nestas condições varia entre 4 a 6% (MORILLAS-ESPAÑA et al., 2020). No

presente estudo, os valores de eficiência fotossintética variaram de 1,0 a 1,2% da primavera ao inverno, respectivamente. Mesmo que a eficiência fotossintética seja inferior ao esperado para as condições de cultivo, a produtividade da biomassa é semelhante aos valores obtidos em outros estudos com *S. almeriensis* (MORILLAS-ESPAÑA et al., 2020; SÁNCHEZ-ZURANO et al., 2021).

FIGURA 4- PRODUTIVIDADE DE BIOMASSA E FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA (Fv/Fm) DO CULTIVO DA MICROALGA *Scenedesmus almeriensis*

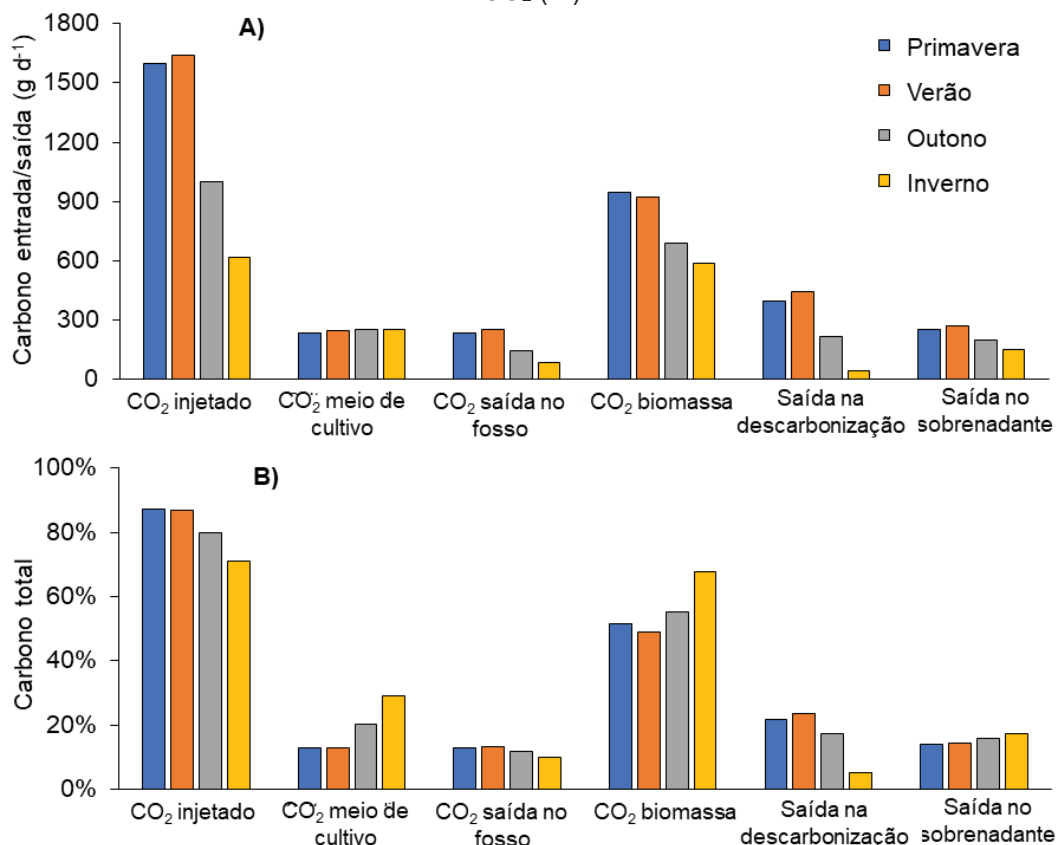


3.2 BALANÇO DE CARBONO NO REATOR

O fornecimento de CO₂ apenas durante o dia pode aumentar a demanda de gás para controlar o pH após o aumento do valor que ocorre à noite. Em consequência, nem todo CO₂ é utilizado pelas microalgas, gerando perdas (RODRÍGUEZ-MIRANDA et al., 2020). A minimização das perdas de CO₂ para a atmosfera também reduz o custo operacional em escala industrial (CAIA et al., 2018). Para analisar os fenômenos gerais que ocorrem no reator, os fluxos gerais de carbono no reator *raceway* foram analisados. No inverno, a demanda de carbono foi inferior a 7,7 g m⁻² d⁻¹, enquanto a primavera e o verão atingiram 20 g m⁻² d⁻¹ (FIGURA 5A). A demanda de carbono no verão pode ser até 2,8 vezes maior do que no inverno (SANTOS et al., 2016). A resposta à essas condições ambientais pode ser devido a

um metabolismo celular mais lento, o que leva à redução da atividade fotossintética e consequentemente menor demanda de CO_2 .

FIGURA 5- DESEMPENHO GERAL DO REATOR RACEWAY EM TERMOS DE CO_2 EM FUNÇÃO DA ESTAÇÃO DO ANO. (A) ENTRADAS E SAÍDAS DE CO_2 (g d^{-1}); (B) EFICIÊNCIA DE CO_2 (%).



A transferência de CO_2 para a cultura (eficiência do fosso) foi em torno de 90% (FIGURA 5B). As perdas no canal foram maiores no inverno. Essas perdas de até 30% ocorreram porque o excesso de CO_2 que não foi assimilado pela biomassa (e que não foi liberado para a atmosfera) permaneceu dissolvido no meio e foi removido durante a colheita. De acordo com De Godos et al. (2014), as maiores perdas de carbono ocorrem pela fase líquida, até 25% do carbono total que entra no sistema. Em pistas de 100 m^2 , o carbono fornecido ao fosso representa 86% do aporte de carbono. A perda de carbono para a atmosfera foi de 22% enquanto 48% foi removido com a biomassa. No fosso, as perdas de carbono representam 14% do total (SANTOS et al., 2016). Maior quantidade de CO_2 pode levar a maiores perdas nos canais devido à saturação do meio. Para reduzir essas perdas, o sobrenadante após a colheita das células pode ser reciclado para devolver os nutrientes não consumidos

e o carbono de volta ao reator, como proposto em sistemas de cultura em escala laboratorial (ROSA et al., 2015).

3.3 DESENVOLVIMENTO DO MODELO MATEMÁTICO

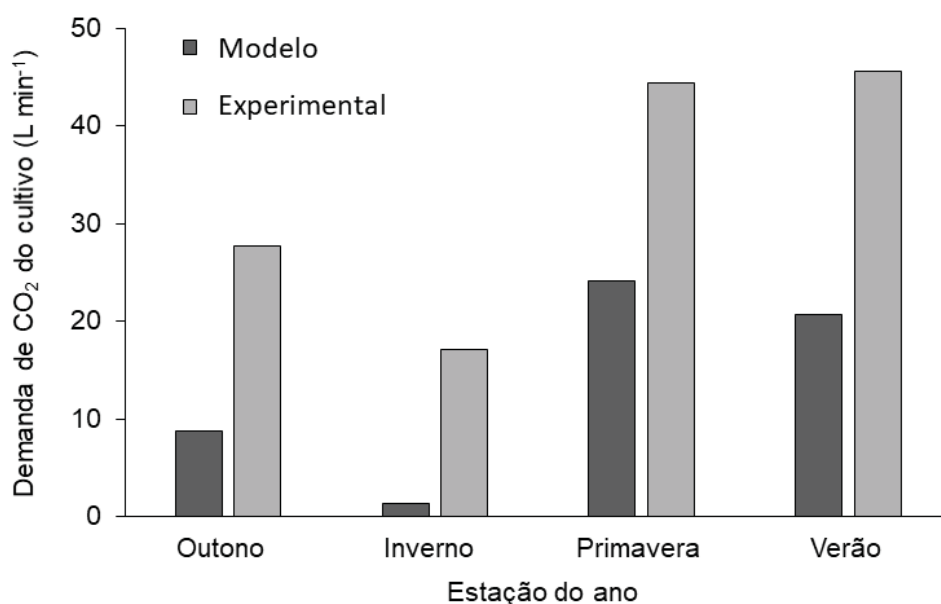
Ipoliti et al. (2016) observaram que temperatura, irradiância e pH são variáveis relevantes que determinam o desempenho da *Isochrysis T-iso* e validaram um modelo de fotossíntese e frequência respiratória para microalgas em fotobiorreatores tubulares de escala industrial. Pérez-López et al. (2017) demonstraram que o melhor desempenho da microalga *Nannochloropsis* sp. em reatores abertos, tanto em cenários hipotéticos quanto reais, é no verão devido aos maiores valores de temperatura e radiação solar. Os autores desse estudo ressaltam um ponto importante sobre o cultivo em reatores abertos ao ar livre: nas condições em que realizaram o estudo, durante o inverno na Holanda, o uso desse tipo de reator é inviável devido às fortes chuvas que aumentam muito a taxa de diluição associada ao baixo nível de radiação solar e baixa temperatura.

O modelo de demanda de CO₂ (PCO₂(Iav, T, pH)) demonstrou reproduzir a demanda de CO₂ do cultivo com base na análise das variáveis luz, temperatura e pH no reator *raceway*, ao longo do ano. Analisando o total de CO₂ injetado em um dia, o sistema injetou maiores quantidades de CO₂ (L min⁻¹) do que o modelo demanda (FIGURA 6).

A diferença ocorreu para manter o pH em seu valor ótimo (pH 8). A demanda experimental de CO₂ no inverno foi treze vezes maior do que o esperado pelo modelo. Isso pode ocorrer pela variação entre as temperaturas mínimas e máximas durante o dia que demandam mais atuação do metabolismo microalgal para manter seu crescimento. Na primavera e no verão, a demanda experimental de CO₂ foi duas vezes maior que o modelo e três vezes maior no outono. O modelo não seguiu exatamente o mesmo desenho da curva experimental porque, por exemplo, não considerou a elevação noturna do pH, o que consequentemente leva a um pico de injeção de CO₂ nas primeiras horas do dia. Esse aumento noturno ocorre porque o controle *On/Off* do pH só funciona durante o período de luz. De acordo com o modelo, a demanda máxima de CO₂ deve estar entre 0,23 e 2,36 L min⁻¹ (8,1-83,4 g m⁻² d⁻¹). Ajustes podem ser feitos às condições de crescimento para reduzir a demanda de

CO₂ e as perdas de carbono, por exemplo, o controle de pH durante os períodos diurno e noturno (RODRÍGUEZ-MIRANDA et al., 2020).

FIGURA 6- COMPARAÇÃO ENTRE A DEMANDA DIÁRIA DE CO₂, EXPERIMENTAL E MODELADA, EM DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO. A DEMANDA DE CO₂ FOI SIMULADA USANDO O MODELO PROPOSTO EM FUNÇÃO DOS VALORES HORÁRIOS DE RADIAÇÃO SOLAR, TEMPERATURA E pH NA CULTURA



Esses modelos dinâmicos com dados de diferentes estações do ano são importantes e necessários para o aprimoramento de reatores *raceway*, que representam 95% da produção mundial de microalgas (FERNÁNDEZ et al., 2016). A aclimação é uma característica importante das microalgas, pois as células tentam se adaptar às flutuações nas condições do processo. A grande variação de variáveis relevantes ao processo, como temperatura e luminosidade, faz com que as microalgas se adaptem bem a baixas intensidades de luz e caso sejam expostas a altas intensidades não utilizem a luz de forma tão eficiente. A análise de um período prolongado permite reduzir o problema de aclimação, pois a média não muda radicalmente, mas gradualmente entre as estações (DARVEHEI et al., 2018), como observado no presente estudo ao longo de um ano. O modelo é uma ferramenta útil para prever algumas respostas de fotobiorreatores e mostrar a eficiência da produção de microalgas em qualquer sistema. O modelo permite reduzir a quantidade de CO₂ injetada, seja a partir de um melhor controlador, ou até mesmo controlando o pH à

noite para evitar que o valor fique muito distante do *setpoint* e obter resultados iguais ou melhores no cultivo.

4 CONCLUSÃO

O controle do pH sob demanda de CO₂ é eficiente e as perdas do gás são mínimas, com até 87% de eficiência de uso do carbono pela microalga. A microalga *Scenedesmus almeriensis* manteve a produção de biomassa ao longo das diferentes estações do ano, com produtividade de biomassa de até 21 g m⁻² d⁻¹ no verão. A partir do modelo desenvolvido, que levou em consideração a radiação solar, pH e temperatura para prever a demanda de CO₂ do cultivo, observou-se que ajustes devem ser feitos na injeção de CO₂, pois, experimentalmente, o sistema injetou de duas (verão e primavera) a treze (inverno) vezes mais CO₂, do que teoricamente o cultivo necessitava segundo as condições ambientais avaliadas.

REFERÊNCIAS

ACIÉN, F. G.; FERNÁNDEZ, J. M.; MAGÁN, J. J.; MOLINA, E. Production cost of a real microalgae production plant and strategies to reduce it. **Biotechnology Advances**, v. 30, n. 6, p. 1344-1353, 2012.

ARAÚJO, R.; VÁZQUEZ CALDERÓN, F.; SÁNCHEZ LÓPEZ, J.; AZEVEDO, I. C.; BRUHN, A.; FLUCH, S.; GARCIA TASENDE, M.; GHADERIARDAKANI, F.; ILMJÄRV, T.; LAURANS, M.; MAC MONAGAIL, M.; MANGINI, S.; PETEIRO, C.; REBOURS, C.; STEFANSSON, T.; ULLMANN, J. Current Status of the Algae Production Industry in Europe: An Emerging Sector of the Blue Bioeconomy. **Frontiers in Marine Science**, v. 7, p. 1247, 2021.

BARCELÓ-VILLALOBOS, M.; FERNÁNDEZ-DEL OLMO, P.; GUZMÁN, J. L.; FERNÁNDEZ-SEVILLA, J. M.; ACIÉN FERNÁNDEZ, F. G. Evaluation of photosynthetic light integration by microalgae in a pilot-scale raceway reactor. **Bioresource Technology**, v. 280, p. 404–411, 2019a.

BARCELÓ-VILLALOBOS, M.; GUZMÁN SÁNCHEZ, J. L.; MARTÍN CARA, I.; SÁNCHEZ MOLINA, J. A.; ACIÉN FERNÁNDEZ, F. G. Analysis of mass transfer capacity in raceway reactors. **Algal Research**, v. 35, p. 91–97, 2018.

BARCELÓ-VILLALOBOS, M.; SERRANO, C. G.; ZURANO, A. S.; GARCÍA, L. A.; MALDONADO, S. E.; PEÑA, J.; FERNÁNDEZ, F. G. A. Variations of culture parameters in a pilot-scale thin-layer reactor and their influence on the performance of *Scenedesmus almeriensis* culture. **Bioresource Technology Reports**, v. 6, p. 190-197, 2019b.

CAIA, M.; BERNARD, O.; BÉCHET, Q. Optimizing CO₂ transfer in algal open ponds. **Algal Research**, v. 35, p. 530–538, 2018.

CHANG, H. X.; HUANG, Y.; FU, Q.; LIAO, Q.; ZHU, X. Kinetic characteristics and modeling of microalgae *Chlorella vulgaris* growth and CO₂ biofixation considering the coupled effects of light intensity and dissolved inorganic carbon. **Bioresource Technology**, v. 206, p. 231–238, 2016.

COSTACHE, T. A.; FERNÁNDEZ, F. G. A.; MORALES, M. M.; FERNÁNDEZ-SEVILLA, J. M.; STAMATIN, I.; MOLINA, E. Comprehensive model of microalgae photosynthesis rate as a function of culture conditions in photobioreactors. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 97, n. 17, p. 7627-7637, 2013.

DARVEHEI, P.; BAHRI, P. A.; MOHEIMANI, N. R. Model development for the growth of microalgae: A review. **Renewable & Sustainable Energy Reviews**, v. 97, p. 233–258, 2018.

DE GODOS, I.; MENDOZA, J. L.; ACIÉN, F. G.; MOLINA, E.; BANKS, C. J.; HEAVEN, S.; ROGALLA, F. Evaluation of carbon dioxide mass transfer in raceway reactors for microalgae culture using flue gases. **Bioresource Technology**, v. 153, p. 307–314, 2014.

FALKOWSKI, P. G.; OLIVER, M. J. Mix and match: how climate selects phytoplankton. **Nature Reviews Microbiology**, v. 5, n. 10, p. 813-819, 2007.

FERNÁNDEZ, I.; ACIÉN, F. G.; FERNÁNDEZ, J. M.; GUZMÁN, J. L.; MAGÁN, J. J.; BERENGUEL, M. Dynamic model of microalgal production in tubular photobioreactors. **Bioresource Technology**, v. 126, p. 172–181, 2012.

FERNÁNDEZ, I.; ACIÉN, F. G.; GUZMÁN, J. L.; BERENGUEL, M.; MENDOZA, J. L. Dynamic model of an industrial raceway reactor for microalgae production. **Algal Research**, v. 17, p. 67–78, 2016.

GALÈS, A.; TRIPLET, S.; GEOFFROY, T.; ROQUES, C.; CARRÉ, C.; LE FLOC'H, E.; LANFRANCHI, M.; SIMIER, M.; ROQUE D'ORBCASTEL, E.; PRZYBYLA, C.; FOUILLAND, E. Control of the pH for marine microalgae polycultures: A key point for CO₂ fixation improvement in intensive cultures. **Journal of CO₂ Utilization**, v. 38, p. 187–193, 2020.

IPPOLITI, D.; GÓMEZ, C.; MORALES-AMARAL, M.; PISTOCCHI, R.; FERNÁNDEZ-SEVILLA, J. M.; ACIÉN, F. G. Modeling of photosynthesis and respiration rate for *Isochrysis galbana* (T-Iso) and its influence on the production of this strain. **Bioresource Technology**, v. 203, p. 71-79, 2016.

JIMÉNEZ, C.; COSSÍO, B. R.; NIELL, F. X. Relationship between physicochemical variables and productivity in open ponds for the production of *Spirulina*: a predictive model of algal yield. **Aquaculture**, v. 221, p. 331-345, 2003.

KAZBAR, A.; COGNE, G.; URBAIN, B.; MAREC, H.; LE-GOUIC, B.; TALLEC, J.; TAKACHE, H.; ISMAIL, A.; PRUVOST, J. Effect of dissolved oxygen concentration on microalgal culture in photobioreactors. **Algal Research**, v. 39, p. 101432, 2019.

MEHAR, J.; SHEKH, A.; NETHRAVATHY, M. U.; SARADA, R.; CHAUHAN, V. S.; MUDLIAR, S. Automation of pilot-scale open raceway pond: A case study of CO₂-fed pH control on *Spirulina* biomass, protein and phycocyanin production. **Journal of CO₂ Utilization**, v. 33, p. 384–393, 2019.

MENDOZA, J. L.; GRANADOS, M. R.; DE GODOS, I.; ACIÉN, F. G.; MOLINA, E.; HEAVEN, S.; BANKS, C. J. Oxygen transfer and evolution in microalgal culture in open raceways. **Bioresource Technology**, v. 137, p. 188-195, 2013.

MORALES-AMARAL, M. DEL M.; GÓMEZ-SERRANO, C.; ACIÉN, F. G.; FERNÁNDEZ-SEVILLA, J. M. MOLINA-GRIMA, E. Outdoor production of *Scenedesmus* sp. in thin-layer and raceway reactors using centrate from anaerobic digestion as the sole nutrient source. **Algal Research**, v. 12, p. 99–108, 2015.

MORILLAS-ESPAÑA, A.; LAFARGA, T.; GÓMEZ-SERRANO, C.; ACIÉN-FERNÁNDEZ, F. G.; GONZÁLEZ-LÓPEZ, C. V. Year-long production of *Scenedesmus almeriensis* in pilot-scale raceway and thin-layer cascade photobioreactors. **Algal Research**, v. 51, p. 102069, 2020.

MORILLAS-ESPAÑA, A.; LAFARGA, T.; SÁNCHEZ-ZURANO, A.; ACIÉN-

FERNÁNDEZ, F. G.; RODRÍGUEZ-MIRANDA, E.; GÓMEZ-SERRANO, C.; GONZÁLEZ-LÓPEZ, C. V. Year-long evaluation of microalgae production in wastewater using pilot-scale raceway photobioreactors: Assessment of biomass productivity and nutrient recovery capacity. **Algal Research**, v. 60, p. 102500, 2021.

MORONEY, J. V.; JUNGnick, N.; DIMARIO, R. J.; LONGSTRETH, D. J. Photorespiration and carbon concentrating mechanisms: two adaptations to high O₂, low CO₂ conditions. **Photosynthesis Research**, v. 117, n. 1, p. 121-131, 2013.

PAWLOWSKI, A.; MENDOZA, J. L.; GUZMÁN, J. L.; BERENGUEL, M.; ACIÉN, F. G.; DORMIDO, S. Effective utilization of flue gases in raceway reactor with event-based pH control for microalgae culture. **Bioresource Technology**, v. 170, p. 1–9, 2014.

PÉREZ-LÓPEZ, P.; DE VREE, J. H.; FEIJOO, G.; BOSMA, R.; BARBOSA, M. J.; MOREIRA, M. T.; WIJFFELS, R. H.; VAN BOXTEL, A. J. B.; KLEINEGRIS, D. M. M. Comparative life cycle assessment of real pilot reactors for microalgae cultivation in different seasons. **Applied Energy**, v. 205, p. 1151–1164, 2017.

QUIROZ-ARITA, C.; BLAYLOCK, M. L.; GHARAGOZLOO, P. E.; BARK, D.; PRASAD DAS, L.; BRADLEY, T. H. Pilot-scale open-channel raceways and flat-panel photobioreactors maintain well-mixed conditions under a wide range of mixing energy inputs. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 117, p. 959–969, 2020.

RODRÍGUEZ-MIRANDA, E.; GUZMÁN, J. L.; BERENGUEL, M.; ACIÉN, F. G.; VISIOLI, A. Diurnal and nocturnal pH control in microalgae raceway reactors by combining classical and event-based control approaches. **Water Science and Technology**, v. 82, p. 1155–1165, 2020.

ROSA, G. M.; MORAES, L.; CARDIAS, B. B.; SOUZA, M. A. R. Z.; COSTA, J. A. V. Chemical absorption and CO₂ biofixation via the cultivation of *Spirulina* in semicontinuous mode with nutrient recycle. **Bioresource Technology**, v. 192, p. 321-327, 2015.

SANTOS, T. D.; MENDOZA-MARTÍN, J. L.; ACIÉN FERNÁNDEZ, F. G.; MOLINA, E.; COSTA, J. A. V.; HEAVEN, S. Optimization of carbon dioxide supply in raceway reactors: Influence of carbon dioxide molar fraction and gas flow rate. **Bioresource Technology**, v. 212, p. 72–81, 2016.

SÁNCHEZ, J. F.; FERNÁNDEZ-SEVILLA, J. M.; ACIÉN, F. G.; CERÓN, M. C.; PÉREZ-PARRA, J.; MOLINA-GRIMA, E. Biomass and lutein productivity of *Scenedesmus almeriensis*: influence of irradiance, dilution rate and temperature. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 79, n. 5, p. 719-729, 2008a.

SÁNCHEZ-ZURANO, A.; MORILLAS-ESPAÑA, A.; GÓMEZ-SERRANO, C.; CIARDI, M.; ACIÉN, G.; LAFARGA, T. Annual assessment of the wastewater treatment capacity of the microalga *Scenedesmus almeriensis* and optimisation of operational conditions. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1-11, 2021.

SUTHERLAND, D. L.; TURNBULL, M. H.; BROADY, P. A.; CRAGGS, R. J.

Wastewater microalgal production, nutrient removal and physiological adaptation in response to changes in mixing frequency. **Water Research**, v. 61, p. 130–140, 2014.

CAPÍTULO IV

ARTIGO III: CONTROLE DE pH DO CULTIVO DE MICROALGAS POR INJEÇÃO DE CO₂ NOS PERÍODOS DIURNO E NOTURNO

RESUMO

O controle do pH do cultivo de microalgas por injeção de CO₂ é uma das formas mais eficientes de manter a faixa ótima dessa variável para melhor produção de biomassa. Tradicionalmente, o controle é realizado apenas durante o dia, quando há atividade fotossintética. No entanto, o controle do pH nos períodos diurno e noturno mostrou-se opção viável para reduzir distúrbios no pH da cultura e diminuir a demanda por CO₂. O presente estudo avaliou o balanço de carbono e a produtividade de biomassa de *Scenedesmus almeriensis* cultivada em reator *raceway*, com controle do pH apenas durante o dia (tradicional) e durante os períodos diurno e noturno, como proposto. Confirmou-se que o controle do pH sob demanda de CO₂ durante os períodos diurno e noturno mantém o pH mais estável. A demanda de CO₂ foi de 183 g d⁻¹ a menos com o controle de pH proposto comparado ao controle tradicional (somente durante o dia). Na nova estratégia de controle, também se obteve maior produtividade de biomassa (23,2 g m⁻² d⁻¹) em relação ao controle tradicional (15,8 g m⁻² d⁻¹). O controle do pH por demanda de CO₂ nos períodos diurno e noturno como proposto pode ser utilizado neste sistema de cultivo para otimizar o uso de carbono pela microalga alcançando maior produção de biomassa.

Palavras-chave: Balanço de carbono. Produtividade de biomassa. *Raceway*. *Scenedesmus almeriensis*. Transferência de massa.

1 INTRODUÇÃO

A versatilidade da aplicação da biomassa de microalgas fez com que ela ganhasse espaço na indústria. Extração de pigmentos (DUARTE et al., 2019; PRATES et al., 2018), enriquecimento de alimentos (LUCAS et al., 2020; VEIGA et al., 2020), aplicação como biofertilizantes (CASTRO et al., 2020), tratamento de água (BEZERRA et al., 2020; POSADAS et al., 2015), remoção e captura de gases de efeito estufa (DUARTE et al., 2016; SEPULVEDA et al., 2019), produção de biocombustíveis (CARDIAS et al., 2020; MORAIS et al., 2018) e produção de biomateriais (KUNTZLER et al., 2020) são alguns exemplos de aplicações. Essa variada aplicação e crescimento industrial exige a otimização e eficiência dos processos para aumentar a produção e reduzir custos.

Para obter o máximo crescimento, certas variáveis ambientais como temperatura, radiação solar, oxigênio dissolvido e pH precisam estar em valores ideais (COSTACHE et al., 2013). Nos reatores *raceway*, o oxigênio dissolvido e o pH são variáveis que podem ser controladas, sendo o pH o mais importante, pois influencia na fotossíntese (RODRÍGUEZ-MIRANDA et al., 2020). A injeção de CO₂ atua como um agente regulador para acidificar o meio e manter o pH no valor ideal para a microalga, além de servir como fonte de carbono inorgânico para o crescimento. A atividade biológica consome carbono inorgânico dissolvido, alterando o equilíbrio entre as espécies bicarbonato-carbonato o que resulta em aumento do pH (BERENGUEL et al., 2004). Como o carbono corresponde a cerca de 50% da biomassa de microalgas, o CO₂ é o ponto chave para a produção de biomassa (MEHAR et al., 2019).

A transferência de massa de CO₂ no cultivo é importante para evitar perdas para a atmosfera e meio líquido, uma vez que a absorção e o uso de CO₂ são fatores significativos na produtividade da biomassa (ARBIB et al., 2013). O gás pode ser injetado continuamente no cultivo ou injetado de acordo com a demanda, definida por um *setpoint* (ACIÉN et al., 2012; PAWLOWSKI et al., 2014). Cada espécie de microalga possui uma faixa de pH ideal para melhor crescimento e produção de biomassa (QIU et al., 2017). Normalmente, o controle de pH por injeção de CO₂ é executado exclusivamente durante o período diurno, quando as microalgas realizam fotossíntese, com sistema *On/Off*, por questão de custo. No entanto, o controle durante o período diurno e noturno pelo sistema PI (Proporcional-Integral), demonstra

resultados satisfatórios de controle de pH e redução de distúrbios no cultivo, apesar da maior demanda por CO₂ (RODRÍGUEZ-MIRANDA et al., 2020, 2019).

Com o controle *On/Off*, a válvula de CO₂ abre ao máximo até que o pH chega a um valor abaixo da referência. Isso pode levar ao distanciamento do valor ideal, causado por injeções de CO₂ com duração excessiva. O controle PI durante o dia e a noite mantém o pH na faixa mais próxima do valor ideal, pois a válvula não fica aberta o tempo todo (RODRÍGUEZ-MIRANDA et al., 2020). Os estudos relacionados a esse tipo de controle não avaliaram o desempenho das microalgas nessas condições. Assim, o presente estudo avaliou a resposta de crescimento da microalga *Scenedesmus almeriensis* e o balanço de carbono em reator *raceway* com o controle de pH sob demanda de CO₂ realizado apenas no período diurno (tradicional) e durante os períodos diurno e noturno, como proposto.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MICROALGA E MEIO DE CULTURA

A microalga utilizada neste estudo foi *Scenedesmus almeriensis* (CCAP 276/24) da coleção de culturas do grupo de pesquisa "*Biotechnología de Microalgas Marinas*" da *Universidad de Almería* (Espanha). O meio de cultura utilizado foi Mann & Myers (FERNÁNDEZ et al., 2012), formulado com fertilizantes (g·L⁻¹): K₂PO₄ (0,14), MgSO₄ (0,18), NaNO₃ (0,9) e Karentol® (0,02) (Kenogard, Barcelona, Espanha), composto por boro, cobre, ferro, manganês, molibdênio e zinco.

2.2 FOTOBIORREATOR E CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS

Foi utilizado o reator *raceway* em escala piloto localizado nas instalações do IFAPA (*Instituto Andaluz de Investigación y Formación Agrária, Pesquera, Alimentaria y de la Producción Ecológica*, Almería, Espanha). O reator tem superfície total de 80 m², composto por dois canais de 40 m de comprimento (0,1 m de altura x 1 m de largura), ambos conectados por curvas de 180° em cada extremidade, com fosso de 0,65 m³ (0,85 m de diâmetro x 1,15 m de profundidade) localizado 1,8 m a jusante das pás.

O reator *raceway* foi inoculado com 11,85 m³ de meio fresco e 0,2 g L⁻¹ de inóculo. O reator foi operado em modo descontínuo até a concentração de biomassa de 1,0 g L⁻¹ e, a partir deste ponto, o reator foi operado em modo semi-contínuo, com taxa de diluição de 0,2 d⁻¹ (MORILLAS-ESPAÑA et al., 2020). O volume de cultura colhido foi substituído por meio fresco e a evaporação no interior do reator foi compensada pela adição diária de água fresca.

O pH, a temperatura, radiação solar e oxigênio dissolvido na cultura foram medidos usando sondas. O pH 8 foi controlado por injeção de CO₂ sob demanda (MORALES-AMARAL et al., 2015), durante o período diurno com controle *On/Off* e durante o período diurno e noturno com controle PI. As injeções de CO₂, na taxa de 10 L min⁻¹, foram controladas a partir de um sistema de Supervisão de Controle e Aquisição de Dados (SCADA) e monitoradas por medidores de vazão (PF3W SMC, Alemanha). Especificamente, são apresentados testes de dois dias para cada estrutura de controle avaliada, com dados coletados a cada segundo.

2.3 ACOMPANHAMENTO DO CRESCIMENTO CELULAR

A absorbância foi medida (680 e 750 nm) para monitorar a evolução da cultura. A concentração de biomassa em peso seco (Cb, g L⁻¹) foi medida filtrando 80 ml de cultura através de filtros de 0,45 µm, secos a 80 °C em estufa por 24 h. A produtividade de biomassa (Pb, g m⁻² d⁻¹) foi calculada multiplicando-se a concentração de biomassa pela taxa de diluição (0,2 d⁻¹). O estado das células foi verificado medindo a fluorescência da clorofila (Fv/Fm) com fluorímetro (AquaPen AP 100; Photon Systems Instruments, República Tcheca) após adaptação ao escuro por 15 min (SÁNCHEZ-ZURANO et al., 2020).

2.4 BALANÇO DE CARBONO

Para determinar a eficiência de utilização de carbono, um balanço de massa completo foi realizado no reator como um todo. A massa de CO₂ injetada no reservatório (mCO₂injetado, g d⁻¹) e a massa de CO₂ assimilada pela biomassa (mCO₂biomassa, g d⁻¹) foram calculadas pelas Equações 1 e 2, respectivamente, onde: Q_{CO2} (L min⁻¹) é a taxa de CO₂ injetado com o controle *On/Off*, n é a fração molar

de CO₂ que tem valor 1 porque foi injetado CO₂ puro, MM_{CO2} (g mol⁻¹) e V_{molar} (L mol⁻¹) são a massa molar e o volume molar de CO₂, respectivamente, Pb é a produtividade da biomassa (g L⁻¹ d⁻¹), x_{cbm} é a porcentagem de carbono na biomassa (0,45 g g⁻¹), e MM_C é a massa molar de carbono (g mol⁻¹) (Acién et al., 2012).

$$mCO2_{injetado} = \frac{Q_{CO2} \cdot n \cdot MM_{CO2}}{V_{molar}} \quad \text{Equação 1}$$

$$mCO2_{biomassa} = \frac{Pb \cdot x_{cbm} \cdot MM_{CO2}}{MM_C} \quad \text{Equação 2}$$

O CO₂ não acumulado pela biomassa foi considerado perdido para a atmosfera (CO_{2atmosfera}, g d⁻¹) (Equação 3), tanto o que foi injetado no fosso (CO_{2sump}, g d⁻¹) quanto o que foi perdido nos canais (CO_{2canais}, g d⁻¹). Além disso, considera-se o CO₂ perdido no meio líquido (CO_{2líquido}, g d⁻¹) (Equação 4), que é a diferença entre o transferido para a biomassa e o perdido dos canais e descartado na biomassa colhida (Acién et al., 2012).

$$CO2_{atmosfera} = CO2_{fosso} + CO2_{canais} \quad \text{Equação 3}$$

$$CO2_{líquido} = CO2_{transferido} - (CO2_{biomassa} + CO2_{canais}) \quad \text{Equação 4}$$

2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados de crescimento mostrados foram comparados por análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de Tukey ao nível de confiança de 95% no software *Statistica* 8.0.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

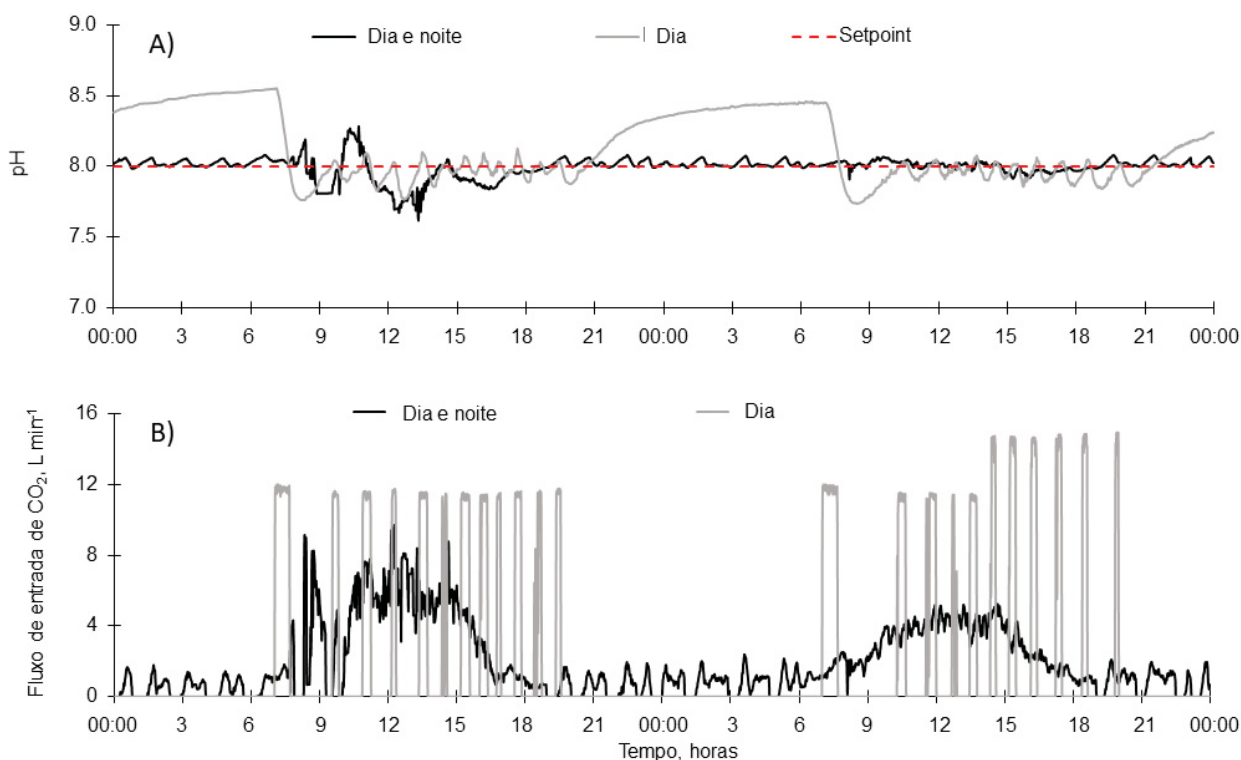
A partir da simulação de controle diurno e noturno (RODRÍGUEZ-MIRANDA et al., 2019) e a validação experimental desses dados em reatores raceway (RODRÍGUEZ-MIRANDA et al., 2020), foram observados resultados satisfatórios na

redução do consumo de CO_2 e estabilização do pH da cultura, em relação ao controle clássico realizado apenas no período diurno. Assim, a principal contribuição do presente trabalho foi mostrar os resultados do crescimento de microalgas utilizando esses dois controles em condições semelhantes de temperatura e radiação solar.

3.1 CONTROLE DE pH E INJEÇÕES DE CO_2

De acordo com Costache et al. (2013), *Scenedesmus almeriensis* apresenta pH ótimo na faixa de 7,0 a 9,0. Como mostra a FIGURA 1, no controle de pH atuando apenas no período diurno, o pH excede o valor de 8,5 durante a noite, quando o controle estava desligado. Na ativação do controle pela manhã, a injeção de CO_2 foi ativada e o pH retornou ao valor de *setpoint* (pH 8). No controle de pH realizado nos períodos diurno e noturno, o pH permaneceu mais estável, pois o sistema continuou operando durante a noite. Nas primeiras 12 horas de teste do controle de pH dia e noite, houve perturbação no sistema que desestabilizou o pH e exigiu injeção maior de CO_2 em relação ao dia seguinte.

FIGURA 1- EVOLUÇÃO DO pH COM O VALOR DE *SETPOINT* (LINHA VERMELHA TRACEJADA) (A) E FLUXO DE ENTRADA DE CO_2 (L min^{-1}) (B) COM CONTROLE DE pH POR INJEÇÃO DE CO_2 ATUANDO NO PERÍODO DIURNO E DURANTE OS PERÍODOS DIURNO E NOTURNO.



A entrada de CO₂ é maior no controle diurno, atingindo valores de 14,6 L min⁻¹ (FIGURA 1B), enquanto o máximo para o controle diurno e noturno é de 10,1 L min⁻¹. Como o pH permanece estável o tempo todo, são necessárias quantidades menores de CO₂ para esse controle. Com o controlador PI, Rodríguez-Miranda et al. (2020) observaram fluxo de CO₂ de 2 L min⁻¹ com o controle diurno e noturno, correspondendo a 10% de abertura da válvula. No entanto, com o controle diurno, o fluxo de injeção atingiu 5 L min⁻¹, correspondendo a 20% do total. Durante o período do dia, grande quantidade de CO₂ é injetada devido ao rápido aumento do pH governado pela fotossíntese (BERENGUEL et al., 2020). Durante a noite, o controle do pH requer menos ações, pois a radiação solar é zero. Mesmo assim, o controle é necessário porque os valores de pH podem ultrapassar 9,5. O aumento do pH à noite ocorre devido a um desequilíbrio nas formas de carbono inorgânico presentes na água. O carbono na forma de bicarbonato apresenta efeito tampão, o que permite a estabilização do pH do meio de cultura. Esse efeito conduz à diminuição do pH quando o CO₂ é fornecido ao cultivo e, incremento do pH quando o fornecimento externo de CO₂ cessa e o que estava presente no meio é consumido pelas células da microalga (RODRÍGUEZ-MIRANDA et al., 2020).

O tempo de injeção no controle diurno e noturno foi cinco vezes maior que no controle diurno, 2439 e 462 min, respectivamente (TABELA 1). No controle diurno e noturno, a injeção de CO₂ fica 84,7% do tempo ativada, enquanto no controle diurno fica apenas 16% do tempo aberta. Isso corresponde a 4825,8 L de CO₂ (aproximadamente 2412,2 L de CO₂ por dia) com o controle diurno e 5517,1 L de CO₂ (2858,5 L de CO₂ por dia) com o controle diurno e noturno, ou seja, 18% mais CO₂ injetado.

TABELA 1- ENTRADA DE CO₂ COM CONTROLE DE pH DURANTE O DIA E DURANTE DIA E NOITE (48 h DE ENSAIO)

	Dia e noite	Dia
Tempo de injeção (min)	2439	462
CO ₂ total injetado (L)	5517,1	4825,8
CO ₂ injetado (dia)	4556	4825,8
CO ₂ injetado (noite)	1661,1	0

Durante o dia, 2,7 vezes mais CO₂ é injetado do que à noite. Rodríguez-Miranda et al. (2020), cultivando *Golenkinia* no mesmo reator do presente estudo, observaram uma média de 993,2 L de CO₂ injetados no controle *On/Off* durante o dia (1440 min) e 1302,1 L de CO₂ no controle PI dia e noite (82,3 min) para testes realizados ao longo de um dia. Apesar do maior consumo de CO₂ no controle diurno e noturno em relação ao tradicional (diferença de 30%), os autores afirmam que melhores resultados no pH podem ser observados quando o controle também é realizado no período noturno. Os autores observaram um aumento de 50% na produção de oxigênio no controle diurno e noturno, o que pode caracterizar um aumento na produção de biomassa devido ao melhor desempenho da microalga.

3.2 TRANSFERÊNCIA DE CO₂ NO CULTIVO

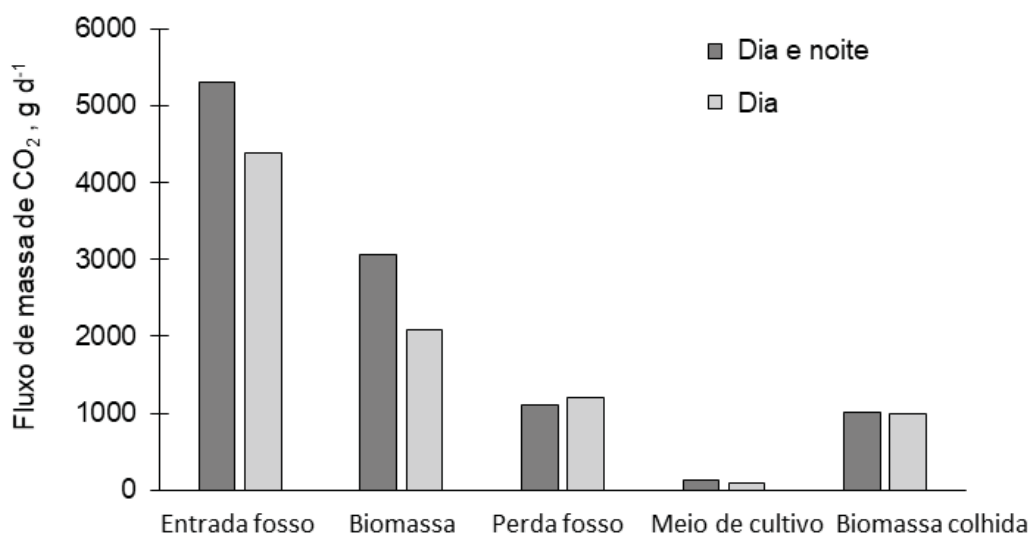
Injeção excessiva de CO₂ que faz com que o pH fique abaixo do ideal é observada. Isso ocorre porque o controle *On/Off* utilizado é simples e não leva em consideração limitações de erro. Assim, leva algum tempo para que o sistema tenha a resposta de reduzir o pH do meio e de fato desligar a injeção de CO₂. Portanto, o desvio do valor ideal do controle diurno pode levar a altas injeções de CO₂ e grande perturbação do sistema. O controle adequado da injeção de CO₂ é importante para manter o pH próximo ao valor ideal para maximizar a produção de biomassa. Para manter a saúde das células, certos limites não devem ser excedidos. O excesso de CO₂ pode causar inibição, mas há uma concentração mínima necessária para não limitar o crescimento. O fornecimento de CO₂ em excesso evita a limitação de fonte de carbono, porém, além da inibição celular, é um custo adicional no processo, pois gera muitas perdas para a atmosfera se não consumido (BERENGUEL et al., 2004; RODRÍGUEZ-MIRANDA et al., 2020).

A entrada de CO₂ no fosso no sistema clássico, é menor que o controle diurno e noturno (4377 e 5303 g d⁻¹, respectivamente) (FIGURA 2). No entanto, o CO₂ transferido para a biomassa foi 10% maior no controle diurno e noturno (correspondendo a 58% do total de carbono fornecido). As perdas globais correspondem a 42% no controle diurno e noturno e 52% no controle diurno. Ou seja, mais CO₂ entra na cultura com controle noturno, porém, o carbono é melhor absorvido pela biomassa e as perdas são menores. As perdas de CO₂ nos canais corresponderam a 2% da entrada de carbono, 19-23% na colheita de biomassa e 21-

28% no fosso. As perdas no fosso, segundo Santos et al. (2016), podem ser reduzidas ajustando a taxa de injeção de CO₂ ou fração molar de CO₂ na entrada de gás.

Santos et al. (2016), observaram que em cultivos de *Scenedesmus* sp. em *raceway* de 100 m², a maior contribuição do balanço de carbono foi o carbono injetado (72%), que foi 56% fixado na biomassa. As perdas chegaram a 27% nos canais do reator, mas foram extremamente baixas no fosso, cerca de 3% do valor global, devido ao eficiente sistema de fornecimento de CO₂. De Godos et al. (2014) calcularam 66% de assimilação de carbono pela biomassa em *Scenedesmus* sp. cultivada em *raceway* de 100 m², e apontam a maior perda na biomassa colhida (24% da entrada total), seguida dos canais e fosso. O coeficiente de transferência líquido-gás em reatores *raceway*, em geral, é muito baixo, o que pode explicar a baixa perda nos canais por desgaseificação (MENDOZA et al., 2013). A alta perda de carbono que ocorre na biomassa colhida pode ser reduzida reciclando o sobrenadante para devolver os nutrientes e carbono não consumidos ao reator (GONZÁLEZ-LÓPEZ et al., 2012).

FIGURA 2- TRANSFERÊNCIA DE MASSA DE CO₂ NO CULTIVO MICROALGAL COM CONTROLE DE pH DURANTE O DIA E DURANTE DIA E NOITE.



A absorção de CO₂ na fase líquida diminui ao longo do dia devido à saturação do meio. A frequência de injeção de gás aumenta à medida que a radiação solar aumenta, mas as microalgas não conseguem metabolizar todo o carbono. Nas primeiras horas do dia, todo o gás que entra na cultura é absorvido, mas ao longo do

dia, a água fica saturada e parte do CO₂ que entra no fosso é liberado diretamente na atmosfera ou ao longo dos canais por desgaseificação (DE GODOS et al., 2014).

3.3 INFLUÊNCIA DAS VARIÁVEIS DO CULTIVO NA PRODUÇÃO DE BIOMASSA

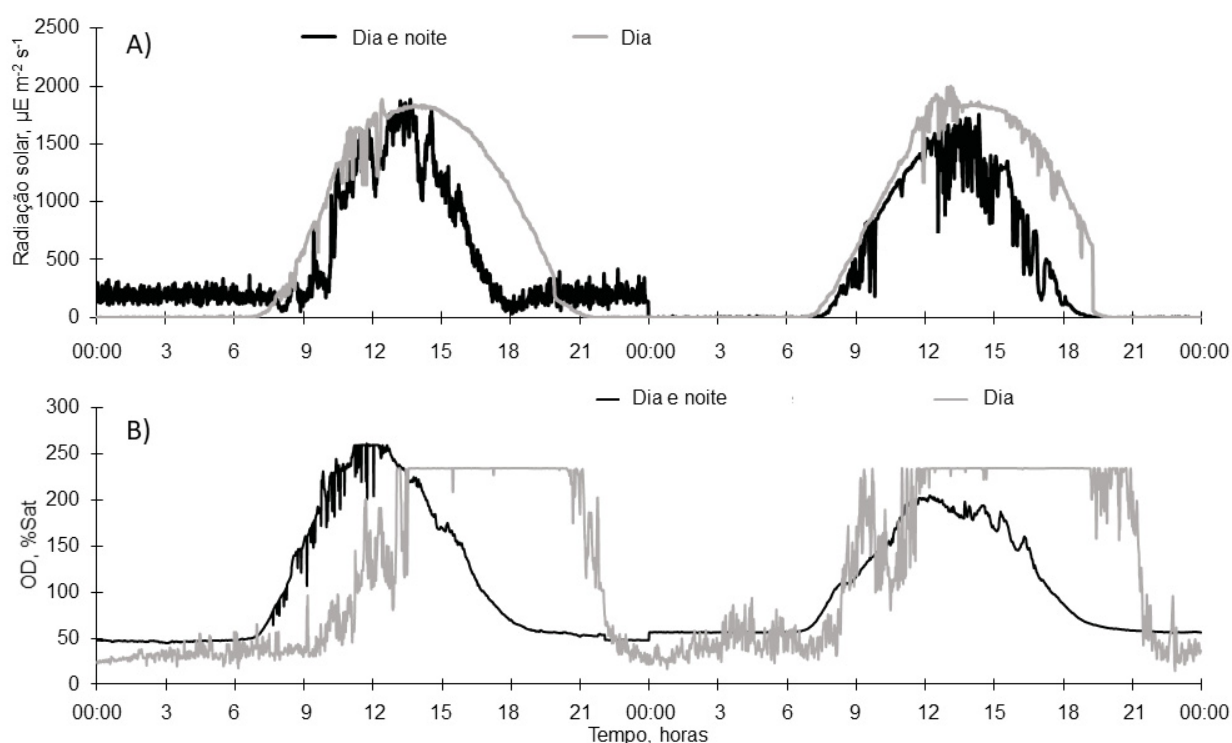
A temperatura e a radiação solar são os parâmetros ambientais que mais influenciam a produtividade da biomassa da cultura (MORILLAS-ESPAÑA et al., 2020). A temperatura ambiente variou de 15 a 29 °C com temperatura média durante o dia de $21,9 \pm 4,1$ °C, portanto permaneceu na faixa ideal para esta espécie de microalga. A maioria das espécies de microalgas tem crescimento ótimo em temperaturas entre 20 e 30°C (MORAIS JUNIOR et al., 2020). A condição ótima de temperatura para *Scenedesmus almeriensis* é de 25°C, e a temperatura de cultivo varia ± 5 °C em relação à temperatura média diária do ar (BARCELÓ-VILLALOBOS et al., 2019).

Maior radiação solar combinada com temperatura em torno de 26°C pode levar a maior produtividade de biomassa e crescimento mais disperso, sem aglomeração de células (ARCILA; BUITRÓN, 2017). A radiação solar no período avaliado (primavera) costuma ser alta na cidade de Almería (Espanha). A microalga *Scenedesmus almeriensis* é uma estirpe isolada na cidade de Almería e adaptada às condições da região. A atividade fotossintética das microalgas está diretamente relacionada à radiação solar, pois esta é a principal responsável pela ativação dos fotossistemas. A radiação solar atingiu $1995 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ com 14 h de luz (FIGURA 3A), o que favorece a atividade fotossintética e produção de biomassa do microrganismo.

A alta radiação solar do período escolhido para os experimentos gera alta produção e acúmulo de oxigênio dissolvido (OD) (FIGURA 3B). O oxigênio produzido durante o dia pela fotossíntese é consumido durante a noite pela respiração. O oxigênio variou de 2,3-4,5 mg L⁻¹ (25-50% Sat) à noite a 22,5 mg L⁻¹ (250% Sat) durante o período diurno. O controle do pH diurno teve maior acúmulo de OD ao longo dos dois dias (20% a mais). O sensor de OD utilizado tinha capacidade de até 250% Sat, então a linha cinza aparece reta no ponto mais alto. Com um sensor adequado, os valores de OD provavelmente excederiam 300% Sat (27 mg L⁻¹). Nos meses de primavera e verão, com temperaturas e radiação solar mais elevadas no sul da

Espanha, a OD pode atingir valores entre 20 e 30 mg L⁻¹ (220-335% Sat) (JIMÉNEZ et al., 2003). Valores de OD acima de 250% de saturação de O₂ podem danificar culturas ou alterar seu metabolismo, pois a taxa de atividade fotossintética é reduzida pelo acúmulo de oxigênio dissolvido (BARCELÓ-VILLALOBOS et al., 2018) e, ocasionalmente, ocorre em reatores com pouca turbulência (JIMÉNEZ et al. al., 2003).

FIGURA 3- RADIAÇÃO SOLAR E OXIGÊNIO DISSOLVIDO (OD) PRODUZIDO PELA CULTURA DE *Scenedesmus almeriensis*.



O valor F_v/F_m estava entre 0,5-0,6 (TABELA 2). A faixa máxima dos valores de F_v/F_m é geralmente entre 0,7 e 0,8, quando as microalgas não estão em condições de estresse (MALAPASCUA et al., 2014). *Scenedesmus almeriensis* geralmente mostra F_v/F_m entre 0,6-0,7 e pode diminuir para 0,5 em meses de alta irradiância (SÁNCHEZ-ZURANO et al., 2020). Em culturas ao ar livre, normalmente, o valor de F_v/F_m diminui durante o dia devido à alta irradiância, o que leva a alterações no transporte de elétrons da fotossíntese (MASOJÍDEK et al., 2010).

TABELA 2- CONCENTRAÇÃO DE BIOMASSA (g L^{-1}), PRODUTIVIDADE DE BIOMASSA ($\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$) E Fv/Fm DO CULTIVO MICROALGAL COM DIFERENTES CONTROLES DE pH.

	Dia e noite	Dia
Fv/Fm	$0,53 \pm 0,01^a$	$0,61 \pm 0,01^b$
Concentração de biomassa, g L^{-1}	$1,20 \pm 0,11^a$	$0,79 \pm 0,07^b$
Produtividade de biomassa, $\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$	$23,2 \pm 0,47^a$	$15,8 \pm 1,41^b$

Diferentes letras sobrescritas na mesma linha significam que houve diferença estatisticamente significativa entre os valores ($p > 0.1$)

Dependendo das condições ambientais, a concentração de biomassa obtida em reatores *raceway* varia entre 0,3 e 0,9 g L^{-1} (MORILLAS-ESPAÑA et al., 2020). A produtividade de *Scenedesmus almeriensis* cultivada nessas condições com esse tipo de reator é alta, em torno de 23 $\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$ (BARCELÓ-VILLALOBOS et al., 2018). A concentração de biomassa e a produtividade foram maiores nas culturas com controle de pH durante o dia e a noite (1,2 g L^{-1} e 23,19 $\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$, respectivamente) em relação ao controle diurno (0,79 g L^{-1} e 15,8 $\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$, respectivamente) (TABELA 2). Os resultados foram semelhantes aos relatados durante a produção de *Scenedesmus almeriensis* em *raceway* de 80 m^2 (11800 L) em Almería na primavera, onde concentração de biomassa de 0,7-0,8 g L^{-1} e produtividade na faixa de 15-25 $\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$ foram alcançadas (MORILLAS-ESPAÑA et al., 2020).

O uso do carbono foi melhor com controle diurno e noturno e proporcionou maior produtividade de biomassa. Mesmo que a demanda de CO_2 seja maior, o controle durante 24 h é, de fato, uma estrutura de controle promissora para esse sistema de cultivo que sofre com as variações ambientais (temperatura e radiação solar) e, conseqüentemente, com a oscilação do pH. Dessa forma, a aplicação do controle diurno e noturno pode reduzir os distúrbios dessa importante variável no cultivo e aumentar a produção de biomassa de *Scenedesmus* em aproximadamente 46% em relação ao controle clássico.

4 CONCLUSÃO

O controle diurno e noturno proporciona maior estabilidade do pH do cultivo e, conseqüentemente, a produtividade da biomassa aumenta até 46%. A demanda de CO₂ para o cultivo é maior com o controle diurno e noturno (mais de 5 kg d⁻¹), com aproveitamento de 58% para produção de biomassa. Assim, o controle de pH sob demanda de CO₂ realizado nos períodos diurno e noturno, como proposto, é uma alternativa para o cultivo de microalgas. Principalmente em reatores externos que sofrem variações ambientais (temperatura e radiação solar), esse novo tipo de controle mostrou reduzir distúrbios no pH e produzir, de fato, mais biomassa do que quando aplicado o controle tradicional, que ocorre apenas durante o dia.

REFERÊNCIAS

- ACIÉN, F. G.; GONZÁLEZ-LÓPEZ, C. V.; FERNÁNDEZ SEVILLA, J. M.; MOLINA GRIMA, E. Conversion of CO₂ into biomass by microalgae: How realistic a contribution may it be to significant CO₂ removal? **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 96, p. 577–586, 2012.
- ARBIB, Z.; RUIZ, J.; ÁLVAREZ-DÍAZ, P.; GARRIDO-PÉREZ, C.; BARRAGAN, J.; PERALES, J. A. Effect of pH control by means of flue gas addition on three different photo-bioreactors treating urban wastewater in long-term operation. **Ecological engineering**, v. 57, p. 226–235, 2013.
- ARCILA, J. S.; BUITRÓN, G. Influence of solar irradiance levels on the formation of microalgae-bacteria aggregates for municipal wastewater treatment. **Algal Research**, v. 27, p. 190–197, 2017.
- BARCELÓ-VILLALOBOS, M.; SÁNCHEZ, J. G.; CARA, I. M.; MOLINA, J. S.; FERNÁNDEZ, F. A. Analysis of mass transfer capacity in raceway reactors. **Algal Research**, v. 35, p. 91-97, 2018.
- BARCELÓ-VILLALOBOS, M.; FERNÁNDEZ-DEL OLMO, P.; GUZMÁN, J. L.; FERNÁNDEZ-SEVILLA, J. M.; FERNÁNDEZ, F. A. Evaluation of photosynthetic light integration by microalgae in a pilot-scale raceway reactor. **Bioresource Technology**, v. 280, p. 404-411, 2019.
- BERENGUEL, M.; RODRÍGUEZ, F.; ACIÉN, F. G.; GARCÍA, J. L. Model predictive control of pH in tubular photobioreactors. **Journal of Process Control**, v. 14, p. 377–387, 2004.
- BEZERRA, P. Q. M.; MORAES, L.; CARDOSO, L. G.; DRUZIAN, J. I.; MORAIS, M. G.; NUNES, I. L.; COSTA, J. A. V. *Spirulina* sp. LEB 18 cultivation in seawater and reduced nutrients: Bioprocess strategy for increasing carbohydrates in biomass. **Bioresource Technology**, v. 316, p. 123883, 2020.
- CARDIAS, B. B.; TREVISOL, T. C.; BERTUOL, G. G.; COSTA, J. A. V.; SANTOS, L. O. Hydrolyzed *Spirulina* Biomass and Molasses as Substrate in Alcoholic Fermentation with Application of Magnetic Fields. **Waste and Biomass Valorization**, v. 12, p. 175-183, 2021.
- CASTRO, J. S.; CALIJURI, M. L.; FERREIRA, J.; ASSEMAN, P. P.; RIBEIRO, V. J. Microalgae based biofertilizer: A life cycle approach. **Science of the Total Environment**, v. 724, p. 138138, 2020.
- COSTACHE, T. A.; ACIÉN F. G.; MORALES, M. M.; FERNÁNDEZ-SEVILLA, J. M.; STAMATIN, I.; MOLINA, E. Comprehensive model of microalgae photosynthesis rate as a function of culture conditions in photobioreactors. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 97, p. 7627–7637, 2013.
- DE GODOS, I.; MENDOZA, J. L.; ACIÉN, F. G.; MOLINA, E.; BANKS, C. J.;

HEAVEN, S.; ROGALLA, F. Evaluation of carbon dioxide mass transfer in raceway reactors for microalgae culture using flue gases. **Bioresource Technology**, v. 153, p. 307-314, 2014

DUARTE, J. H.; SOUZA, C. O.; DRUZIAN, J. I.; COSTA, J. A. V. Light emitting diodes applied in *Synechococcus nidulans* cultures: Effect on growth, pigments production and lipid profiles. **Bioresource Technology**, v. 280, p. 511-514. 2019.

DUARTE, J. H.; FANKA, L. S.; COSTA, J. A. V. Utilization of simulated flue gas containing CO₂, SO₂, NO and ash for *Chlorella fusca* cultivation. **Bioresource Technology**, v. 214, p. 159-165, 2016.

GONZÁLEZ-LÓPEZ, C. V.; ACIÉN FERNÁNDEZ, F. G.; FERNÁNDEZ-SEVILLA, J. M.; SÁNCHEZ FERNÁNDEZ, J. F.; MOLINA GRIMA, E. Development of a process for efficient use of CO₂ from flue gases in the production of photosynthetic microorganisms. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 109, n. 7, p. 1637-1650, 2012.

JIMÉNEZ, C.; COSSÍO, B. R.; NIELL, F. X. Relationship between physicochemical variables and productivity in open ponds for the production of *Spirulina*: a predictive model of algal yield. **Aquaculture**, v. 221, p. 331-345. 2003.

KUNTZLER, S. G.; COSTA, J. A. V.; BRIZIO, A. P. D. R.; MORAIS, M. G. Development of a colorimetric pH indicator using nanofibers containing *Spirulina* sp. LEB 18. **Food Chemistry**, v. 328, p. 126768, 2020.

LUCAS, B. F.; ROSA, A. P. C.; CARVALHO, L. F.; MORAIS, M. G.; SANTOS, T. D.; COSTA, J. A. V. Snack bars enriched with *Spirulina* for schoolchildren nutrition. **Food Science and Technology**, v. 40, p. 146-152, 2020 .

MALAPASCUA, J. R. F.; JEREZ, C. G.; SERGEJEVOVÁ, M.; FIGUEROA, F. L.; MASOJÍDEK, J. Photosynthesis monitoring to optimize growth of microalgal mass cultures: Application of chlorophyll fluorescence techniques. **Aquatic Biology**, v. 22, p. 123-140, 2014.

MASOJÍDEK, J.; VONSHAK, A.; TORZILLO, G. Chlorophyll fluorescence applications in microalgal mass cultures. In: **Chlorophyll a fluorescence in aquatic sciences: methods and applications**. Springer, Dordrecht, 2010. p. 277-292.

MEHAR, J.; SHEKH, A.; NETHRAVATHY, M. U.; SARADA, R.; CHAUHAN, V. S.; MUDLIAR, S. Automation of pilot-scale open raceway pond: A case study of CO₂-fed pH control on *Spirulina* biomass, protein and phycocyanin production. **Journal of CO₂ Utilization**, v. 33, p. 384-393, 2019.

MENDOZA, J. L.; GRANADOS, M. R.; DE GODOS, I.; ACIÉN, F. G.; MOLINA, E.; BANKS, C.; HEAVEN, S. Fluid-dynamic characterization of real-scale raceway reactors for microalgae production. **Biomass and Bioenergy**, v. 54, p. 267-275,

2013.

MORAIS, E. G.; CASSURIAGA, A. P. A.; CALLEJAS, N.; MARTINEZ, N.; VIEITEZ, I.; JACHMANIÁN, I.; SANTOS, L. O.; MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Evaluation of CO₂ Biofixation and Biodiesel Production by *Spirulina* (Arthospira) Cultivated In Air-Lift Photobioreactor. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 61, 2018.

MORAIS JUNIOR, W. G.; GORGICH, M.; CORRÊA, P. S.; MARTINS, A. A.; MATA, T. M.; CAETANO, N. S. Microalgae for biotechnological applications: Cultivation, harvesting and biomass processing. **Aquaculture**, v. 528, p. 735562, 2020.

MORILLAS-ESPAÑA, A.; LAFARGA, T.; GÓMEZ-SERRANO, C.; ACIÉN-FERNÁNDEZ, F. G.; GONZÁLEZ-LÓPEZ, C. V. Year-long production of *Scenedesmus almeriensis* in pilot-scale raceway and thin-layer cascade photobioreactors. **Algal Research**, v. 51, p. 102069, 2020.

PAWLOWSKI, A.; MENDOZA, J. L.; GUZMÁN, J. L.; BERENGUEL, M.; ACIÉN, F. G.; DORMIDO, S. Effective utilization of flue gases in raceway reactor with event-based pH control for microalgae culture. **Bioresource Technology**, v. 170, p. 1–9, 2014.

POSADAS, E.; MORALES, M. DEL M.; GOMEZ, C.; ACIÉN, F. G.; MUÑOZ, R. Influence of pH and CO₂ source on the performance of microalgae-based secondary domestic wastewater treatment in outdoors pilot raceways. **Chemical Engineering Journal**, v. 265, p. 239–248, 2015.

PRATES, D. F.; RADMANN, E. M.; DUARTE, J. H.; MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. *Spirulina* cultivated under different light emitting diodes: Enhanced cell growth and phycocyanin production. **Bioresource Technology**, v. 256, p. 38–43, 2018.

QIU, R.; GAO, S.; LOPEZ, P. A.; OGDEN, K. L. Effects of pH on cell growth, lipid production and CO₂ addition of microalgae *Chlorella sorokiniana*. **Algal Research**, v. 28, p. 192–199, 2017.

RODRÍGUEZ-MIRANDA, E.; BESCHI, M.; GUZMÁN, J. L.; BERENGUEL, M.; VISIOLI, A. Daytime/nighttime event-based pi control for the pH of a microalgae raceway reactor. **Processes**, v. 7, p. 1–16, 2019.

RODRÍGUEZ-MIRANDA, E.; GUZMÁN, J. L.; BERENGUEL, M.; ACIÉN, F. G.; VISIOLI, A. Diurnal and nocturnal pH control in microalgae raceway reactors by combining classical and event-based control approaches. **Water Science & Technology**, v. 82, p. 1155–1165, 2020.

SÁNCHEZ ZURANO, A.; GARRIDO CÁRDENAS, J. A.; GÓMEZ SERRANO, C.; MORALES AMARAL, M.; ACIÉN-FERNÁNDEZ, F. G.; FERNÁNDEZ SEVILLA, J. M.; MOLINA GRIMA, E. Year-long assessment of a pilot-scale thin-layer reactor for microalgae wastewater treatment. Variation in the microalgae-bacteria

consortium and the impact of environmental conditions. **Algal Research**, v. 50, p. 101983, 2020.

SANTOS, T. D.; MENDOZA-MARTÍN, J. L.; FERNÁNDEZ, F. A.; MOLINA, E.; COSTA, J. A. V.; HEAVEN, S. Optimization of carbon dioxide supply in raceway reactors: influence of carbon dioxide molar fraction and gas flow rate. **Bioresource Technology**, v. 212, p. 72-81, 2016.

SEPULVEDA, C.; GÓMEZ, C.; EL BAHRAOUI, N.; ACIÉN, G.. Comparative evaluation of microalgae strains for CO₂ capture purposes. **Journal of CO₂ Utilization**, v. 30, p. 158–167, 2019

VEIGA, M. C.; FONTOURA, M. M.; OLIVEIRA, M. G.; COSTA, J. A. V.; SANTOS, L. O. Magnetic fields: biomass potential of *Spirulina* sp. for food supplement. **Bioprocess and Biosystem Engineering**, v. 43, p. 1231–1240, 2020.

CAPÍTULO V

ARTIGO IV: CONTROLE DA ENTRADA DE CO₂ EM REATOR *THIN-LAYER* PARA AUMENTAR A TRANSFERÊNCIA DE GÁS EM CULTIVOS DE MICROALGAS

RESUMO

Thin-layers são reatores abertos geralmente utilizados em cultivos de microalgas pela sua elevada produtividade. Devido à baixa profundidade do cultivo, a penetração de luz é alta, resultando em elevada atividade fotossintética. Em contrapartida, quando CO₂ é utilizado como fonte de carbono, podem ocorrer perdas para a atmosfera pelo baixo tempo de residência do gás no meio. *Thin-layers* podem ser equipados com coluna de dessorção, onde O₂ e CO₂ são injetados. No entanto, a entrada dos dois gases no mesmo local pode reduzir a transferência de carbono para o meio. Assim, o objetivo desse estudo foi comparar taxas de injeção de CO₂ em dois locais de entrada (coluna de dessorção e bomba de recirculação do cultivo) para melhorar a transferência de massa e a produtividade de biomassa da microalga *Scenedesmus almeriensis*. A microalga foi cultivada em reator *thin-layer* de um canal, dentro de estufa sem condições controladas. A injeção de CO₂ ocorreu sob demanda do pH, definido pelo valor 8 nas taxas de 2, 5, 10 e 15 L CO₂ min⁻¹. A transferência do CO₂ para o meio e o crescimento da microalga foram comparados nas diferentes taxas e locais de injeção, bomba de recirculação do cultivo e coluna de dessorção. Não foi possível fazer o controle de pH com injeção de 2 e 5 L min⁻¹ de CO₂. Quanto a injeção de 10 e 15 L min⁻¹ o pH foi bem controlado (entre 7,5 e 8,5) tanto quando o CO₂ foi injetado na coluna de dessorção, quanto na bomba de recirculação do cultivo. A maior produtividade de biomassa foi obtida com entrada de CO₂ na coluna de dessorção a 10 L min⁻¹ (29 g m⁻² d⁻¹). Portanto, a injeção de CO₂ realizada na coluna de dessorção a 10 L min⁻¹ mostrou-se eficaz para elevar a produção de biomassa e reduzir o consumo de carbono. A injeção do CO₂ na bomba de recirculação do cultivo pode ser considerada em casos que o sistema não possua coluna de dessorção.

Palavras-chave: Controle de pH. *Scenedesmus almeriensis*. Sistema *outdoor*.
Transferência de massa.

1 INTRODUÇÃO

O cultivo de microalgas é atualmente um bioprocesso de elevada importância globalmente. Isso se deve ao fato da elevada produção de biomassa com aplicação em diferentes áreas, como na produção de energia (MORAIS et al., 2020), biopesticidas (COSTA et al., 2019), alimentação animal (SOUZA et al., 2021), alimentação humana (TORZILLO et al., 2021) e tratamento de efluentes (SÁNCHEZ-ZURANO et al., 2020).

Reatores abertos em geral apresentam custos menores de construção e manutenção comparado aos fechados. Os reatores *thin-layers* são caracterizados por serem sistemas de elevada produtividade que podem ser aplicados em grande escala para operações comerciais (DEPRÁ et al., 2019). O canal do *thin-layer* é inclinado, permitindo que a suspensão de microalgas flua gravimetricamente em uma camada com até 1 cm de profundidade, possibilitando elevada penetração de luz no cultivo e maior mistura, comparado aos outros reatores de canal (MASOJÍDEK et al., 2015). Esse *design* também elimina a necessidade de um sistema de circulação do líquido (APEL et al., 2017).

A fim de obter maior eficiência do sistema, pH e oxigênio dissolvido devem ser mantidos próximos aos pontos operacionais ótimos para o crescimento do microrganismo. No entanto, são duas variáveis altamente dependentes da fotossíntese e que podem apresentar bastante variação dependendo da época do ano e do biorreator (PAWLOWSKI et al., 2015). O controle do pH na faixa ideal de crescimento da microalga é um dos fatores mais importantes para que não ocorra inibição das atividades metabólicas e do crescimento (ERBLAND et al., 2020). A injeção de CO₂ para controle do pH, e como fonte de carbono inorgânico, pode ser realizada por um sistema *On/Off* que atua conforme o *setpoint* escolhido. Na fotossíntese a acidez do meio é alterada, elevando o pH e acionando a injeção de CO₂ que vai acidificar o meio. No momento que o pH volta ao valor ideal a entrada de gás é desativada. A entrada de CO₂ deve ser a mais eficiente possível para reduzir as perdas de gás e garantir a máxima utilização pela microalga (HOYO et al., 2022; RODRÍGUEZ-MIRANDA et al., 2020).

O reator *thin-layer* utilizado no presente estudo possui uma unidade de transferência de matéria (coluna de dessorção) acoplada, onde é realizada a injeção de CO₂ e a aeração para remoção do oxigênio dissolvido. A necessidade de trocar o

local de injeção do CO₂ ocorreu a partir da observação de que a entrada dos gases na mesma unidade levava a perdas do CO₂, já que o pH não estava bem controlado. A aeração é importante para mesclar o cultivo e manter a troca gasosa. No entanto, pode expulsar o CO₂ do cultivo antes que esse seja efetivamente transferido para o meio líquido. Dessa forma, o objetivo desse estudo foi comparar taxas de injeção de CO₂ em dois locais de entrada (coluna de dessorção e bomba de recirculação do cultivo) para melhorar a transferência de massa e a produtividade de biomassa da microalga *Scenedesmus almeriensis*.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 MICROALGA E CONDIÇÕES DE CULTIVO

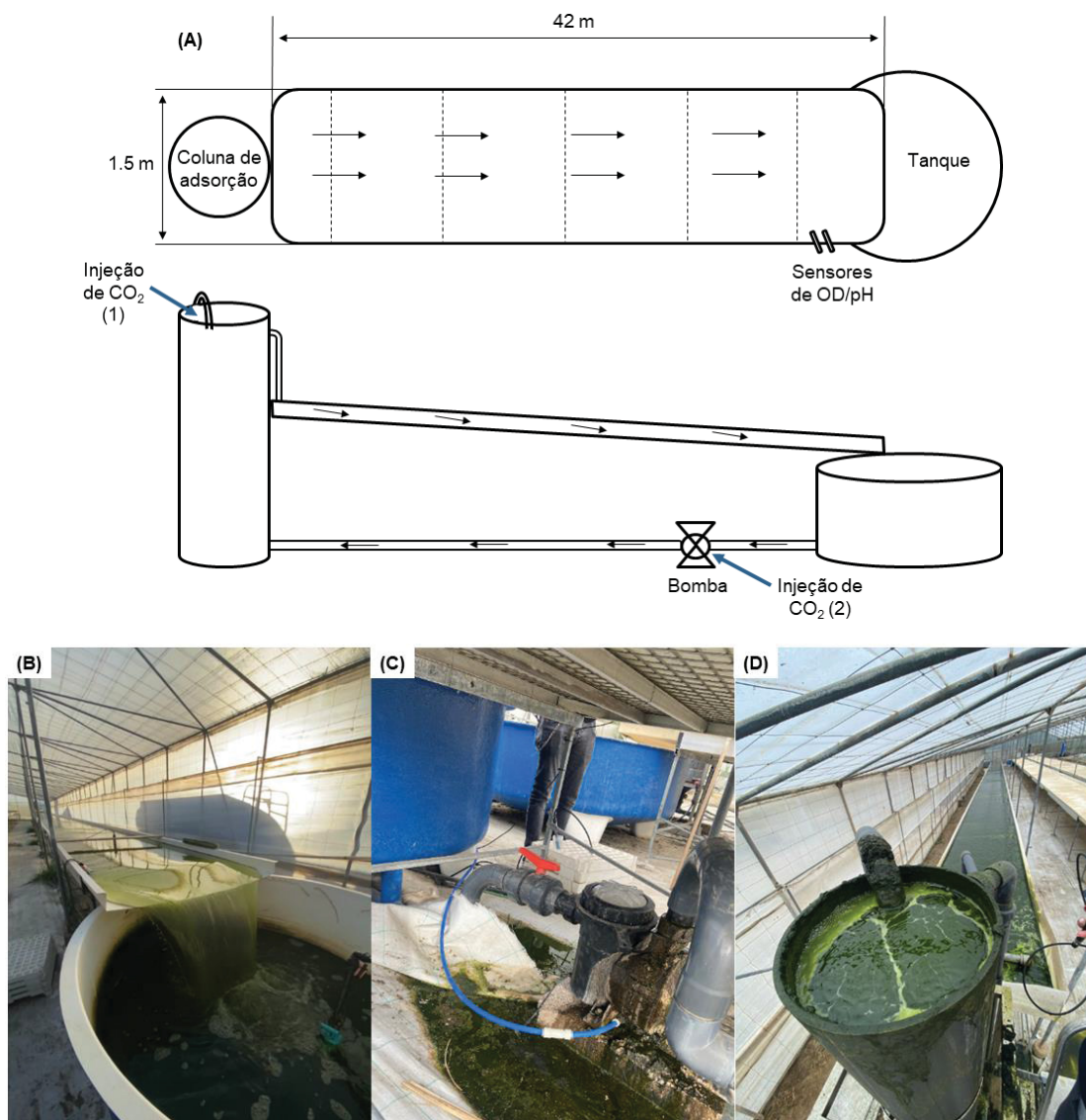
A microalga *Scenedesmus almeriensis* foi obtida da coleção de culturas do Grupo de *Bioteología de Microalgas Marinas* da *Universidad de Almería*. Os inóculos de *Scenedesmus almeriensis* foram mantidos a 23 ± 2 °C, pH $8,0 \pm 0,1$ e $150 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ em modo descontínuo até concentração de 1 g L^{-1} , usando meio Arnon modificado (MORALES-AMARAL et al., 2015). Uma vez que a concentração desejada foi alcançada, os inóculos foram dimensionados para um volume final de 80 L usando fotobiorreatores de coluna de bolhas ao ar livre com pH controlado, dentro de estufa. A produção em escala piloto da cepa foi realizada nas instalações da planta piloto da *Universidad de Almería* localizada no *Instituto Andaluz de Investigación y Formación Agraria, Pesquera, Alimentaria y de la Producción Ecológica*- IFAPA (Almería, Espanha). O meio de cultivo utilizado foi composto de $0,90 \text{ g L}^{-1}$ de NaNO₃, $0,18 \text{ g L}^{-1}$ de MgSO₄, $0,14 \text{ g L}^{-1}$ de K₂PO₄ e $0,03 \text{ g L}^{-1}$ de karentol® (Kenogard, Espanha), que é uma mistura sólida comercial de micronutrientes que incluem boro, cobre, ferro, manganês, molibdênio e zinco (MORILLAS-ESPAÑA et al., 2020).

2.2 FOTOBIORREATOR E CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS

O biorreator utilizado para a produção de *Scenedesmus almeriensis* foi um fotobiorreator em cascata de camada fina (*thin-layer*) de canal único com superfície de 63 m^2 e volume total de 2400 L, dentro de uma estufa. O biorreator consiste de um canal inclinado, por onde o cultivo flui por gravidade (FIGURA 1A). No final do canal,

o líquido cai em um tanque (FIGURA 1B), de onde é bombeado (FIGURA 1C) até o ponto inicial do canal. Antes de entrar de fato no canal, o cultivo passa por uma coluna de dessorção onde ocorre a aeração do meio (FIGURA 1D).

FIGURA 1- ESQUEMA REPRESENTATIVO DA VISTA DE TOPO E LATERAL DO REATOR *THIN-LAYER* (A) E IMAGENS DO TANQUE (B), BOMBA DE RECIRCULAÇÃO DO CULTIVO (C) E COLUNA DE DESSORÇÃO (D)



O cultivo foi realizado no modo semi-contínuo com taxa de diluição de $0,3 \text{ d}^{-1}$ (MORILLAS-ESPAÑA et al., 2020), durante os meses de junho e julho (verão no hemisfério norte). O ar foi injetado continuamente na coluna (75 L min^{-1}). Sondas de pH e oxigênio dissolvido (OD) foram instaladas no final do canal, onde os valores de OD são os mais altos. O pH 8 foi controlado por injeção de CO₂ sob demanda, nas

taxas de 2, 5, 10 e 15 L min⁻¹. O local de entrada do CO₂ no cultivo foi comparado entre a coluna de dessorção e a bomba que recircula o cultivo.

2.3 ANÁLISES DO CULTIVO

A concentração de biomassa (Cb, g L⁻¹) foi medida por peso seco filtrando 100 mL de cultivo através de filtros de 1 µm, secos a 80 °C em estufa por 24 h. A produtividade de biomassa (Pb, g m⁻² d⁻¹) foi calculada como o produto da concentração de biomassa pela taxa de diluição. O estado das células foi verificado diariamente medindo a razão de fluorescência da clorofila (Fv/Fm) com um fluorômetro AquaPen AP 100 (Photon System Instruments, República Tcheca). A absorvância a 680 e 750 nm foi medida diariamente usando espectrofotômetro GENESYS 10S UV-Vis (Thermo Fisher Scientific, Espanha) (COSTACHE et al., 2013).

A taxa de biofixação de CO₂ (TB, g L⁻¹ d⁻¹) foi calculada utilizando a produtividade de biomassa (Pb), pela equação $TB = Pb \cdot x_{cbm} \cdot (M_{CO_2} / M_C)$, onde x_{cbm} é a fração de carbono na biomassa (considerada 50%) e M_{CO_2} e M_C são os pesos moleculares do CO₂ e do carbono, respectivamente (TOLEDO-CERVANTES et al., 2013). A partir da taxa de biofixação, a eficiência de biofixação do CO₂ (E_{CO2}, % m m⁻¹) foi calculada de acordo com a equação $E_{CO_2} = (TB \cdot V_{\text{útil}} / \dot{m}) \cdot 100$, $V_{\text{útil}}$ é o volume de trabalho do fotobiorreator (L) e $\dot{m}$ a taxa de alimentação diária de CO₂ (mg d⁻¹) (ZHANG et al., 2002).

2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As respostas de crescimento da microalga foram comparadas por análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de Tukey ao nível de confiança de 95% no software *Statistica* 8.0.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

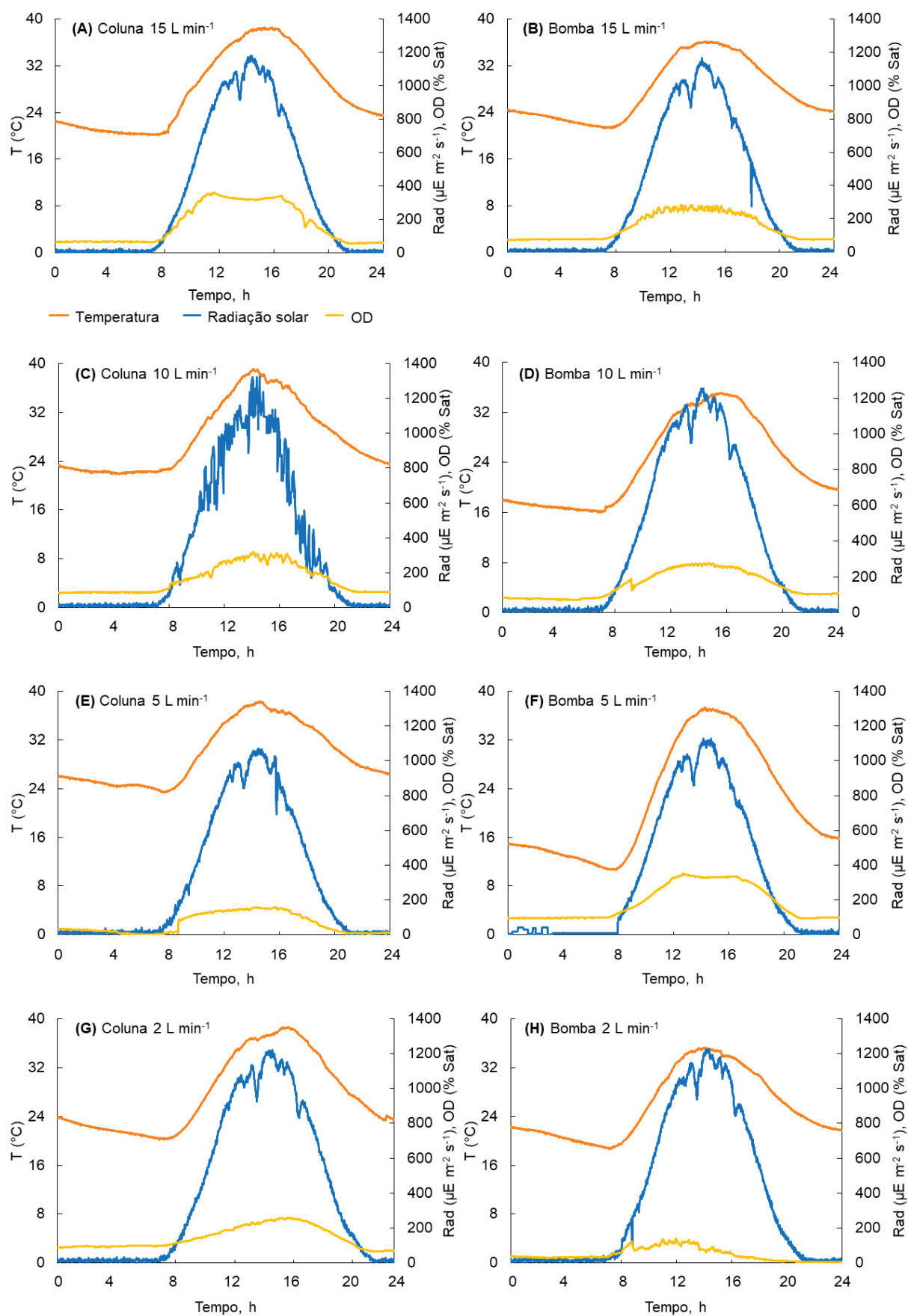
Os experimentos foram realizados no verão do hemisfério norte (junho-julho) quando não houve grande variação diária entre temperatura e luminosidade do cultivo (FIGURA 2). A radiação máxima chegou a 1321,3 µE m⁻² s⁻¹ e a temperatura média

dos dias foi de 26.5 ± 2.5 °C, com mínimas de 10 °C durante a noite e máximas de 39,1 °C nas horas de maior radiação solar. *Scenedesmus almeriensis* está naturalmente presente em Almería (Espanha), de modo que está adaptada as condições meteorológicas da região (MORILLAS-ESPAÑA et al., 2020), sendo isolada em águas normalmente expostas a irradiância de $2000 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e temperatura de 45 °C (SÁNCHEZ et al., 2008b).

A concentração de OD segue o comportamento da radiação solar, devido a fotossíntese. Durante as horas de maior radiação solar, a concentração de OD pode chegar entre 137,8% Sat (ensaio 2 L min⁻¹ na bomba de recirculação) a 360,2% Sat (ensaio 15 L min⁻¹ na coluna), equivalente a 10,96 a 28,8 gO₂ m⁻² h⁻¹, com mínimas durante a noite de 3,3 (bomba de recirculação 2 L min⁻¹) a 93 (bomba de recirculação 5 L min⁻¹). Com exceção da taxa de 5 L min⁻¹, a concentração de OD é maior nos ensaios na coluna. Morillas-España et al. (2020) com o mesmo reator do presente estudo observaram acúmulo de OD até 400% Sat. no verão em Almería, que limitou o crescimento de *Scenedesmus almeriensis* nos meses de junho e julho, quando a radiação solar foi mais elevada (até $1800 \mu\text{E m}^{-1} \text{s}^{-1}$). Concentrações de oxigênio acima de 300% Sat. indicam ineficiência de remoção do oxigênio dissolvido, o que pode inibir o crescimento celular (IPPOLITI et al., 2016) e reduzir a capacidade de transferência de massa do cultivo (BARCELÓ-VILLALOBOS et al., 2018). Em altas concentrações de OD, a fotorrespiração é potencializada reduzindo a produtividade de biomassa (MORAES et al., 2020). A taxa de OD variou de 2 a 3 gO₂ m⁻² h⁻¹ de manhã e de 8-10 gO₂ m⁻² h⁻¹ ao meio-dia em reatores *thin-layer* de 600 L (REARTE et al., 2021). O acúmulo de oxigênio dissolvido é um dos principais fatores que limitam o crescimento das microalgas, causando danos no aparelho fotossintético, membranas e componentes celulares, podendo até se tornar tóxico em altas concentrações (BARCELÓ-VILLALOBOS et al., 2019; MORILLAS-ESPAÑA et al., 2020).

De acordo com Acien et al. (2012), a injeção de CO₂ sob demanda é um método eficiente de fornecimento de carbono e minimiza as perdas de gás para a atmosfera, dependendo da capacidade de utilização pela cultura. O consumo do CO₂ pelas microalgas resulta em acúmulo de íons OH⁻ no meio e consequente aumento do pH (GROBBELAAR, 2013). A injeção sob demanda supre o CO₂ consumido e reestabelece o valor do pH (MORAES et al., 2020).

FIGURA 2- TEMPERATURA (T), RADIAÇÃO SOLAR (Rad) E OXIGÊNIO DISSOLVIDO (OD) COM INJEÇÃO DE CO₂ DE 15 A 2 L min⁻¹ NA COLUNA E BOMBA



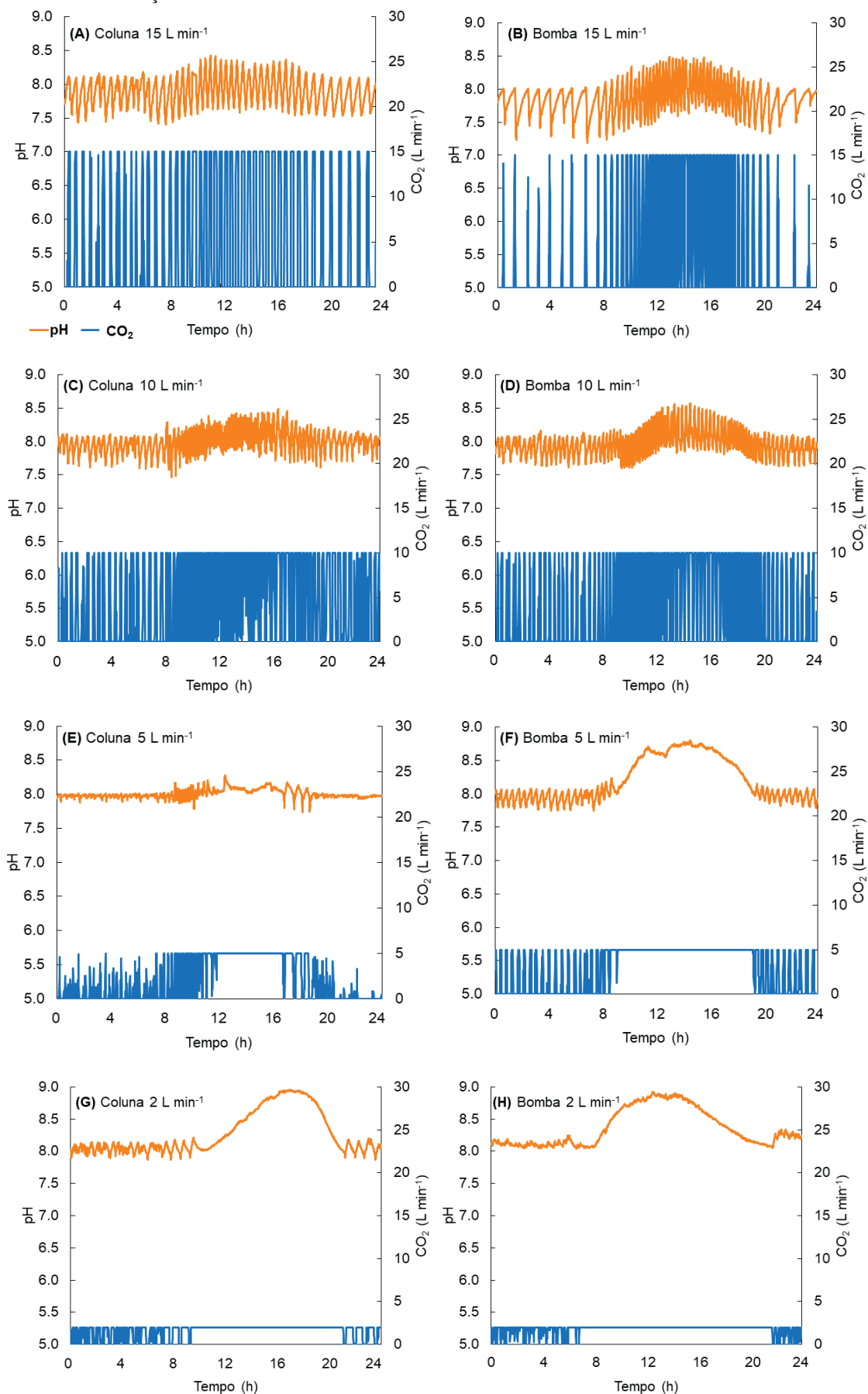
Reatores *thin-layer*, devido à baixa altura de cultivo que permite elevada entrada de luz, apresentam elevada produtividade de biomassa. Em contrapartida, a altura pode acelerar a taxa de evaporação de água e perdas do CO₂ adicionado ao cultivo. A unidade de transferência de matéria foi adicionada ao reator (coluna de dessorção), a fim de aumentar o tempo de contato entre o CO₂ adicionado e o meio líquido, facilitando a transferência de massa. No entanto, baixo aproveitamento do carbono injetado na coluna estava sendo observado, já que o pH não parecia bem controlado. Alguns estudos reportavam injetar o CO₂ na bomba de recirculação do cultivo (REARTE et al., 2021) e que a taxa de CO₂ injetado pode influenciar o crescimento da microalga (MORAES et al., 2020).

Ao longo do comprimento do canal de reatores *thin-layer* é normal ocorrer aumento do pH, pela característica tampão do carbonato-bicarbonato no meio de cultivo, que compensa o carbono inorgânico consumido na fotossíntese. No entanto, no sistema com injeção sob demanda, quando o valor de pH se afasta muito do *setpoint* significa que a injeção de CO₂ não foi adequada (BARCELÓ-VILLALOBOS et al., 2019). Com as taxas de 10 e 15 L min⁻¹ é possível bom controle do pH independentemente de onde é injetado o gás (coluna de dessorção ou bomba de recirculação do cultivo) (FIGURA 3).

As taxas de 2 e 5 L min⁻¹ parecem ser insuficientes, demandando muito tempo de injeção e assim mesmo o pH sobe a 8,7-9. De acordo com BARCELÓ-VILLALOBOS et al. (2019), quando o consumo de CO₂ pela microalga é maior que a capacidade de transferência pode ocorrer essa subida do pH, que não é muito alta, porém pode afetar o cultivo, visto que o pH em reatores *thin-layer* é um dos principais fatores determinantes para a eficiência desse sistema. Com a taxa de 15 L min⁻¹ na bomba de recirculação o pH mínimo chega a 7,2. Algumas vezes, com o tempo que o sistema leva para responder a variação do pH, CO₂ é injetado em excesso, o que reduz o pH mais do que o necessário (MORAES et al., 2020).

Moraes et al. (2020), ao fornecer entre 1,04 e 3,12 L min⁻¹ de CO₂ à cultivos de *Nannochloropsis gaditana* em reatores tubulares horizontais de 2,6 m³, observaram ótimo controle do pH pois o CO₂ fornecido era prontamente consumido. Com taxas maiores, de 20 L min⁻¹, os autores observaram fornecimento de CO₂ em excesso, que provocou variação relevante de pH, pois a microalga não podia consumir todo o carbono fornecido.

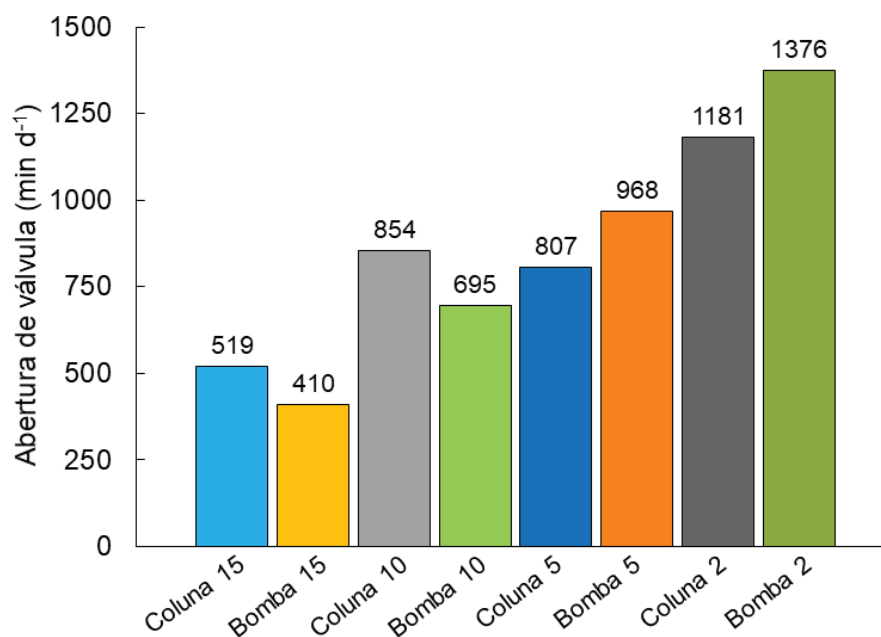
FIGURA 3- VARIAÇÃO DE pH E INJEÇÃO DE CO₂ NA COLUNA DE DESSORÇÃO E BOMBA DE RECIRCULAÇÃO DO CULTIVO EM DIFERENTES NAS TAXAS DE ENTRADA DO GÁS.



Nas taxas de 15 e 10 L min⁻¹ o sistema trabalhou abrindo e fechando a injeção de CO₂ periodicamente, sendo menos frequente a injeção durante a noite. Já com as taxas de 5 e 2 L min⁻¹, nas horas de maior iluminância o sistema manteve-se aberto por várias horas seguidas, injetando grande quantidade do gás. Maior injeção do CO₂ ocorre durante o dia, intensificando-se perto do meio-dia em todas as taxas. A injeção do gás pode ser correlacionada com a atividade fotossintética, que é influenciada pela radiação solar (ARBIB et al., 2013; MORAES et al., 2020).

O tempo em que a válvula de injeção de CO₂ se mantém aberta é inversamente proporcional a taxa de CO₂ injetado (FIGURA 4), para ambos locais de injeção, variando de 410 a 1376 min d⁻¹.

FIGURA 4- TEMPO (min) QUE O SISTEMA INJETA CO₂ NO CULTIVO DURANTE O DIA.



Observa-se que, quanto menor a taxa, mais tempo o sistema precisa injetar CO₂ no cultivo para estabilizar o pH. A redução do tempo de injeção com 15 L min⁻¹ de CO₂ na bomba de recirculação do cultivo foi significativa e implica em menos tempo da válvula aberta, o que contribui para a economia de energia do sistema. Nas taxas de 15 e 10 L min⁻¹ a entrada na coluna de dessorção injeta mais que a bomba de recirculação, enquanto que com 5 e 2 L min⁻¹ a injeção dura mais tempo quando ocorre bomba de recirculação. As taxas menores são insuficientes para manter o pH estável.

A fluorescência da clorofila, concentração de biomassa, produtividade de biomassa, taxa de biofixação de CO₂ e eficiência de biofixação foram avaliados nos cultivos com 10 e 15 L_{CO2} min⁻¹ com entrada nos dois locais de injeção (TABELA 1).

TABELA 1- FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA (Fv/Fm), CONCENTRAÇÃO DE BIOMASSA (Cb), PRODUTIVIDADE DE BIOMASSA (Pb), TAXA DE BIOFIXAÇÃO DE CO₂ (TB) E EFICIÊNCIA DE BIOFIXAÇÃO (E_{CO2}) DOS CULTIVOS COM 10 E 15 L_{CO2} min⁻¹.

	Fv/Fm	Cb, g L ⁻¹	Pb, g m ⁻² d ⁻¹	TB, g L ⁻¹ d ⁻¹	E _{CO2} , %
10 L_{CO2} min⁻¹					
Bomba	0,65	2,19 ± 0,04 ^b	25,1 ± 0,5 ^a	1,21	26,01
Coluna	0,56	2,58 ± 0,34 ^a	29,5 ± 3,9 ^a	1,42	25,67
15 L_{CO2} min⁻¹					
Bomba	0,62	1,18 ± 0,18 ^c	14,5 ± 1,0 ^b	0,70	16,54
Coluna	0,43	1,38 ± 0,09 ^c	15,8 ± 1,0 ^b	0,76	13,76

Média ± desvio padrão. Letras sobrescritas idênticas na mesma coluna indicam que as médias não diferem significativamente ao nível de confiança de 95% (p≥0,05).

O valor de Fv/Fm que indica o estado fisiológico das células manteve-se próximo a 0,60 que é o ideal para a microalga *Scenedesmus* (MORILLAS-ESPAÑA et al., 2020). O valor mais baixo (0,43) para o cultivo com 15 L min⁻¹ na coluna mostra que houve condições desfavoráveis para as células. Todos os testes foram realizados em condições aproximadas de temperatura e radiação solar, o que não influenciou nesse parâmetro. De acordo com Rearte et al. (2021), a redução no valor de Fv/Fm pode ocorrer quando a cultura está com a concentração celular baixa, o que aumenta a irradiância média por célula. Dessa forma a célula precisa se aclimatar ou pode sofrer fotoinibição. O cultivo com taxa de 10 L_{CO2} min⁻¹ apresentou concentração de biomassa quase duas vezes maior que com 15 L_{CO2} min⁻¹, o que pode ter favorecido esse fenômeno. O maior valor de Fv/Fm foi encontrado no cultivo com 10 L min⁻¹ na bomba de recirculação (0,65) e a maior concentração de biomassa com a mesma taxa de CO₂, porém com entrada na coluna (2,58 g L⁻¹).

A produtividade nesse cultivo se manteve entre 14,5 a 29,5 g m⁻² d⁻¹, faixa adequada para reatores *thin-layer*. Em cultivos de *Scenedesmus* sp. em *thin-layer* de 32 m² (volume útil de 640 L), com injeção de CO₂ sob demanda a 5 L min⁻¹, a

produtividade esteve na faixa de 26,6-45,9 g m⁻² d⁻¹ (SÁNCHEZ-ZURANO et al., 2020). Os autores afirmam que a produtividade máxima é encontrada nos meses de maior radiação solar (maio, junho e julho). A produtividade superior a 30 g m⁻² d⁻¹ para diversas espécies é relatada em muitos trabalhos, em curtos períodos de cultivo. A longo prazo, a produtividade reduz, variando conforme condições climáticas, estado da célula e condições de operação do cultivo (DOUCHA; LÍVANSKÝ, 2009). *Scenedesmus almeriensis* cultivada no mesmo reator do presente estudo, apresentou produtividade entre 15 e 30 g m⁻² d⁻¹, que variou dependendo da estação do ano (MORILLAS-ESPAÑA et al., 2020). A produtividade de cultivos *outdoor* de *Scenedesmus obliquus* cultivada em julho/agosto na Bélgica (irradiância até 1700 µE m⁻² s⁻¹ e temperatura de 25 ± 5 °C), em reatores *thin-layer* de 35 m² com pH controlado sob demanda de CO₂ foi de 15,8 g m⁻² d⁻¹. Segundo os autores, a produtividade foi limitada pela disponibilidade de CO₂ pelo *design* do reator, podendo ser suprimida pela suplementação da fonte de carbono (DE MARCHIN et al., 2015). Em estudos de Ayatollahi et al. (2021), o crescimento de *Chlorella vulgaris* nas concentrações atmosféricas de CO₂ foi mais lento do que em concentrações mais elevadas, de até 5%, devido à falta de carbono. De 0,04 a 5% de CO₂ a concentração celular aumentou de 0,76 para 0,90 g L⁻¹. Estudos com *Chlorella vulgaris* cultivada em *thin-layer* de 90 m², com CO₂ fornecido sob demanda entrando na tubulação que precede a bomba de recirculação, chegaram à produtividade de 27 g m⁻² d⁻¹ (REARTE et al., 2021). A produtividade de biomassa não apresenta diferença significativa comparados os dois locais de injeção pra a mesma taxa. No entanto, com a taxa de 10 L CO₂ min⁻¹ obteve-se valores quase duas vezes maiores de produtividade comparado a injeção de 15 L CO₂ min⁻¹. O aumento da taxa de CO₂ pode ter ocasionado inibição do crescimento celular. A taxa de 10 L min⁻¹ resulta em economia de fonte de carbono, sendo suficiente para manter o cultivo no pH ideal e a escolha da coluna de dessorção ou da bomba de recirculação do cultivo para a entrada do gás depende do sistema disponível para cultivo.

A taxa de biofixação de CO₂ foi maior com 10 L CO₂ min⁻¹, apresentando melhor resultado com injeção na coluna. A eficiência de biofixação não apresenta diferença significativa entre bomba de recirculação e coluna de dessorção na taxa de 10 L min⁻¹ e foi 1,8 vezes maior que na taxa de 15 L min⁻¹. A taxa de biofixação de CO₂ de *Scenedesmus obliquus* cultivada *indoor* em reatores coluna de bolha de 1 L e aeração de 1 vvm com ar puro, ar enriquecido com 7,5 ou 15% v v⁻¹ de CO₂ foi 0,36, 1,34 e

1,19 g L⁻¹ d⁻¹, respectivamente. O resultado mostra que a biofixação não apresenta incremento linear conforme aumenta a concentração de CO₂ (ASSUNÇÃO, 2015). A redução da absorção do CO₂ com o aumento da taxa de injeção pode ser causada por coalescência de bolhas do gás no fluxo mais alto, que leva a redução específica da área interfacial gás-líquido (DOUCHA; LÍVANSKÝ, 2006). *Scenedesmus obtusiusculus* AT-UAM cultivada em reator híbrido (coluna de bolhas de 2,5 L combinado com *raceway* de 100 L) com gás de combustão real a 150 mL min⁻¹, pode chegar à produtividade de biomassa de 41,8 mg L d⁻¹ e taxa de biofixação de CO₂ e eficiência de biofixação de 111,4 mg L⁻¹ d⁻¹ e 76,7%, respectivamente (ESTRADA-GRAF et al., 2018). Comparado ao presente estudo, a produtividade de biomassa é menor, porém com maior eficiência de biofixação. Segundo Estrada-Graf et al. (2018), há vantagens tanto na utilização do CO₂ quanto nos parâmetros de crescimento da cultura ao acoplar a coluna de bolhas ao sistema aberto, o que pode ser comprovado com os resultados de taxa de biofixação do presente estudo.

4 CONCLUSÃO

A injeção de 10 e 15 L min⁻¹ de CO₂ possibilitou maior estabilidade do pH e menos tempo de trabalho da válvula *On/Off*, o que acarreta em menor consumo de energia no sistema. Maior produtividade de biomassa foi obtida com 10 L_{CO2} min⁻¹ na coluna de dessorção (29,5 g m⁻² d⁻¹). Na mesma taxa, injetando na bomba de recirculação, também foi obtida elevada produtividade de biomassa (25 g m⁻² d⁻¹), que pode ser considerada viável nos casos em que o reator não possui a coluna de dessorção acoplada. No caso de possuir a coluna, a injeção do CO₂ pode ser realizada nesse componente para melhor performance do cultivo.

REFERÊNCIAS

- ACIÉN, F. G.; FERNÁNDEZ, J. M.; MAGÁN, J. J.; MOLINA, E. Production cost of a real microalgae production plant and strategies to reduce it. **Biotechnology Advances**, v. 30, n. 6, p. 1344–1353, 2012
- APEL, A. C.; PFAFFINGER, C. E.; BASEDAHL, N.; MITTWOLLEN, N.; GÖBEL, J.; SAUTER, J.; BRÜCK, T.; WEUSTER-BOTZ, D. Open thin-layer cascade reactors for saline microalgae production evaluated in a physically simulated Mediterranean summer climate. **Algal Research**, v. 25, p. 381–390, 2017
- ARBIB, Z.; RUIZ, J.; ÁLVAREZ-DÍAZ, P.; GARRIDO-PÉREZ, C.; BARRAGAN, J.; PERALES, J. A. Effect of pH control by means of flue gas addition on three different photo-bioreactors treating urban wastewater in long-term operation. **Ecological Engineering**, v. 57, n. 226–235, 2013
- ASSUNÇÃO, J. **Influence of CO₂ on *Scenedesmus obliquus*, *Chlorella vulgaris* and *Chlorella protothecoides* microalgae growth and evaluation of its biomass.** 2015. Disponível em: <https://fenix.tecnico.ulisboa.pt/downloadFile/1126295043834336/Resumo%20alargado.pdf>. Acesso em 5 mai. 2022.
- AYATOLLAHI, S. Z.; ESMAEILZADEH, F.; MOWLA, D. Integrated CO₂ capture, nutrients removal and biodiesel production using *Chlorella vulgaris*. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, p. 2, 2021.
- BARCELÓ-VILLALOBOS, M.; GUZMÁN SÁNCHEZ, J. L.; MARTÍN CARA, I.; SÁNCHEZ MOLINA, J. A.; ACIÉN FERNÁNDEZ, F. G. Analysis of mass transfer capacity in raceway reactors. **Algal Research**, v. 35, p. 91–97, 2018.
- BARCELÓ-VILLALOBOS, M.; SERRANO, C. G.; ZURANO, A. S.; GARCÍA, L. A.; MALDONADO, S. E.; PEÑA, J.; FERNÁNDEZ, F. G. A. Variations of culture parameters in a pilot-scale thin-layer reactor and their influence on the performance of *Scenedesmus almeriensis* culture. **Bioresource Technology Reports**, v. 6, p. 190–197, 2019.
- CARDIAS, B. B.; MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. CO₂ conversion by the integration of biological and chemical methods: *Spirulina* sp. LEB 18 cultivation with diethanolamine and potassium carbonate addition. **Bioresource Technology**, 267, 77–83, 2018.
- COSTA, J. A. V.; FREITAS, B. C. B.; CRUZ, C. G.; SILVEIRA, J. T.; MORAIS, M. G. Potential of microalgae as biopesticides to contribute to sustainable agriculture and environmental development. In **Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes**. Taylor and Francis, 2019, v. 54, n. 5, p. 366–375.

DE MARCHIN, T.; ERPICUM, M.; FRANCK, F. Photosynthesis of *Scenedesmus obliquus* in outdoor open thin-layer cascade system in high and low CO₂ in Belgium. **Journal of Biotechnology**, v. 215, p. 2–12, 2015.

DEPRÁ, M. C.; MÉRIDA, L. G. R.; DE MENEZES, C. R.; ZEPKA, L. Q.; JACOB-LOPES, E. A new hybrid photobioreactor design for microalgae culture. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 144, p. 1–10, 2019.

DOUCHA, J.; LÍVANSKÝ, K. Productivity, CO₂/O₂ exchange and hydraulics in outdoor open high density microalgal (*Chlorella* sp.) photobioreactors operated in a Middle and Southern European climate. **Journal of Applied Phycology**, v. 18, n. 6, p. 811–826, 2006.

DOUCHA, J.; LÍVANSKÝ, K. Outdoor open thin-layer microalgal photobioreactor: Potential productivity. **Journal of Applied Phycology**, v. 21, n. 1, p. 111–117, 2009.

ERBLAND, P.; CARON, S.; PETERSON, M.; ALYOKHIN, A. Design and performance of a low-cost, automated, large-scale photobioreactor for microalgae production. **Aquacultural Engineering**, v. 90, p. 102103, 2020.

ESTRADA-GRAF, A.; HERNÁNDEZ, S.; MORALES, M. Biomitigation of CO₂ from flue gas by *Scenedesmus obtusiusculus* AT-UAM using a hybrid photobioreactor coupled to a biomass recovery stage by electro-coagulation-flotation. **Advances In Environmental Biotechnology and Engineering**, v.27, p. 28561-28574, 2018

GROBBELAAR, J. U. Inorganic algal nutrition. **Handbook of microalgal culture**. Wiley, Hoboken, p. 123–133, 2013.

HOYO, Á.; RODRÍGUEZ-MIRANDA, E.; GUZMÁN, J. L.; ACIÉN, F. G.; BERENGUEL, M.; MORENO, J. C. A computer-based tool to simulate raceway photobioreactors for design, operation and control purposes. **Computers and Chemical Engineering**, v. 156. 2022

IPPOLITI, D.; GÓMEZ, C.; MORALES-AMARAL, M.; PISTOCCHI, R.; FERNÁNDEZ-SEVILLA, J. M.; ACIÉN, F. G. Modeling of photosynthesis and respiration rate for *Isochrysis galbana* (T-Iso) and its influence on the production of this strain. **Bioresource Technology**, v. 203, p. 71–79, 2016.

MASOJÍDEK, J.; MALAPASCUA, J. R.; KOPECKÝ, J.; SERGEJEVOVÁ, M. Thin-layer systems for mass cultivation of microalgae: Flat panels and sloping cascades. In **Algal Biorefineries: Volume 2: Products and Refinery Design**, Springer, 2015, p. 237–261.

MORAES, L.; ROSA, G. M.; CARA, I. M.; SANTOS, L. O.; MORAIS, M. G.; GRIMA, E. M.; COSTA, J. A. V.; FERNÁNDEZ, F. G. A. Bioprocess strategies for enhancing the outdoor production of *Nannochloropsis gaditana*: an evaluation of the effects of pH on culture performance in tubular photobioreactors. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 43, p. 1823–1832, 2020.

MORAIS, M. G.; MORAIS, E. G.; CARDIAS, B. B.; VAZ, B. S.; MOREIRA, J. B.; MITCHELL, B. G.; COSTA, J. A. V. Microalgae as a source of sustainable biofuels. In **Recent Developments in Bioenergy Research**. Elsevier, 2020, p. 253–271.

MORALES-AMARAL, M.; GÓMEZ-SERRANO, C.; ACIÉN, F. G.; FERNÁNDEZ-SEVILLA, J. M.; MOLINA-GRIMA, E. Outdoor production of *Scenedesmus* sp. in thin-layer and raceway reactors using centrate from anaerobic digestion as the sole nutrient source. **Algal Research**, v. 12, p. 99–108, 2015.

MORILLAS-ESPAÑA, A.; LAFARGA, T.; GÓMEZ-SERRANO, C.; ACIÉN-FERNÁNDEZ, F. G.; GONZÁLEZ-LÓPEZ, C. V. Year-long production of *Scenedesmus almeriensis* in pilot-scale raceway and thin-layer cascade photobioreactors. **Algal Research**, v. 51, p. 102060, 2020.

PAWLOWSKI, A.; MENDOZA, J. L.; GUZMÁN, J. L.; BERENGUEL, M.; ACIÉN, F. G.; DORMIDO, S. Selective pH and dissolved oxygen control strategy for a raceway reactor within an event-based approach. **Control Engineering Practice**, v. 44, p. 209–218, 2015.

REARTE, T. A.; CELIS-PLÁ, P. S. M.; NEORI, A.; MASOJÍDEK, J.; TORZILLO, G.; GÓMEZ-SERRANO, C.; SILVA BENAVIDES, A. M.; ÁLVAREZ-GÓMEZ, F.; ABDALA-DÍAZ, R. T.; RANGLOVÁ, K.; CAPORGNO, M.; MASSOCATO, T. F.; SILVA, J. C.; AL MAHROUQUI, H.; ATZMÜLLER, R.; FIGUEROA, F. L. Photosynthetic performance of *Chlorella vulgaris* R117 mass culture is moderated by diurnal oxygen gradients in an outdoor thin layer cascade. **Algal Research**, v. 54, 2021.

RODRÍGUEZ-MIRANDA, E.; GUZMÁN, J. L.; BERENGUEL, M.; ACIÉN, F. G.; VISIOLI, A. Diurnal and nocturnal pH control in microalgae raceway reactors by combining classical and event-based control approaches. **Water Science and Technology**, v. 82, n. 6, p. 1155–1165, 2020.

SÁNCHEZ, J. F.; FERNÁNDEZ, J. M.; ACIÉN, F. G.; RUEDA, A.; PÉREZ-PARRA, J.; MOLINA, E. Influence of culture conditions on the productivity and lutein content of the new strain *Scenedesmus almeriensis*. **Process Biochemistry**, v. 43, p. 398–405, 2008.

SÁNCHEZ-ZURANO, A.; GARRIDO CÁRDENAS, J. A.; GÓMEZ SERRANO, C.; MORALES AMARAL, M.; ACIÉN-FERNÁNDEZ, F. G.; FERNÁNDEZ SEVILLA, J. M.; MOLINA GRIMA, E. Year-long assessment of a pilot-scale thin-layer reactor for microalgae wastewater treatment. Variation in the microalgae-bacteria consortium and the impact of environmental conditions. **Algal Research**, v. 50, p. 101983, 2020.

SOUZA, C. M. M.; BASTOS, T. S.; SANTOS, M. C. Microalgae use in animal nutrition. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 16, e53101622986, 2021.

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.

TORZILLO, G.; ZITTELLI, G. C.; BENAVIDES, A. S.; RANGLOVA, K.; MASOJIDEK, J. Culturing of microalgae for food applications. In **Cultured Microalgae for the Food Industry**. Academic Press, 2021, p. 1-48.

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.

5 CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

As nanofibras de PAN são alternativas promissoras para incrementar a biofixação de CO₂ e produção de biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 em cultivos em escala laboratorial e podem ser expandidas para cultivos maiores.

Os cultivos *outdoor* em reator *raceway* apresentaram elevada produtividade de biomassa e biofixação de CO₂ durante todo o ano. As alterações em temperatura e radiação solar ao longo do dia, bem como nas diferentes estações influenciam o pH da cultura, que pode ser controlado pela injeção de CO₂. O controle de pH por demanda de CO₂ tradicionalmente utilizado apenas durante o dia pode ser substituído pelo controle dia e noite, a fim de evitar distúrbios no cultivo e manter a estabilidade da célula, aumentando a produção de biomassa.

Em reatores *thin-layer*, que apresentam maior produtividade de biomassa comparada aos outros reatores, a taxa de injeção de CO₂ e o local de entrada do gás são importantes para evitar perdas de carbono no reator. Em projetos onde há coluna de dessorção, a entrada pode ser realizada nesse compartimento. No entanto, não havendo possibilidade de adicionar esse componente, pode ser realizada na própria bomba de recirculação do cultivo.

A pesquisa científica é um ciclo. Quando iniciamos um trabalho em determinado tema, geralmente baseado em trabalhos anteriores, tentamos responder questões em aberto. No entanto, no decorrer do trabalho sempre nos deparamos com mais questões a serem respondidas. A partir do estudo desenvolvido, observamos os seguintes pontos que podem ser desenvolvidos em trabalhos futuros:

- Utilizar as nanofibras para adsorção de CO₂ em cultivos abertos, em reatores de escala piloto avaliando custos e tempo de produção dos adsorventes;
- Realizar o controle de pH sob demanda de CO₂ durante o dia e a noite em reatores *raceway* ao longo do ano e avaliar a composição da biomassa;
- Reutilizar o meio de cultivo da biomassa colhida em reatores *raceway* e observar o consumo dos nutrientes pela microalga;
- Acompanhar a produção de biomassa e avaliar a composição da biomassa microalgal em reatores *thin-layer outdoor* durante todo o ano.

6 TRABALHOS PUBLICADOS DURANTE O DOUTORADO

Artigos

Clean Technologies and Environmental Policy
<https://doi.org/10.1007/s10098-021-02220-x>

ORIGINAL PAPER



Advances in the synthesis and applications of nanomaterials to increase CO₂ biofixation in microalgal cultivation

Michele Greque de Morais¹ · Bruna Pereira Vargas¹ · Bruna da Silva Vaz¹ · Bruna Barcelos Cardias^{2,3} · Jorge Alberto Vieira Costa²

Received: 11 January 2021 / Accepted: 1 October 2021
 © The Author(s), under exclusive licence to Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2021



polysaccharides



Review

Microalgae Polysaccharides: An Alternative Source for Food Production and Sustainable Agriculture

Juliana Botelho Moreira^{1,*} , Bruna da Silva Vaz¹, Bruna Barcelos Cardias^{2,3}, Camila Gonzales Cruz², Ana Claudia Araujo de Almeida¹, Jorge Alberto Vieira Costa² and Michele Greque de Morais¹

- ¹ Laboratory of Microbiology and Biochemistry, College of Chemistry and Food Engineering, Federal University of Rio Grande, P.O. Box 474, Rio Grande 96203-900, RS, Brazil; bruna_vaz_bg@hotmail.com (B.d.S.V.); almeidaanaclaudia011@gmail.com (A.C.A.d.A.); migreque@yahoo.com.br (M.G.d.M.)
 - ² Laboratory of Biochemical Engineering, College of Chemistry and Food Engineering, Federal University of Rio Grande, P.O. Box 474, Rio Grande 96203-900, RS, Brazil; brunabarcelosc@hotmail.com (B.B.C.); camilagonsalezacruz@hotmail.com (C.G.C.); jorgealbertovc@gmail.com (J.A.V.C.)
 - ³ Department of Bioprocess Engineering and Biotechnology, Federal University of Paraná, P.O. Box 19011, Curitiba 81531-990, PR, Brazil
- * Correspondence: julianapvi@yahoo.com.br

Capítulo



Recent Developments in Bioenergy Research

2020, Pages 253-271



Chapter 13 - Microalgae as a source of sustainable biofuels

Michele Greque de Morais¹, Etiele Greque de Morais², Bruna Barcelos Cardias², Bruna da Silva Vaz¹, Juliana Botelho Moreira¹, B. Greg Mitchell³, Jorge Alberto Vieira Costa²

Show more

+ Add to Mendeley Share Cite

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819597-0.00013-1>

Get rights and content

REFERÊNCIAS GERAIS

- ACIÉN, F. G.; GÓMEZ-SERRANO, C.; MORALES-AMARAL, M. M.; FERNÁNDEZ-SEVILLA, J. M.; MOLINA-GRIMA, E. Wastewater treatment using microalgae: how realistic a contribution might it be to significant urban wastewater treatment? **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, n. 21, p. 9013–9022, 2016.
- ACIÉN, F. G.; FERNÁNDEZ-SEVILLA, J. M.; GRIMA, E. M. Supply of CO₂ to closed and open photobioreactors. **Microalgal Production for Biomass and High-Value Products**, p. 225–252, 2017a.
- ACIÉN, F. G.; FERNÁNDEZ, J. M.; MAGÁN, J. J.; MOLINA, E. Production cost of a real microalgae production plant and strategies to reduce it. **Biotechnology Advances**, v. 30, n. 6, p. 1344–1353, 2012a.
- ACIÉN, F. G.; GONZÁLEZ-LÓPEZ, C. V.; FERNÁNDEZ SEVILLA, J. M.; MOLINA GRIMA, E. Conversion of CO₂ into biomass by microalgae: How realistic a contribution may it be to significant CO₂ removal? **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 96, p. 577–586, 2012b.
- ACIÉN, F. G.; MOLINA, E.; REIS, A.; TORZILLO, G.; ZITTELLI, G. C.; SEPÚLVEDA, C.; MASOJÍDEK, J. Photobioreactors for the production of microalgae. In **Microalgae-based biofuels and bioproducts**. Woodhead Publishing, 2017b, p. 1-44.
- ACIÉN, F. G.; GARCÍA CAMACHO, F.; CHISTI, Y. Photobioreactors: light regime, mass transfer, and scaleup. **Progress in Industrial Microbiology**, v. 35, p. 231–247, 1999.
- ALMEIDA, L. M. R.; FALCÃO, J. S.; TAVARES, P. P. L. G.; DA SILVA CRUZ, L. F.; NUNES, I. L.; COSTA, J. A. V.; DRUZIAN, J. I.; DE SOUZA, C. O. Utilização de Biomassa de *Spirulina platensis* para desenvolvimento de molho com alto teor proteico: um estudo piloto. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 4, p. 21172–21185, 2020.
- ALMOMANI, F.; JUDD, S.; BHOSALE, R. R.; SHURAIR, M.; ALJAML, K.; KHRAISHEH, M. Intergraded wastewater treatment and carbon bio-fixation from flue gases using *Spirulina platensis* and mixed algal culture. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 124, p. 240–250, 2019.
- ANJOS, M.; FERNANDES, B. D.; VICENTE, A. A.; TEIXEIRA, J. A.; DRAGONE, G. Optimization of CO₂ bio-mitigation by *Chlorella vulgaris*. **Bioresource Technology**, v. 139, p. 149–154, 2013.
- APEL, A. C.; PFAFFINGER, C. E.; BASEDAHL, N.; MITTWOLLEN, N.; GÖBEL, J.; SAUTER, J.; BRUCK, T.; WEUSTER-BOTZ, D. Open thin-layer cascade reactors for saline microalgae production evaluated in a physically simulated Mediterranean summer climate. **Algal Research**, v. 25, p. 381–390, 2017.

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, n. 6, 2015.

ARBIB, Z.; RUIZ, J.; ÁLVAREZ-DÍAZ, P.; GARRIDO-PÉREZ, C.; BARRAGAN, J.; PERALES, J. A. Effect of pH control by means of flue gas addition on three different photo-bioreactors treating urban wastewater in long-term operation. **Ecological engineering**, v. 57, p. 226–235, 2013.

ARCILA, J. S.; BUITRÓN, G. Influence of solar irradiance levels on the formation of microalgae-bacteria aggregates for municipal wastewater treatment. **Algal Research**, v. 27, p. 190–197, 2017.

ASSIS COELHO, D.; SILVA, A. R. S.; CASTRO, T. O. Análise da alcalinidade total e concentração de carbono inorgânico em trechos urbanos de rios: o exemplo do rio santa rita, região sudoeste da Bahia. In: VI CONGRESSO BRASILEIRO DE GESTÃO AMBIENTAL, 2015, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: IBEAS – Instituto Brasileiro de Estudos Ambientais, 2015. p. 1-4.

ASTM. American Society for Testing and Materials. **E986 – 04**: Standard practice for scanning electron microscope beam size characterization. West Conshohocken, PA, USA, 2010.

ASTM. American Society for Testing and Materials. **D3850-12**: Standard test method for rapid thermal degradation of solid electrical insulating materials by thermogravimetric method (TGA). West Conshohocken, PA, USA, 2013.

ASTM. American Society for Testing and Materials. **D7426-08**: Standard Test Method for Assignment of the DSC Procedure for Determining. West Conshohocken, PA, USA, 2014.

ASSUNÇÃO, J. **Influence of CO₂ on *Scenedesmus obliquus*, *Chlorella vulgaris* and *Chlorella protothecoides* microalgae growth and evaluation of its biomass.** 2015. Disponível em: [https://fenix.tecnico.ulisboa.pt/downloadFile/1126295043834336/Resumo%20alarga do.pdf](https://fenix.tecnico.ulisboa.pt/downloadFile/1126295043834336/Resumo%20alarga%20do.pdf). Acesso em 5 mai. 2022.

AYATOLLAHI, S. Z.; ESMAEILZADEH, F.; MOWLA, D. Integrated CO₂ capture, nutrients removal and biodiesel production using *Chlorella vulgaris*. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 2, 2021.

AZIZO, A. S.; WIRZAL, M. D. H.; BILAD, M. R.; YUSOFF, A. R. M. Assessment of nylon 6, 6 nanofibre membrane for microalgae harvesting. **AIP Conference Proceedings**, v. 1891, 2017.

BAO, Y.; LIU, M.; WU, X.; CONG, W.; NING, Z. In situ carbon supplementation in large-scale cultivations of *Spirulina platensis* in open raceway pond. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 17, n. 1, p. 93–99, 2012.

BARCELÓ-VILLALOBOS, M.; SÁNCHEZ, J. G.; CARA, I. M.; MOLINA, J. S.;

FERNÁNDEZ, F. A. Analysis of mass transfer capacity in raceway reactors. **Algal Research**, v. 35, p. 91-97, 2018.

BARCELÓ-VILLALOBOS, M.; FERNÁNDEZ-DEL OLMO, P.; GUZMÁN, J. L.; FERNÁNDEZ-SEVILLA, J. M.; FERNÁNDEZ, F. A. Evaluation of photosynthetic light integration by microalgae in a pilot-scale raceway reactor. **Bioresource Technology**, v. 280, p. 404-411, 2019a.

BARCELÓ-VILLALOBOS, M.; SERRANO, C. G.; ZURANO, A. S.; GARCÍA, L. A.; MALDONADO, S. E.; PEÑA, J.; FERNÁNDEZ, F. G. A. Variations of culture parameters in a pilot-scale thin-layer reactor and their influence on the performance of *Scenedesmus almeriensis* culture. **Bioresource Technology Reports**, v. 6, p. 190–197, 2019b.

BELTZUNG, A.; KLAUE, A.; COLOMBO, C.; et al. Polyacrylonitrile Nanoparticle-Derived Hierarchical Structure for CO₂ Capture. **Energy Technology**, v. 6, n. 4, p. 718–727, 2018.

BERENGUEL, M.; RODRÍGUEZ, F.; ACIÉN, F. G.; GARCÍA, J. L. Model predictive control of pH in tubular photobioreactors. **Journal of Process Control**, v. 14, p. 377–387, 2004.

BEZERRA, P. Q. M.; MORAES, L.; CARDOSO, L. G.; DRUZIAN, J. I.; MORAIS, M. G.; NUNES, I. L.; COSTA, J. A. V. *Spirulina* sp. LEB 18 cultivation in seawater and reduced nutrients: Bioprocess strategy for increasing carbohydrates in biomass. **Bioresource Technology**, v. 316, p. 123883, 2020.

BLEAKLEY, S.; HAYES, M. Algal Proteins: Extraction, Application, and Challenges Concerning Production. **Foods**, v. 6, n. 5, p. 33, 2017.

BRASIL. NDC **Contribuição Nacionalmente Determinada para Consecução do Objetivo da Convenção-Quadro das Nações Unidas sobre Mudança do Clima**. 2016. Disponível em: <[http://www.mma.gov.br/images/arquivo/80108/BRASIL INDC portugues FINAL.pdf](http://www.mma.gov.br/images/arquivo/80108/BRASIL%20INDC%20portugues%20FINAL.pdf)>. Acesso em 12 abr. 2022.

CARDIAS, B. B.; MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. CO₂ conversion by the integration of biological and chemical methods: *Spirulina* sp. LEB 18 cultivation with diethanolamine and potassium carbonate addition. **Bioresource Technology**, 267, 77–83, 2018.

CARDIAS, B. B.; TREVISOL, T. C.; BERTUOL, G. G.; COSTA, J. A. V.; SANTOS, L. O. Hydrolyzed *Spirulina* Biomass and Molasses as Substrate in Alcoholic Fermentation with Application of Magnetic Fields. **Waste and Biomass Valorization**, n. 0123456789, 2020. Springer Netherlands

CARVALHO, J. C.; BORGHETTI, I. A.; CARTAS, L. C.; et al. Biorefinery integration of microalgae production into cassava processing industry: Potential and perspectives. **Bioresource Technology**, v. 247, n. August 2017, p. 1165–1172, 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.

CASTRO, J. S.; CALIJURI, M. L.; FERREIRA, J.; ASSEMAN, P. P.; RIBEIRO, V. J. Microalgae based biofertilizer: A life cycle approach. **Science of the Total Environment**, v. 724, p. 138138, 2020.

CHANG, H. X.; HUANG, Y.; FU, Q.; LIAO, Q.; ZHU, X. Kinetic characteristics and modeling of microalgae *Chlorella vulgaris* growth and CO₂ biofixation considering the coupled effects of light intensity and dissolved inorganic carbon. **Bioresource Technology**, v. 206, p. 231–238, 2016.

CHAÚQUE, E. F. C.; DLAMINI, L. N.; ADELODUN, A. A.; GREYLING, C. J.; CATHERINE NGILA, J. Modification of electrospun polyacrylonitrile nanofibers with EDTA for the removal of Cd and Cr ions from water effluents. **Applied Surface Science**, v. 369, p. 19–28, 2016.

CHOI, W.; KIM, G.; LEE, K. Influence of the CO₂ absorbent monoethanolamine on growth and carbon fixation by the green alga *Scenedesmus* sp. **Bioresource Technology**, v. 120, p. 295–299, 2012.

CIARDI, M.; GÓMEZ-SERRANO, C.; MORALES-AMARAL, M.; ACIÉN, F. G.; LAFARGA, T.; FERNÁNDEZ-SEVILLA, J. M. Optimisation of *Scenedesmus almeriensis* production using pig slurry as the sole nutrient source. **Algal Research**, v. 61, p. 102580, 2022.

COMITRE, A. A.; VAZ, B. S.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. Renewal of nanofibers in *Chlorella fusca* microalgae cultivation to increase CO₂ fixation. **Bioresource Technology**, v. 321, 2021.

CORRÊA DA SILVA, M. G.; PIRES FERREIRA, S.; DORA, C. L.; HORT, M. A.; GIROLDO, D.; PRATES, D. F.; RADMANN, E. M.; BEMVENUTI, R. H.; COSTA, J. A. V.; BADIALE-FURLONG, E.; MUCCILLO-BAISCH, A. L. Phenolic compounds and antioxidant capacity of *Pediastrum boryanum* (*Chlorococcales*) biomass. **International Journal of Environmental Health Research**, v. 32, n. 1, p. 1–13, 2020.

COSTA, J. A. V.; FREITAS, B. C. B.; CRUZ, C. G.; SILVEIRA, J.; MORAIS, M. G. Potential of microalgae as biopesticides to contribute to sustainable agriculture and environmental development. **Journal of Environmental Science and Health - Part B**, v. 54, n. 5, p. 366-375, 2019a.

COSTA, J. A. V.; FREITAS, B. C. B.; ROSA, G. M.; MORAES, L.; MORAIS, M. G.; MITCHELL, B. G. Operational and economic aspects of *Spirulina*-based biorefinery. **Bioresource Technology**, v. 292, p. 121946, 2019b.

COSTACHE, T. A.; ACIÉN F. G.; MORALES, M. M.; FERNÁNDEZ-SEVILLA, J. M.; STAMATIN, I.; MOLINA, E. Comprehensive model of microalgae photosynthesis rate as a function of culture conditions in photobioreactors. **Applied Microbiology and**

Biotechnology, v. 97, p. 7627–7637, 2013.

DANESHVAR, E.; WICKER, R. J.; SHOW, P. L.; BHATNAGAR, A. Biologically-mediated carbon capture and utilization by microalgae towards sustainable CO₂ biofixation and biomass valorization – A review. **Chemical Engineering Journal**, v. 427, 2022.

DEAMICI, K. M.; SANTOS, L. O.; COSTA, J. A. V. Use of static magnetic fields to increase CO₂ biofixation by the microalga *Chlorella fusca*. **Bioresource Technology**, v. 276, p. 103–109, 2019.

DE GODOS, I.; MENDOZA, J. L.; ACIÉN, F. G.; MOLINA, E.; BANKS, C. J.; HEAVEN, S.; ROGALLA, F. Evaluation of carbon dioxide mass transfer in raceway reactors for microalgae culture using flue gases. **Bioresource Technology**, v. 153, p. 307–314, 2014.

DE MARCHIN, T.; ERPICUM, M.; FRANCK, F. Photosynthesis of *Scenedesmus obliquus* in outdoor open thin-layer cascade system in high and low CO₂ in Belgium. **Journal of Biotechnology**, v. 215, p. 2–12, 2015.

DEPRÁ, M. C.; MÉRIDA, L. G. R.; DE MENEZES, C. R.; ZEPKA, L. Q.; JACOB-LOPES, E. A new hybrid photobioreactor design for microalgae culture. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 144, p. 1–10, 2019.

DIANURSANTI; SANTOSO, A. Increasing Lipid Accumulation of *Chlorella vulgaris* Using *Spirulina platensis* in Flat Plate Reactor for Synthesizing Biodiesel. **Energy Procedia**, v. 65, p. 58–66, 2015.

DOUCHA, J.; LÍVANSKÝ, K. Productivity, CO₂/O₂ exchange and hydraulics in outdoor open high density microalgal (*Chlorella* sp.) photobioreactors operated in a Middle and Southern European climate. **Journal of Applied Phycology**, v. 18, n. 6, p. 811–826, 2006.

DOUCHA, J.; LÍVANSKÝ, K. Outdoor open thin-layer microalgal photobioreactor: Potential productivity. **Journal of Applied Phycology**, v. 21, n. 1, p. 111–117, 2009.

DOUCHA, J.; STRAKA, F.; LÍVANSKÝ, K. Utilization of flue gas for cultivation of microalgae (*Chlorella* sp.) in an outdoor open thin-layer photobioreactor. **Journal of Applied Phycology**, v. 17, n. 5, p. 403–412, 2005.

DUARTE, J. H.; FANKA, L. S.; COSTA, J. A. V. Utilization of simulated flue gas containing CO₂, SO₂, NO and ash for *Chlorella fusca* cultivation. **Bioresource Technology**, v. 214, p. 159–165, 2016.

DUARTE, J. H.; SOUZA, C. O.; DRUZIAN, J. I.; COSTA, J. A. V. Light emitting diodes applied in *Synechococcus nidulans* cultures: Effect on growth, pigments production and lipid profiles. **Bioresource Technology**, v. 280, p. 511–514, 2019.

DUARTE, J. H.; DE MORAIS, E. G.; RADMANN, E. M.; COSTA, J. A. V. Biological CO₂ 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. **Analitical Chemistry**, v. 28, p. 350–356, 1956.

EPA. Environmental Protection Agency. **Overview of Greenhouse Gases**. 2022. Disponível em: <https://www.epa.gov/ghgemissions/overview-greenhouse-gases>. Acesso em 16 mai. 2022.

ERBLAND, P.; CARON, S.; PETERSON, M.; ALYOKHIN, A. Design and performance of a low-cost, automated, large-scale photobioreactor for microalgae production. **Aquacultural Engineering**, v. 90, p. 102103, 2020.

ESTRADA-GRAF, A.; HERNÁNDEZ, S.; MORALES, M. Biomitigation of CO₂ from flue gas by *Scenedesmus obtusiusculus* AT-UAM using a hybrid photobioreactor coupled to a biomass recovery stage by electro-coagulation-flotation. **Advances In Environmental Biotechnology and Engineering**, v.27, p. 28561-28574, 2018

FERNÁNDEZ, I.; ACIÉN, F. G.; FERNÁNDEZ, J. M.; GUZMÁN, J. L.; MAGÁN, J. J.; BERENGUEL, M. Dynamic model of microalgal production in tubular photobioreactors. **Bioresource Technology**, v. 126, p.172–181, 2012.

FLEMING, R.; PARDINI, L. C.; ALVES, N.; GARCIA, E.; BRITO, C. Synthesis and thermal behavior of polyacrylonitrile/vinylidene chloride copolymer. **Polimeros**, v. 24, n. 3, p. 259–268, 2014.

FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, H. S. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissue. **Journal of Biological Chemistry**, v. 226, n. 1, p. 497–509, 1957.

FREITAS, B. C. B.; CASSURIAGA, A. P. A.; MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Pentoses and light intensity increase the growth and carbohydrate production and alter the protein profile of *Chlorella minutissima*. **Bioresource Technology**, v. 238, p. 248–253, 2017.

GARCÍA-MAÑAS, F.; GUZMÁN, J. L.; BERENGUEL, M.; ACIÉN, F. G. Biomass estimation of an industrial raceway photobioreactor using an extended Kalman filter and a dynamic model for microalgae production. **Algal Research**, v. 37, p. 103–114, 2019.

GARRIDO-CARDENAS, J. A.; MANZANO-AGUGLIARO, F.; ACIEN-FERNANDEZ, F. G.; MOLINA-GRIMA, E. Microalgae research worldwide. **Algal Research**, v. 35, p. 50–60, 2018.

GONÇALVES, A. L.; RODRIGUES, C. M.; PIRES, J. C. M.; SIMÕES, M. The effect of increasing CO₂ concentrations on its capture, biomass production and wastewater

bioremediation by microalgae and cyanobacteria. **Algal Research**, v. 14, p. 127–136, 2016.

GONZÁLEZ-LÓPEZ, C. V.; ACIÉN FERNÁNDEZ, F. G.; FERNÁNDEZ-SEVILLA, J. M.; SÁNCHEZ FERNÁNDEZ, J. F.; MOLINA GRIMA, E. Development of a process for efficient use of CO₂ from flue gases in the production of photosynthetic microorganisms. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 109, n. 7, p. 1637-1650, 2012.

GROBBELAAR, J. U. Inorganic algal nutrition. **Handbook of microalgal culture**. Wiley, Hoboken, p. 123–133, 2013.

GROBERHODE, C.; WEHLAGE, D.; GROTHE, T.; et al. Investigation of microalgae growth on electrospun nanofiber mats. **AIMS Bioengineering**, v. 4, n. 3, p. 376–385, 2017.

GU, S. Y.; WU, Q. L.; JIE, R. Preparation and surface structures of carbon nanofibers produced from electrospun PAN precursors. *New Carbon Materials*, v. 23, n. 2, p. 171-176, 2008.

HOYO, Á.; RODRÍGUEZ-MIRANDA, E.; GUZMÁN, J. L.; ACIÉN, F. G.; BERENGUEL, M.; MORENO, J. C. A computer-based tool to simulate raceway photobioreactors for design, operation and control purposes. **Computers and Chemical Engineering**, v. 156, 2022.

HYNSTOVA, V.; STERBOVA, D.; KLEJDUS, B.; HEDBAVNY, J.; HUSKA, D.; ADAM, V. Separation, identification and quantification of carotenoids and chlorophylls in dietary supplements containing *Chlorella vulgaris* and *Spirulina platensis* using High Performance Thin Layer Chromatography. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 148, p. 108–118, 2018.

IEA. International Energy Agency. **Energy Efficiency Indicators Highlights**. 2018. Disponível em: <www.iea.org/t&c/%0Ahttp://escholarship.org/uc/item/6tz8873z>. Acesso em 20 nov. 2020.

IEA. International Energy Agency. **Review 2021 Assessing the effects of economic recoveries on global energy demand and CO₂ emissions in 2021 Global Energy**. 2021. Disponível em: <https://www.iea.org/reports/global-energy-review-2021>. Acesso em: 10 mar. 2022.

IPPOLITI, D.; GÓMEZ, C.; MORALES-AMARAL, M.; PISTOCCHI, R.; FERNÁNDEZ-SEVILLA, J. M.; ACIÉN, F. G. Modeling of photosynthesis and respiration rate for *Isochrysis galbana* (T-Iso) and its influence on the production of this strain. **Bioresource Technology**, v. 203, p. 71–79, 2016.

JEBALI, A.; ACIÉN, F. G.; SAYADI, S.; MOLINA-GRIMA, E. Utilization of centrate from urban wastewater plants for the production of *Scenedesmus* sp. in a raceway-simulating reactor. **Journal of Environmental Management**, v. 211, p. 112–124, 2018.

JIMÉNEZ, C.; COSSÍO, B. R.; NIELL, F. X. Relationship between physicochemical variables and productivity in open ponds for the production of *Spirulina*: A predictive model of algal yield. **Aquaculture**, v. 221, n. 1–4, p. 331–345, 2003.

KIM, D. W.; JUNG, D. W.; ADELODUN, A. A.; JO, Y. M. Evaluation of CO₂ adsorption capacity of electrospun carbon fibers with thermal and chemical activation. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 134, n. 47, 2017.

KIRECCI, A.; ÖZKOÇ, Ü.; İÇOĞLU, H. I. Determination of optimal production parameters for polyacrylonitrile nanofibers. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 124, n. 6, p. 4961–4968, 2011.

KOLY, F. V. L.; SURATMAN, A.; SUYANTA. Adsorption of carbon dioxide with nanofibers based on alginate/polyethylene oxide/triton X-100. **Moroccan Journal of Chemistry**, v. 8, n. 1, p. 53-60, 2020.

KUO, C. M.; LIN, T. H.; YANG, Y. C.; ZHANG, W. X.; LAI, J. T.; WU, H. T.; CHANG, J. S.; LIN, C. S. Ability of an alkali-tolerant mutant strain of the microalga *Chlorella* sp. AT1 to capture carbon dioxide for increasing carbon dioxide utilization efficiency. **Bioresource Technology**, v. 244, n. 75, p. 243–251, 2017.

KUNTZLER, S. G.; COSTA, J. A. V.; BRIZIO, A. P. D. R.; MORAIS, M. G. Development of a colorimetric pH indicator using nanofibers containing *Spirulina* sp. LEB 18. **Food Chemistry**, v. 328, p. 126768, 2020.

LARI, Z.; MORADI-KHEIBARI, N.; AHMADZADEH, H.; ABRISHAMCHI, P.; MOHEIMANI, N. R.; MURRY, M. A. Bioprocess engineering of microalgae to optimize lipid production through nutrient management. **Journal of Applied Phycology**, v. 28, n. 6, p. 3235–3250, 2016.

LE GOUIC, B.; MAREC, H.; PRUVOST, J.; CORNET, J. F. Investigation of growth limitation by CO₂ mass transfer and inorganic carbon source for the microalga *Chlorella vulgaris* in a dedicated photobioreactor. **Chemical Engineering Science**, v. 233, 2021.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. Protein determination with the Folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, v. 193, n. 1, p. 265–275, 1951.

LU, C.; SHI, X.; LIU, Y.; XIAO, H.; LI, J.; CHEN, X. Nanomaterials for adsorption and conversion of CO₂ under gentle conditions. **Materials Today**, v. 50, p. 385-399, 2021.

LUCAS, B. F.; ROSA, A. P. C.; CARVALHO, L. F.; MORAIS, M. G.; Santos, T. D.; COSTA, J. A. V. Snack bars enriched with *Spirulina* for schoolchildren nutrition. **Food Science and Technology**, v. 40, p. 146–152, 2020.

MALAPASCUA, J. R. F.; JEREZ, C. G.; SERGEJEVOVÁ, M.; FIGUEROA, F. L.; MASOJÍDEK, J. Photosynthesis monitoring to optimize growth of microalgal mass cultures: Application of chlorophyll fluorescence techniques. **Aquatic Biology**, v. 22,

p. 123–140, 2014.

MANFREDINI, P. G.; CAVANHI, V. A. F.; COSTA, J. A. V.; COLLA, L. M. Bioactive peptides and proteases: characteristics, applications and the simultaneous production in solid-state fermentation. **Biocatalysis and Biotransformation**, v. 39, n. 5, p. 1–19, 2020.

MAPAZI, O.; MATABOLA, K. P.; MOUTLOALI, R. M.; NGILA, C. J. High temperature thermochromic polydiacetylene supported on polyacrylonitrile nanofibers. **Polymer**, v. 149, p. 106–116, 2018.

MARTÍNEZ, N.; CALLEJAS, N.; MORAIS, E. G.; COSTA, J. A. V.; JACHMANIÁN, I.; VIEITEZ, I. Obtaining biodiesel from microalgae oil using ultrasound-assisted in-situ alkaline transesterification. **Fuel**, v. 202, p. 512–519, 2017.

MASOJÍDEK, J.; MALAPASCUA, J. R.; KOPECKÝ, J.; SERGEJEVOVÁ, M. Thin-layer systems for mass cultivation of microalgae: Flat panels and sloping cascades. In **Algal Biorefineries: Volume 2: Products and Refinery Design**, Springer, 2015, p. 237–261.

MASOJÍDEK, J.; VONSHAK, A.; TORZILLO, G. Chlorophyll fluorescence applications in microalgal mass cultures. In: **Chlorophyll a fluorescence in aquatic sciences: methods and applications**. Springer, Dordrecht, 2010. p. 277-292.

MATULEVICIUS, J.; KLIUCININKAS, L.; PRASAUSKAS, T.; BUIVYDIENE, D.; MARTUZEVICIUS, D. The comparative study of aerosol filtration by electrospun polyamide, polyvinyl acetate, polyacrylonitrile and cellulose acetate nanofiber media. **Journal of Aerosol Science**, v. 92, p. 27–37, 2016.

MEHAR, J.; SHEKH, A.; NETHRAVATHY, M. U.; SARADA, R.; CHAUHAN, V. S.; MUDLIAR, S. Automation of pilot-scale open raceway pond: A case study of CO₂-fed pH control on *Spirulina* biomass, protein and phycocyanin production. **Journal of CO₂ Utilization**, v. 33, p. 384–393, 2019.

MENDOZA, J. L.; GRANADOS, M. R.; DE GODOS, I.; ACIÉN, F. G.; MOLINA, E.; BANKS, C.; HEAVEN, S. Fluid-dynamic characterization of real-scale raceway reactors for microalgae production. **Biomass and Bioenergy**, v. 54, p. 267-275, 2013.

MOGHADAM, B. H.; HASANZADEH, M. Predicting contact angle of electrospun pan nanofiber mat using artificial neural network and response surface methodology. **Advances in Polymer Technology**, v. 32, n. 4, p. 1–9, 2013.

MORAES, L.; ROSA, G. M.; CARA, I. M.; SANTOS, L. O.; MORAIS, M. G.; GRIMA, E. M.; COSTA, J. A. V.; FERNÁNDEZ, F. G. A. Bioprocess strategies for enhancing the outdoor production of *Nannochloropsis gaditana*: an evaluation of the effects of pH on culture performance in tubular photobioreactors. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 43, p. 1823–1832, 2020.

MORAES, L.; ROSA, G. M.; MORILLAS ESPAÑA, A.; SANTOS, L. O.; MORAIS, M. G.; GRIMA, E. M.; COSTA, J. A. V.; ACIÉN, F. G. Engineering strategies for the enhancement of *Nannochloropsis gaditana* outdoor production: Influence of the CO₂ flow rate on the culture performance in tubular photobioreactors. **Process Biochemistry**, v. 76, p. 171–177, 2019.

MORAIS, E. G.; CASSURIAGA, A. P. A.; CALLEJAS, N.; MARTINEZ, N.; VIEITEZ, I.; JACHMANIÁN, I.; SANTOS, L. O.; MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Evaluation of CO₂ Biofixation and Biodiesel Production by *Spirulina* (Arthrospira) Cultivated In Air-Lift Photobioreactor. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 61, 2018.

MORAIS, E. G. DE; DRUZIAN, J. I.; NUNES, I. L.; MORAIS, M. G. DE; 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 JUNIOR, W. G.; GORGICH, M.; CORRÊA, P. S.; MARTINS, A. A.; MATA, T. M.; CAETANO, N. S. Microalgae for biotechnological applications: Cultivation, harvesting and biomass processing. **Aquaculture**, v. 528, p. 735562, 2020.

MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Bioprocesses for removal of carbon dioxide and nitrogen oxide by microalgae for the utilization of gas generated during coal burning. **Quimica Nova**, v. 31, n. 5, p. 1038–1042, 2008.

MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Carbon dioxide fixation by *Chlorella kessleri*, *C. vulgaris*, *Scenedesmus obliquus* and *Spirulina* sp. cultivated in flasks and vertical tubular photobioreactors. **Biotechnology Letters**, v. 29, n. 9, p. 1349–1352, 2007a.

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, n. 7, p. 2169–2173, 2007b.

MORAIS, M. G.; MORAIS, E. G.; DUARTE, J. H.; DEAMICI, K. M.; MITCHELL, B. G.; COSTA, J. A. V. Biological CO₂ mitigation by microalgae: technological trends, future prospects and challenges. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 35, n. 5, p. 1–7, 2019.

MORAIS, M. G.; MORAIS, E. G.; CARDIAS, B. B.; VAZ, B. S.; MOREIRA, J. B.; MITCHELL, B. G.; COSTA, J. A. V. Microalgae as a source of sustainable biofuels. In **Recent Developments in Bioenergy Research**. Elsevier, 2020, p. 253–271.

MORAIS, M. G.; VARGAS, B. P.; VAZ, B. S.; CARDIAS, B. B.; COSTA, J. A. V. Advances in the synthesis and applications of nanomaterials to increase CO₂ biofixation in microalgal cultivation. **Clean Technologies and Environmental Policy**, 2021.

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

MORALES, M.; SÁNCHEZ, L.; REVAH, S. The impact of environmental factors on carbon dioxide fixation by microalgae. **FEMS Microbiology Letters**, v. 365, n. 3, 2018.

MORALES-AMARAL, M; GÓMEZ-SERRANO, C.; ACIÉN, F. G.; FERNÁNDEZ-SEVILLA, J. M.; MOLINA-GRIMA, E. Outdoor production of *Scenedesmus* sp. in thin-layer and raceway reactors using centrate from anaerobic digestion as the sole nutrient source. **Algal Research**, v. 12, p. 99–108, 2015.

MOREIRA, J. B.; SANTOS, T. D.; DUARTE, J. H.; BEZERRA, P. Q. M.; MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Role of microalgae in circular bioeconomy: from waste treatment to biofuel production. **Clean Technologies and Environmental Policy**, 2021.

MORILLAS-ESPAÑA, A.; LAFARGA, T.; GÓMEZ-SERRANO, C.; ACIÉN-FERNÁNDEZ, F. G.; GONZÁLEZ-LÓPEZ, C. V. Year-long production of *Scenedesmus almeriensis* in pilot-scale raceway and thin-layer cascade photobioreactors. **Algal Research**, v. 51, p. 102060, 2020.

MUKHTAR, A.; SAQIB, S.; MELLON, N. B.; BABAR, M.; RAFIQ, S.; ULLAH, S.; BUSTAM, M. A.; AL-SEHEMI, A.; MUHAMMAD, M.; CHAWLA, M. CO₂ capturing, thermo-kinetic principles, synthesis and amine functionalization of covalent organic polymers for CO₂ separation from natural gas: A review. **Journal of Natural Gas Science and Engineering**, v. 77, p. 103206, 2020.

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.

NOAA. Climate.gov. **Global Climate Dashboard: Tracking climate change and natural variability over time**. 2022. Disponível em: [http:// https://www.climate.gov/](http://https://www.climate.gov/). Acesso em 10 mar. 2022.

PANDA, S. R.; DE, S. Preparation, characterization and antifouling properties of polyacrylonitrile/polyurethane blend membranes for water purification. **RSC Advances**, v. 5, n. 30, p. 23599–23612, 2015.

PAWLOWSKI, A.; MENDOZA, J. L.; GUZMÁN, J. L.; BERENGUEL, M.; ACIÉN, F. G.; DORMIDO, S. Effective utilization of flue gases in raceway reactor with event-based pH control for microalgae culture. **Bioresource Technology**, v. 170, p. 1–9, 2014.

PAWLOWSKI, A.; MENDOZA, J. L.; GUZMÁN, J. L.; BERENGUEL, M.; ACIÉN, F. G.; DORMIDO, S. Selective pH and dissolved oxygen control strategy for a raceway reactor within an event-based approach. **Control Engineering Practice**, v. 44, p. 209–218, 2015.

PEREIRA, A. M.; LISBOA, C. R.; COSTA, J. A. V. High protein ingredients of microalgal origin: Obtainment and functional properties. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 47, p. 187–194, 2018.

PÉREZ-LÓPEZ, P.; DE VREE, J. H.; FEIJOO, G.; BOSMA, R.; BARBOSA, M. J.; MOREIRA, M. T.; WIJFFELS, R. H.; BOXTEL, A. J. B.; KLEINEGRIS, D. M. Comparative life cycle assessment of real pilot reactors for microalgae cultivation in different seasons. **Applied Energy**, v. 205, p. 1151–1164, 2017.

PERKINS, K. M.; MUNGUÍA, N.; ELLENBECKER, M.; MOURE-ERASO, R.; VELAZQUEZ, L. COVID-19 pandemic lessons to facilitate future engagement in the global climate crisis. **Journal of Cleaner Production**, v. 290, p. 125178, 2021.

PERSANO, L.; CAMPOSEO, A.; TEKMEEN, C.; PISIGNANO, D. Industrial upscaling of electrospinning and applications of polymer nanofibers: A review. **Macromolecular Materials and Engineering**, v. 298, n. 5, p. 504–520, 2013.

PETER, A. P.; KOYANDE, A. K.; CHEW, K. W.; HO, S. H.; CHEN, W. H.; CHANG, J. S.; KRISHNAMOORTHY, R.; BANAT, F.; SHOW, P. L. Continuous cultivation of microalgae in photobioreactors as a source of renewable energy: Current status and future challenges. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 154, p. 111852, 2022.

PIERINI, S. A.; THOMAZ, S. M. Adaptações de plantas submersas à absorção do carbono inorgânico. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, n. 3, p. 629-641, 2004.

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 Sustainable Energy Reviews**, v. 16, n. 5, p. 3043–3053, 2012.

POH, Z. L.; AMALINA KADIR, W. N.; LAM, M. K.; et al. The effect of stress environment towards lipid accumulation in microalgae after harvesting. **Renewable Energy**, v. 154, p. 1083–1091, 2020.

POSADAS, E.; MORALES, M.; GOMEZ, C.; ACIÉN, F. G.; MUÑOZ, R. Influence of pH and CO₂ source on the performance of microalgae-based secondary domestic wastewater treatment in outdoors pilot raceways. **Chemical Engineering Journal**, v. 265, p. 239–248, 2015.

PRATES, D. F.; RADMANN, E. M.; DUARTE, J. H.; MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. *Spirulina* cultivated under different light emitting diodes: Enhanced cell growth and phycocyanin production. **Bioresource Technology**, v. 256, p. 38–43, 2018.

QIU, R.; GAO, S.; LOPEZ, P. A.; OGDEN, K. L. Effects of pH on cell growth, lipid production and CO₂ addition of microalgae *Chlorella sorokiniana*. **Algal Research**, v. 28, p. 192–199, 2017.

REARTE, T. A.; CELIS-PLÁ, P. S. M.; NEORI, A.; MASOJÍDEK, J.; TORZILLO, G.; GÓMEZ-SERRANO, C.; SILVA BENAVIDES, A. M.; ÁLVAREZ-GÓMEZ, F.; ABDALA-DÍAZ, R. T.; RANGLOVÁ, K.; CAPORGNO, M.; MASSOCATO, T. F.; SILVA, J. C.; AL MAHROUQUI, H.; ATZMÜLLER, R.; FIGUEROA, F. L. Photosynthetic performance of *Chlorella vulgaris* R117 mass culture is moderated by

diurnal oxygen gradients in an outdoor thin layer cascade. **Algal Research**, v. 54, 2021.

RODAS-ZULUAGA, L. I.; CASTILLO-ZACARÍAS, C.; NÚÑEZ-GOITIA, G.; MARTÍNEZ-PRADO, M. A.; RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, J.; LÓPEZ-PACHECO, I. Y.; SOSA-HERNÁNDEZ, J. E.; IQBAL, H. M. N.; PARRA-SALDÍVAR, R. Implementation of kla-based strategy for scaling up porphyridium purpureum (Red marine microalga) to produce high-value phycoerythrin, fatty acids, and proteins. **Marine Drugs**, v. 19, n. 290, 2021.

RODRÍGUEZ-MIRANDA, E.; BESCHI, M.; GUZMÁN, J. L.; BERENGUEL, M.; VISIOLI, A. Daytime/nighttime event-based pi control for the pH of a microalgae raceway reactor. **Processes**, v. 7, n. 5, 2019.

RODRÍGUEZ-MIRANDA, E.; GUZMÁN, J. L.; BERENGUEL, M.; ACIÉN, F. G.; VISIOLI, A. Diurnal and nocturnal pH control in microalgae raceway reactors by combining classical and event-based control approaches. **Water Science and Technology**, v. 82, n. 6, p. 1155–1165, 2020.

ROSA, G. M.; MORAES, L.; CARDIAS, B. B.; SOUZA, M. R. A. Z.; COSTA, J. A. V. Chemical absorption and CO₂ 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 CO₂ 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. Biomolecule concentrations increase in *Chlorella fusca* LEB 111 cultured using chemical absorbents and nutrient reuse. **Bioenergy Research**, v. 15, p. 131–140, 2022.

ROSA, G. M.; MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Green alga cultivation with monoethanolamine: Evaluation of CO₂ fixation and macromolecule production. **Bioresource Technology**, v. 261, p. 206–212, 2018.

SAMARAKOON, P. A. G. L.; ANDERSEN, N. H.; PERINU, C.; JENS, K. J. Equilibria of MEA, DEA and AMP with bicarbonate and carbamate: A Raman study. **Energy Procedia**, v. 37, n. 1876, p. 2002–2010, 2013.

SÁNCHEZ, J. F.; FERNÁNDEZ-SEVILLA, J. M.; ACIÉN, F. G.; CERÓN, M. C.; PÉREZ-PARRA, J.; MOLINA-GRIMA, E. Biomass and lutein productivity of *Scenedesmus almeriensis*: influence of irradiance, dilution rate and temperature. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 79, n. 5, p. 719–729, 2008a.

SÁNCHEZ, J. F.; FERNÁNDEZ-SEVILLA, J. M.; ACIÉN, F. G.; RUEDA, A.; PÉREZ-PARRA, J.; MOLINA, E. Influence of culture conditions on the productivity and lutein content of the new strain *Scenedesmus almeriensis*. **Process Biochemistry**, v. 43, n. 4, p. 398–405, 2008b.

SÁNCHEZ ZURANO, A.; GARRIDO CÁRDENAS, J. A.; GÓMEZ SERRANO, C.; MORALES AMARAL, M.; ACIÉN-FERNÁNDEZ, F. G.; FERNÁNDEZ SEVILLA, J. M.; MOLINA GRIMA, E. Year-long assessment of a pilot-scale thin-layer reactor for microalgae wastewater treatment. Variation in the microalgae-bacteria consortium and the impact of environmental conditions. **Algal Research**, v. 50, p. 101983, 2020.

SANTOS, D. S.; LAURIA, P. S. S.; EVANGELISTA, A. F.; AZEREDO, F. J.; COSTA, J. A. V.; SOARES, M. B. P.; DRUZIAN, J. I.; VILLARREAL, C. F. Beyond inflammation: Centrally mediated antinociceptive properties of *Spirulina platensis* LEB-18 biomass via the opioid system. **Journal of Functional Foods**, v. 72, 2020.

SANTOS, T. D.; MENDOZA-MARTÍN, J. L.; FERNÁNDEZ, F. A.; MOLINA, E.; COSTA, J. A. V.; HEAVEN, S. Optimization of carbon dioxide supply in raceway reactors: influence of carbon dioxide molar fraction and gas flow rate. **Bioresource Technology**, v. 212, p. 72-81, 2016.

SCHÄDLER, T.; CABALLERO CERBON, D.; DE OLIVEIRA, L.; GARBE, D.; BRÜCK, T.; WEUSTER-BOTZ, D. Production of lipids with *Microchloropsis salina* in open thin-layer cascade photobioreactors. **Bioresource Technology**, v. 289, p. 121682, 2019.

SEPULVEDA, C.; GÓMEZ, C.; EL BAHRAOUI, N.; ACIÉN, G.. Comparative evaluation of microalgae strains for CO₂ capture purposes. **Journal of CO₂ Utilization**, v. 30, p. 158–167, 2019.

SINGH CHAUHAN, D.; SAHOO, L.; MOHANTY, K. Maximize microalgal carbon dioxide utilization and lipid productivity by using toxic flue gas compounds as nutrient source. **Bioresource Technology**, v. 348, 2022.

SOUZA, C. M. M.; BASTOS, T. S.; SANTOS, M. C. Microalgae use in animal nutrition. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 16, p. e53101622986, 2021.

SOZMEN, A. B.; CANBAY, E.; SOZMEN, E. Y.; OVEZ, B. The effect of temperature and light intensity during cultivation of *Chlorella miniata* on antioxidant, anti-inflammatory potentials and phenolic compound accumulation. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 14, p. 366–374, 2018.

SUN, S.; HU, D.; CHEN, J.; LIU, T.; ZHAO, L. Effects of carbon nanofiber on the dissolution and diffusion of CO₂ in polypropylene nanocomposites. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 94, p. 252–260, 2014.

SUN, Z.; ZHANG, D.; YAN, C.; CONG, W.; LU, Y. Promotion of microalgal biomass production and efficient use of CO₂ from flue gas by monoethanolamine. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 90, n. 4, p. 730–738, 2015.

SYDNEY, E. B.; STURM, W.; DE CARVALHO, J. C.; et al. Potential carbon dioxide fixation by industrially important microalgae. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 15, p. 5892–5896, 2010.

TANG, D.; HAN, W.; LI, P.; MIAO, X.; ZHONG, J. CO₂ biofixation and fatty acid composition of *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa* in response to different CO₂ levels. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 3, p. 3071–3076, 2011.

TAŞTAN, B. E.; DUYGU, E.; ATAKOL, O.; DÖNMEZ, G. SO₂ and NO₂ tolerance of microalgae with the help of some growth stimulators. **Energy Conversion and Management**, v. 64, n. 2, p. 28–34, 2012.

TOMÁS-ALMENAR, C.; LARRÁN, A. M.; DE MERCADO, E.; SANZ-CALVO, M. A.; HERNÁNDEZ, D.; RIAÑO, B.; GARCÍA-GONZÁLEZ, M. C. *Scenedesmus almeriensis* from an integrated system waste-nutrient, as sustainable protein source for feed to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 497, p. 422–430, 2018.

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.

TORZILLO, G.; ZITTELLI, G. C.; BENAVIDES, A. S.; RANGLOVA, K.; MASOJIDEK, J. Culturing of microalgae for food applications. In **Cultured Microalgae for the Food Industry**. Academic Press, 2021, p. 1-48.

TRIVEDI, J.; ATRAY, N.; AGRAWAL, D.; RAY, A. Enhanced lipid production in *Scenedesmus obliquus* via nitrogen starvation in a two-stage cultivation process and evaluation for biodiesel production. **Fuel**, v. 316, 2022.

VAZ, B. S.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. CO₂ 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, n. 2, 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, 2019a.

VAZ, B. S.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. Physical and biological fixation of CO₂ with polymeric nanofibers in outdoor cultivations of *Chlorella fusca* LEB 111. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 151, p. 1332–1339, 2020.

VAZ, B. S.; MASTRANTONIO, D. J. S.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. Green alga cultivation with nanofibers as physical adsorbents of carbon dioxide: Evaluation of gas biofixation and macromolecule production. **Bioresource Technology**, v. 287, 2019b.

VEIGA, M. C.; FONTOURA, M. M.; OLIVEIRA, M. G.; COSTA, J. A. V.; SANTOS, L. O. Magnetic fields: biomass potential of *Spirulina* sp. for food supplement. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 43, n. 7, p. 1231–1240, 2020.

VO HOANG NHAT, P.; NGO, H. H.; GUO, W. S.; Chang, S.W.; Nguyen, D. D.; Nguyen, P. D.; Buic, X. T.; Zhang, X B.; Guo, J. B. Can algae-based technologies be

an affordable green process for biofuel production and wastewater remediation? **Bioresource Technology**, v. 256, p. 491–501, 2018.

WANG, X.; LIN, T.; WANG, X. Scaling up the production rate of nanofibers by needleless electrospinning from multiple ring. **Fibers and Polymers**, v. 15, n. 5, p. 961–965, 2014.

WEI, M.; HUANG, A. C.; SHU, C. M.; ZHANG, L. Thermal Decomposition and Nonisothermal Kinetics of Monoethanolamine Mixed with Various Metal Ions. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–9, 2019.

WIDAYAT; SUZERY, M.; SATRIADI, H.; WAHYUDI; PHILIA, J. Selection and Cultivation of Microalgae for CO₂ Biofixation. **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**, v. 1053, n. 1, p. 012132, 2021.

YAN, Z.; WU, M.; HU, B.; Yao, M.; Zhang, L.; Lu, Q.; Pang, J. Electrospun UiO-66/polyacrylonitrile nanofibers as efficient sorbent for pipette tip solid phase extraction of phytohormones in vegetable samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1542, p. 19–27, 2018.

YANG, Y.; GAO, K. Effects of CO₂ concentrations on the freshwater microalgae, *Chlamydomonas reinhardtii*, *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus obliquus* (Chlorophyta). **Journal of Applied Phycology**, v. 15, n. 5, p. 379–389, 2003.

YEN, H.-W.; HU, I.-C.; CHEN, C.-Y.; NAGARAJAN, D.; CHANG, J.-S. Design of photobioreactors for algal cultivation. In **Biofuels from Algae (Second Edition)**. Elsevier, 2019, p. 225–256.

ZARROUK, C. Contribution à l'étude d'une cyanophycée. Influence de Divers Facteurs Physiques et Chimiques Sur la Croissance et la Photosynthèse de *Spirulina maxima*. **Ph.D. Thesis, Université De Paris, Paris. - References - Scientific Research Publishing**, p. 1966, 1966.

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.

ZHAO, B.; SU, Y. Process effect of microalgal-carbon dioxide fixation and biomass production: A review. **Renewable and Sustainable 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, n. 3, p. 1074–1082, 2016.

ZHOU, W.; WANG, J.; CHEN, P.; JI, C.; KANG, Q.; LU, B.; LI, K.; LIU, J.; RUAN, R. Bio-mitigation of carbon dioxide using microalgal systems: Advances and perspectives. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 76, p. 1163–1175, 2017.