



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

**FIXAÇÃO DE CO₂ PELA INTEGRAÇÃO DE MÉTODOS BIOLÓGICO E
QUÍMICO: CULTIVO DE *Spirulina* sp. LEB 18 COM ABSORVENTES DE CO₂**

BRUNA BARCELOS CARDIAS
Engenheira Bioquímica

PROF. DR. JORGE ALBERTO VIEIRA COSTA
Orientador

PROF. DR^a. MICHELE GREQUE DE MORAIS
Coorientadora

RIO GRANDE, RS

2018

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

**FIXAÇÃO DE CO₂ PELA INTEGRAÇÃO DE MÉTODOS BIOLÓGICO E
QUÍMICO: CULTIVO DE *Spirulina* sp. LEB 18 COM ABSORVENTES DE CO₂**

BRUNA BARCELOS CARDIAS

Engenheira Bioquímica

Dissertação apresentada como parte
dos requisitos para obtenção do título
de mestre em Engenharia e Ciência
de Alimentos

PROF. DR. JORGE ALBERTO VIEIRA COSTA

Orientador

PROF. DR^a. MICHELE GREQUE DE MORAIS

Coorientadora

RIO GRANDE, RS

2018

Ficha catalográfica

C267f Cardias, Bruna Barcelos.
Fixação de CO₂ pela integração de métodos biológico e químico: cultivo de *Spirulina* sp. LEB 18 com absorventes de CO₂ / Bruna Barcelos Cardias – 2018.
107 p.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Programa de Pós-graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Rio Grande/RS, 2018.

Orientador: Dr. Jorge Alberto Vieira Costa.

Coorientadora: Dr^a. Michele Greque de Moraes.

1. Biofixação 2. Carbonato de potássio 3. Dietanolamina 4. Dióxido de carbono 5. Microalga I. Costa, Jorge Alberto Vieira II. Moraes, Michele Greque de III. Título.

CDU 664:639.64

APROVAÇÃO

Dissertação defendida por Bruna Barcelos Cardias e aprovada em 01 de fevereiro de 2018, pela Comissão Examinadora constituída pelos professores:



Prof. Dr. Jorge Alberto Vieira Costa - FURG



Profa. Dra. Luciane Maria Colla - UPF



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

Dedico este trabalho aos meus pais, Amarildo e Jocimara, e à minha irmã Camila.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente à Deus, pois sem acreditar Nele muitas batalhas não teriam sido vencidas.

Aos meus pais, Amarildo e Jocimara, que são o meu exemplo, o meu orgulho e a minha força para seguir em frente. Tudo o que eu faço é para que vocês também sintam orgulho de mim. À minha irmã Camila, que sempre reclamou das minhas visitas rápidas, mas me incentivou com os desenhos, as mensagens de carinho e todo o amor.

À toda minha família, principalmente minha vó Cleni. Amiga, incentivadora, sempre apoiando minhas decisões e me confortando nas horas difíceis.

Agradeço muito ao meu orientador, professor Jorge Alberto Vieira Costa, que apesar dos compromissos profissionais e pessoais, sempre me atendeu, me auxiliou e abriu as portas do LEB para que se tornasse minha segunda casa. A cobrança, o incentivo, os puxões de orelha e o carinho, tudo o que um pai que acredita no potencial dos filhos faz. Quando eu quase desisti, foi quem me deu uma nova oportunidade de continuar crescendo profissionalmente. À minha co-orientadora, professora Michele Morais, sempre disponível, que me adotou e me auxiliou com as correções e sugestões. Foi quem abriu meus olhos para as oportunidades que a vida estava me dando e que eu não podia deixar escapar.

Agradeço a iniciante científica Jenyfer Almeida, por todo apoio na execução dos experimentos, por aguentar meu mau humor quando as coisas não davam certo, e por toda a dedicação em meio as provas e trabalhos. Tentei ensinar um pouquinho do que aprendi nesses anos, mas com certeza aprendi muito mais com nosso trabalho em equipe.

Agradeço imensamente aos meus colegas e amigos de laboratórios (LEB, MIBI e Biotec), que auxiliaram nas dúvidas, correções e, principalmente, na parceria do dia-a-dia, no café, nas conversas, nas risadas. Vocês são minha família!

E claro, o agradecimento mais especial é àquelas que mais que amigas, foram minhas irmãs: Ana Paula e Etiele. Além da amizade e parceria, na boa e na ruim, abriram as portas de casa, emprestaram pai e mãe e, acima de tudo, um pedacinho do coração. À Suelen, que foi amiga, confidente, dividiu saudades e alguns quilômetros nessa estrada até a região noroeste. Vocês sempre serão “as minhas pessoas”. E não importa a distância e as circunstâncias, contem sempre comigo. Amo vocês!

Agradeço também a Priscilla, minha baiana preferida, que em pouco tempo se tornou mais que uma colega de laboratório e casa: minha amiga, conselheira, parceira para o que der e vier.

Luiza e Gabriel, meus “pais” de laboratório, que me ensinaram grande parte do que sei. Mais que a orientação quero ter sempre a amizade de vocês. Meus exemplos na vida profissional e também na pessoal. Vocês merecem muito sucesso!

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

E gratidão enorme à FURG, que foi minha segunda casa nesses últimos 7 anos e que me fez crescer profissional e pessoalmente. Tenho muito orgulho dessa universidade e não importa onde eu esteja, sempre vou vestir essa camisa.

Muito obrigada!

“Conheça todas as teorias. Domine todas as técnicas. Mas quando tocar uma alma humana, seja apenas outra alma humana”.

Carl Jung

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

Tabela 1- Composição de proteínas, carboidratos e lipídios (em base seca) de diferentes espécies de microalgas..... 34

ARTIGO- Fixação de carbono e composição da biomassa de *Spirulina* cultivada com absorventes de CO₂

Tabela 1- Principais modificações nas condições dos ensaios realizados.....57

Tabela 2- Concentração celular máxima ($X_{máx}$), produtividade máxima ($P_{máx}$), velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{máx}$) e tempo de geração (t_g) dos ensaios de *Spirulina* sp. LEB 18 com os absorventes K₂CO₃ e DEA e ensaio controle (sem absorventes). 64

Tabela 3- Concentração celular máxima ($X_{máx}$), produtividade máxima ($P_{máx}$), velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{máx}$), tempo de geração (t_g), taxa de biofixação máxima ($TB_{máx}$) e eficiência máxima de utilização do CO₂ ($E_{máx}$) nas condições avaliadas.69

Tabela 4- Concentração de proteínas, carboidratos, lipídios e cinzas (em base seca) da biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 cultivada com e sem adição de absorventes químicos..... 71

Tabela 5- Composição elementar da biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 cultivada com e sem adição de absorventes químicos. 72

Tabela 6- Concentração de ficocianina (CF, mg mL⁻¹), rendimento da extração de ficocianina ($R_{fíco}$, mg g⁻¹) e concentração máxima de clorofila ($C_{clorofíla}$, mg g⁻¹) da biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 cultivada com e sem adição de absorventes químicos..... 73

Tabela 7- Parâmetros cinéticos de crescimento e biofixação de CO₂ da microalga *Spirulina* sp. LEB 18 cultivada com absorventes químicos de CO₂ combinados. 76

Tabela 8- Concentração de proteínas, carboidratos, lipídios, cinzas (massa seca), concentração de ficocianina (CF, mg mL⁻¹), rendimento de extração de ficocianina ($R_{fíco}$, mg g⁻¹) e concentração de clorofila ($C_{clorofíla}$, mg g⁻¹) de *Spirulina* sp. LEB 18.....78

ANEXOS

Tabela A1- Composição química do meio de cultivo Zarrouk.....107

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO II

Figura 1- Emissões globais dos gases de efeito estufa por setor econômico	31
Figura 2- Micrografia da microalga <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 sob aumento de 400X	33
Figura 3- Apresentação esquemática da fotossíntese de cianobactérias.	37
Figura 4- Fotobiorreatores fechados utilizados no cultivo de microalgas em diferentes escalas: (a) <i>erlenmeyer</i> (0,5 L) e (b) tubular vertical (1,8 L).....	39
Figura 5- Relação entre a taxa de fotossíntese e a concentração de carbono inorgânico dissolvido (CID) no meio para microalgas cultivadas em condições baixas, altas e extremamente altas de CO ₂	41
Figura 6- Estrutura química da dietanolamina	42
Figura 7- Reações de aminas primárias e secundárias com CO ₂	42
Figura 8- Estrutura química do carbonato de potássio	43

ARTIGO- Fixação de carbono e composição da biomassa de *Spirulina* cultivada com absorventes de CO₂

Figura 1- Desenho esquemático dos ensaios de <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 em (a) fotobiorreatores <i>erlenmeyer</i> e (b) fotobiorreatores tubulares verticais.....	56
Figura 2- Concentração celular da microalga <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 nos ensaios controle (meio Zarrouk modificado).....	62
Figura 3- Variação de pH dos cultivos de <i>Spirulina</i> sp. LEB 18.....	63
Figura 4- Concentração celular da microalga <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 nos ensaios controle (meio Zarrouk modificado), controle negativo (meio Zarrouk), com adição de 0,41, 1,64 e 3,28 mmol L ⁻¹ de DEA (a) e de K ₂ CO ₃ (b).....	66
Figura 5- Concentração de carbono inorgânico dissolvido (CID, mg L ⁻¹) e pH dos ensaios abióticos (sem microalga).....	67
Figura 6- Concentração de carbono inorgânico dissolvido (CID, mg L ⁻¹ e pH dos ensaios com adição de (a) DEA e (b) K ₂ CO ₃	68
Figura 7- Crescimento celular (a) e produtividade de <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 (b) nos ensaios: controle; DEA + 0,41 K ₂ CO ₃ ; DEA + 3,28 K ₂ CO ₃	74

Figura 8- Concentração de carbono inorgânico dissolvido (CID) e pH dos ensaios com *Spirulina* sp. LEB 18.....74

Figura 9- Concentração das espécies de carbono (a) bicarbonato (HCO_3^-) e (b) carbonato (CO_3^{2-}) dissolvidas no meio..... 75

APÊNDICES

Figura AP1- Ensaios em fotobiorreatores *erlenmeyers* com a microalga *Spirulina* sp, LEB 18 na presença dos absorventes carbonato de potássio e dietanolamina.....105

Figura AP2- Ensaios com a microalga *Spirulina* em fotobiorreatores tubulares verticais com adição de carbonato de potássio e dietanolamina.....105

Figura AP3- Segundo dia de experimento onde verifica-se morte celular na duplicata com $4,92 \text{ mmol L}^{-1}$ de DEA (esquerda).....106

Figura AP4- Curva padrão da microalga *Spirulina* sp. LEB 18.....106

NOMENCLATURA

$\% \text{ m m}^{-1}$	Concentração percentual em massa
\dot{m}	Taxa mássica de alimentação diária de CO_2 (mg d^{-1})
Δt	Variação de tempo da fase exponencial de crescimento (d)
ANOVA	Análise de variância
ATP	Adenosina trifosfato
C	Carbono elementar ($\text{g}_{\text{carbono}} 100 \text{ g}_{\text{biomassa}}^{-1}$)
$\text{C}_4\text{H}_{11}\text{NO}_2$	Dietanolamina
$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$	Glicose
C_a	Clorofila <i>a</i>
C_{a+b}	Clorofila <i>a+b</i>
C_b	Clorofila <i>b</i>
$\text{C}_{\text{clorofila}}$	Concentração de clorofila (mg g^{-1})
CF	Concentração de ficocianina (mg mL^{-1})
CID	Carbono inorgânico dissolvido (g L^{-1})
CO_2	Dióxido de carbono
CO_3^{2-}	Íon carbonato
DEA	Dietanolamina
E_{CO_2}	Eficiência de utilização de CO_2 (percentual em massa)
FBRTv	Fotobiorreator tubular vertical
GEE	Gás de efeito estufa
H	Hidrogênio elementar ($\text{g}_{\text{hidrogênio}} 100 \text{ g}_{\text{biomassa}}^{-1}$)
H^+	Íon hidrogênio
H_2CO_3	Ácido carbônico
H_2O	Água
HCO_3^-	Íon bicarbonato
K_2CO_3	Carbonato de potássio
KHCO_3	Bicarbonato de potássio
<i>m</i>	Massa seca de <i>Spirulina</i> (g)
M_C	Massa molar de carbono (g mol^{-1})
M_{CO_2}	Massa molar de dióxido de carbono (g mol^{-1})
MEA	Monoetanolamina

N	Nitrogênio elementar ($g_{\text{nitrogênio}} 100 g_{\text{biomassa}}^{-1}$)
NADP	Fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina
NaHCO ₃	Bicarbonato de sódio
O ₂	Oxigênio
OH ⁻	Íon hidróxido
P	Nível de significância
pH	Potencial hidrogênio iônico (mol L^{-1})
P _{máx}	Máximo valor de produtividade volumétrica da biomassa ($\text{mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$)
Ppm	Partes por milhão
R _{fico}	Rendimento da extração de ficocianina (mg g^{-1})
Rubisco	Ribulose-1,5- bifosfato
R ²	Coefficiente de determinação
T	Tempo (d)
t ₀	Tempo inicial (d)
TB	Taxa de biofixação de dióxido de carbono ($\text{mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$)
TB _{máx}	Máximo valor da taxa de biofixação de dióxido de carbono ($\text{mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$)
t _g	Tempo de geração (d)
V	Volume de solvente (mL)
V _{trabalho}	Volume de trabalho do biorreator (L)
VTP	<i>Vertical tubular photobioreactor</i>
vvm	Volume da corrente gasosa por volume de meio por minuto
X	Concentração celular (g L^{-1})
X ₀	Concentração celular inicial (g L^{-1})
X _{cbm}	Fração mássica de carbono elementar determinado na biomassa
X _{máx}	Máxima concentração celular (g L^{-1})
Y _{X/C}	Fator de conversão de carbono em célula (g g^{-1})
μ _{máx}	Velocidade específica máxima de crescimento (d^{-1})

SUMÁRIO

CAPÍTULO I.....	19
RESUMO GERAL.....	21
ABSTRACT.....	23
1 INTRODUÇÃO GERAL.....	25
2 OBJETIVOS.....	27
2.1 OBJETIVO GERAL.....	27
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	27
CAPÍTULO II.....	29
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	31
3.1 EFEITOS DO CO ₂ E ESTRATÉGIAS DE MITIGAÇÃO.....	31
3.2 MICROALGAS E APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS.....	33
3.3 BIOFIXAÇÃO DE CO ₂	36
3.3.1 Fatores que influenciam a biofixação de CO ₂ por microalgas.....	38
3.4 ABSORÇÃO QUÍMICA DE CO ₂	41
3.4.1 Dietanolamina.....	42
3.4.2 Carbonato de potássio.....	43
3.5 INTEGRAÇÃO DA FIXAÇÃO QUÍMICA E BIOLÓGICA.....	44
CAPÍTULO III.....	47
DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO.....	49
ARTIGO - FIXAÇÃO DE CARBONO E COMPOSIÇÃO DA BIOMASSA DE <i>Spirulina</i> CULTIVADA COM ABSORVENTES DE CO ₂	51
RESUMO.....	53
ABSTRACT.....	53
1 INTRODUÇÃO.....	54
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	55
2.1 MICRO-ORGANISMO, MEIO DE CULTIVO E ADAPTAÇÃO DO INÓCULO.....	55
2.2 CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS.....	55
2.3 DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS.....	58
2.4 PARÂMETROS DE CRESCIMENTO.....	59
2.5 BIOFIXAÇÃO DE CO ₂	59
2.6 RECUPERAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA BIOMASSA.....	60
2.7 QUANTIFICAÇÃO DE PIGMENTOS.....	61
2.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	62
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	62
3.1 CRESCIMENTO DA MICROALGA <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 CULTIVADA COM ABSORVENTES QUÍMICOS EM FOTOBIORREACTORES <i>ERLENMEYER</i>	62
3.2 EFEITOS DOS ABSORVENTES QUÍMICOS NA BIOFIXAÇÃO DE CO ₂ PELA MICROALGA <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 CULTIVADA EM FBRTv.....	65
3.3 EFEITOS DA MISTURA DOS ABSORVENTES QUÍMICOS NA BIOFIXAÇÃO DE CO ₂ PELA MICROALGA <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 CULTIVADA EM FBRTv.....	73
4 CONCLUSÃO.....	78
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	79

CAPÍTULO IV.....	85
CONCLUSÃO GERAL.....	86
SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	89
CAPÍTULO V.....	91
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	93
APÊNDICES.....	105
ANEXOS	107

CAPÍTULO I

RESUMO GERAL

O aumento da demanda energética mundial, devido ao avanço tecnológico e a crescente atividade industrial, muito dependentes dos combustíveis fósseis, elevou a emissão de gases de efeito estufa, como o dióxido de carbono (CO_2) para o meio ambiente. As mudanças climáticas, como aumento da temperatura média global, causadas pelo acúmulo desses gases na atmosfera, levou à busca por técnicas de captura e armazenamento do CO_2 . Uma estratégia de mitigação do CO_2 é a biofixação por microalgas que, além de atenuar a concentração atmosférica do gás, apresenta potencial na produção de metabólitos secundários de interesse. Um sistema que pode ser aliado à biofixação é a absorção química, tecnologia que pode ser implementada a curto prazo em centrais de energia para captura de CO_2 . A dietanolamina é uma amina secundária que tem sido empregada na captura de CO_2 . O carbonato de potássio tem sido utilizado no tratamento dos gases de combustão pelo baixo custo e baixa toxicidade. Diante disso, o objetivo do trabalho foi avaliar a biofixação de CO_2 pela associação dos processos de mitigação químico e biológico. O crescimento da microalga *Spirulina* sp. LEB 18 foi avaliado com adição de dietanolamina e carbonato de potássio (0,41 a 4,92 mmol L^{-1}), em fotobiorreatores *erlenmeyer* (0,5 L). A biofixação de CO_2 e composição da biomassa foram avaliadas a partir de ensaios em fotobiorreatores tubulares verticais (1,8 L), com os absorventes separadamente e misturados. A microalga *Spirulina* sp. LEB 18 apresentou aumento de 34,5 % na biofixação de CO_2 quando cultivada com 1,64 mmol L^{-1} de dietanolamina, além de aumento de 81 % na concentração de ficocianina, em relação ao cultivo sem absorvente. A eficiência de fixação do CO_2 pela microalga chegou a 43 % m m^{-1} nos ensaios com 1,64 mmol L^{-1} de dietanolamina misturado com 0,41 mmol L^{-1} de carbonato de potássio. A adição de dietanolamina e carbonato de potássio no cultivo de *Spirulina* sp. LEB 18 pode ser realizada separadamente ou combinando diferentes concentrações dos absorventes. Dessa forma, pode-se elevar a taxa de biofixação de CO_2 , ou alterar a composição da biomassa, com aplicação desta em indústrias alimentícias ou de biocombustíveis.

Palavras-chave: Biofixação. Carbonato de potássio. Dietanolamina. Dióxido de carbono. Microalga.

**CO₂ fixation by the biological and chemical methods integration: *Spirulina* sp. LEB 18
with CO₂ absorbents**

ABSTRACT

The increase in global energy demand, due to the technological advance and the increasing industrial activity, which are highly dependent on fossil fuels, has increased the greenhouse gases emission, such as carbon dioxide (CO₂) to environment. Climate change, like increase in the global average temperature caused by the accumulation of these gases in the atmosphere, led to the search for CO₂ capture and storage techniques. CO₂ mitigation strategy is microalgae biofixation that, in addition to attenuating the atmospheric gas concentration, has potential in the secondary metabolites production of interest. A system that may be combined with biofixation is the chemical absorption, a technology that can be implemented in the short term in power plants to capture CO₂. Diethanolamine is a secondary amine that has been employed in the CO₂ capture. Potassium carbonate has been used in the combustion gases treatment at low cost and low toxicity. Therefore, the aim of this study was to evaluate the CO₂ biofixation by the association of chemical and biological mitigation processes. The *Spirulina* sp. LEB 18 growth was evaluated with addition of diethanolamine and potassium carbonate (0.41 to 4.92 mmol L⁻¹) in erlenmeyer photobioreactors (0.5 L). The CO₂ biofixation and biomass composition were evaluated from vertical tubular photobioreactors (1.8 L), with the absorbents separately and mixed. The microalga *Spirulina* sp. LEB 18 cultivated with 1.64 mmol L⁻¹ of diethanolamine presented increase of 34.5% in CO₂ biofixation and 81% in phycocyanin concentration, in relation to the culture without absorbent. The CO₂ fixation efficiency by microalgae was 43% w w⁻¹ in the assay with 1.64 mmol L⁻¹ of diethanolamine mixed with 0.41 mmol L⁻¹ of potassium carbonate. The addition of diethanolamine and potassium carbonate in *Spirulina* sp. LEB 18 cultivated may be performed separately or by combining diferente absorbents concentrations. In this way, the CO₂ biofixation rate can be increased, or the biomass composition can be modified, with application in food or biofuel industries.

Keywords: Biofixation. Carbon dioxide. Diethanolamine. Microalga. Potassium carbonate.

1 INTRODUÇÃO GERAL

As elevadas emissões de dióxido de carbono (CO₂), um dos principais gases de efeito estufa (GEE), associadas ao consumo de energia, contribuem com as alterações climáticas e suas consequências têm sido preocupação crescente ao longo dos anos (CHEN et al., 2013). A taxa de crescimento anual das emissões de CO₂ é cerca de 1,8 %, derivada principalmente da queima de combustíveis fósseis e dos processos industriais (JIANG; GUAN, 2016). Assim, o sequestro de CO₂ produzido industrialmente é uma demanda crescente, a fim de reduzir o impacto desse GEE no aquecimento global (KUMAR et al., 2011).

As estratégias de sequestro de CO₂ podem ser físicas, químicas (WANG et al., 2011) ou biológicas (MORAIS; COSTA, 2007b). A fixação biológica por microalgas é uma tecnologia promissora de mitigação de CO₂. Devido à estrutura simples e suprimento conveniente de nutrientes, essas apresentam eficiência fotossintética cerca de 12,6 % maior que as plantas terrestres (SU et al., 2017).

Spirulina é uma cianobactéria que apresenta potencial para biofixação de CO₂ devido a suas altas taxas de crescimento celular e maior eficiência de absorção de CO₂ comparada a outros micro-organismos (CHEN et al., 2013). Essa microalga pode ser aplicada em diversas tecnologias como produção de ficocianina, carotenoides, ácidos graxos, lipídios e proteínas para aplicação em suplementos alimentares, produtos farmacêuticos (SONI; SUDHAKAR; RANA, 2017) e biocombustíveis (AINAS et al., 2017; BORGES et al., 2013; CHEN et al., 2010). Dessa forma, podem ser implantadas tecnologias baseadas em cultivos microalgais próximos a instalações onde há queima de combustíveis fósseis, como termelétricas.

A biofixação de CO₂ pelo cultivo de microalgas pode ser afetada por uma série de fatores extrínsecos e intrínsecos. A maior eficiência de transferência do CO₂ para o cultivo de microalgas pode ser contemplada através da aplicação de tecnologias que promovam maior tempo de residência da fase gasosa na fase líquida e maior transferência de massa (ADAMCZYK; LASEK; SKAWINSKA, 2016).

Neste cenário, o Laboratório de Engenharia Bioquímica (LEB) da Universidade Federal do Rio Grande (FURG) tem realizado pesquisas sobre o cultivo de microalgas desde 1996. As pesquisas do LEB partem desde o isolamento de microalgas com potencial de biofixação de CO₂ (DUARTE; FANKA; COSTA, 2016; MORAIS; COSTA, 2007a), cultivos em fotobiorreatores fechados e abertos (MORAIS; COSTA, 2007b; RADMANN; REINEHR; COSTA, 2007), modelagem matemática do crescimento de *Spirulina* (COSTA et al., 2002),

modificações no cultivo para aumentar a biofixação de CO₂ (MORAES et al., 2016; ROSA et al., 2015, 2016), além de produção de biocombustíveis a partir de microalgas (MARGARITES; COSTA, 2014).

A absorção química, com soluções de aminas orgânicas, tem sido utilizada na captura de CO₂, apresentando cerca de 90 % de eficiência em processos pós-combustão (ZHAO et al., 2016).

Rosa et al. (2015) avaliaram a biofixação de CO₂ pela microalga *Spirulina* sp. LEB 18 cultivada com adição do absorvente químico monoetanolamina. Os autores observaram incremento nos carboidratos da biomassa e maior disponibilidade do carbono do meio para a microalga no cultivo com adição do absorvente. Choi, Kim e Lee (2012), adicionando monoetanolamina no cultivo, observaram aumento na concentração de carbono dissolvido no meio, o que resultou em maior velocidade de crescimento e concentração celular da microalga *Scenedesmus accuminatus* AG10316. Estudos mostram que a utilização de absorvente químico em cultivos de microalgas com CO₂ pode resultar em aumento da concentração de carbono no meio (SUN et al., 2014b), incremento de carboidratos na biomassa (ROSA et al., 2015) e maior concentração de pigmentos, como clorofila *a* (CHOI; KIM; LEE, 2012).

Algumas pesquisas têm sido focadas no uso de misturas de absorventes, combinando as vantagens de cada um nos processos de tratamento de gases (XIAO et al., 2017). Assim, aliar a absorção química e a assimilação biológica pode ser uma estratégia para aumentar a taxa de fixação de CO₂, a fim de reduzir a concentração atmosférica do gás.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a biofixação de CO₂ pela microalga *Spirulina* sp. LEB 18, associando os processos de fixação químico e biológico.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos foram:

- a) Avaliar se a adição de carbonato de potássio ou dietanolamina afeta a cinética de crescimento *Spirulina* sp. LEB 18 cultivada em diferentes fotobiorreatores;
- b) Avaliar se a adição de carbonato de potássio ou dietanolamina afeta a biofixação de CO₂ e composição da biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18;
- c) Avaliar se adição conjunta de carbonato de potássio e dietanolamina afeta a cinética de crescimento, biofixação de CO₂ e composição da biomassa da microalga *Spirulina* sp. LEB 18.

CAPÍTULO II

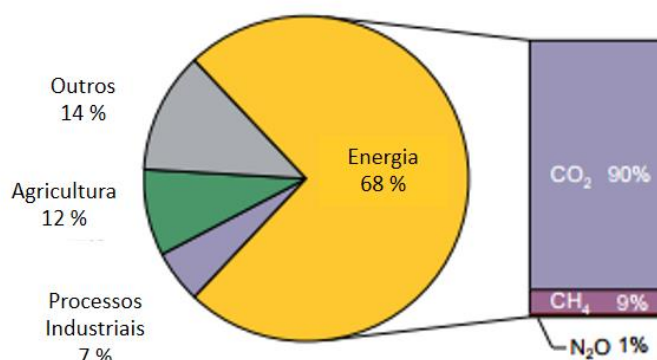
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 EFEITOS DO CO₂ E ESTRATÉGIAS DE MITIGAÇÃO

O ciclo global do carbono é composto de grandes fluxos e reservas de carbono. Anualmente, bilhões de toneladas de carbono na forma de CO₂ são absorvidos por oceanos e biomassa e emitidos para a atmosfera por processos naturais, mantendo o fluxo de carbono em equilíbrio (EPA, 2017). Porém, com o rápido desenvolvimento de tecnologias e o avanço no setor industrial no século 20, houve uma crescente necessidade energética mundial, dependente dos combustíveis fósseis. Esses se tornaram essenciais para a sobrevivência e evolução da sociedade ao mesmo tempo que prejudicaram seriamente a ecologia global (JIN et al., 2010). As centrais elétricas a base de combustíveis fósseis são consideradas um dos contribuintes mais significativos para a emissão de GEE para a atmosfera, sendo o CO₂ o gás emitido em maior quantidade (Figura 1) (IEA, 2017).

Segundo relatórios da Agência de Proteção Ambiental, a concentração atmosférica de dióxido de carbono (CO₂) na era pré-industrial (1750) era de 280 partes por milhão (ppm) e aumentou para 404 ppm em 2016, acréscimo de aproximadamente 44 % (EPA, 2017). Considera-se que a fonte dessas elevadas emissões seja predominantemente a queima de combustíveis fósseis. Desse modo, a captura do CO₂ é uma etapa importante em muitos processos industriais (AL-ZUHAIR; ALKETBI; AL-MARZOUQI, 2016).

Figura 1- Emissões globais dos gases de efeito estufa por setor econômico



Fonte: *International Energy Agency* (IEA, 2017)

De acordo com a *International Energy Agency* (IEA), os combustíveis fósseis dominam o cenário energético, respondendo por 82 % da demanda global de energia primária

em 2015 (IEA, 2017). Segundo estimativas da IEA, os combustíveis fósseis continuarão a ser importantes na matriz energética global, representando cerca de 40 % do consumo de energia primária em 2050 (IEA, 2015).

Assim, pesquisadores têm investigado estratégias de mitigação do CO₂, pois o aumento do aquecimento global, devido à alteração do efeito estufa, tem acontecido de maneira muito rápida. Isso tem causado mudanças em ambientes terrestres e aquáticos, aumento da temperatura média global, inundações, secas, entre outros problemas ambientais (ARIAS et al., 2016).

A medida que os preços dos combustíveis fósseis podem retardar a implementação de tecnologias limpas, tornando esse cenário pouco competitivo, criam-se oportunidades para alinhar as políticas com objetivo de descarbonização (IEA, 2016). Dessa forma, as tecnologias de captura e armazenamento de CO₂ ganham espaço neste cenário. A captura pós-combustão é geralmente considerada uma abordagem mais viável comparada a outros processos, pois pode ser implementada em usinas existentes sem alterações radicais nas instalações. Algumas tecnologias de captura e armazenamento de CO₂ pós-combustão são adsorção, absorção física, absorção química, absorção por membranas (WANG et al., 2011), além da fixação biológica (MORAIS; COSTA, 2007b).

Uma alternativa para reduzir as emissões de CO₂ sem alterar a matriz energética global é a biofixação por microalgas. A atividade fotoautotrófica desses micro-organismos converte CO₂ em biomassa, minimizando os problemas ambientais causados pela emissão do gás (ROSA et al., 2011; VAZ; COSTA; MORAIS, 2016). Além das altas taxas de biofixação, a biomassa das microalgas pode ser utilizada para a produção de compostos como enzimas e ácidos graxos (ORES; AMARANTE; KALIL, 2016).

Quanto ao processo de absorção química, os sistemas baseados em soluções contendo aminas têm sido utilizados industrialmente há mais de meio século e ainda são considerados uma das tecnologias mais adequadas para o tratamento de altas concentrações de CO₂ na corrente de gás de combustão (GOEPPERT et al., 2012). A captura de CO₂ pela absorção química, principalmente com monoetanolamina (MEA), é considerada um processo químico bem desenvolvido a ser implementado em curto prazo, não só em usinas já existentes, mas também em novas (ARIAS et al., 2016).

3.2 MICROALGAS E APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS

As microalgas são organismos fotossintéticos que, comparadas a outras fontes de biomassa, tem requisitos relativamente simples para o crescimento (ALBERTS et al., 2008). Por serem desprovidas de brotos e folhas, que dissipam energia para o ambiente, apresentam taxas de crescimento 10-50 vezes maiores e eficiência de remoção de CO₂ cerca de 10 vezes mais elevada que plantas terrestres (CHEN et al., 2013; HO et al., 2013).

Esses micro-organismos possuem variadas aplicações como alimentos para humanos (SANTOS et al., 2016), rações para animais e para aquicultura (ONO; CUELLO, 2004), compostos bioativos no desenvolvimento de nanofibras (SCHMATZ et al., 2016) e produção de enzimas (ORES; AMARANTE; KALIL, 2016). Microalgas são favoráveis para a produção de bioenergia por que além das vantagens de eficiência fotossintética (removendo e fixando carbono) e produtividade, não competem por terras aráveis com culturas terrestres, designadas para alimentação (SU et al., 2017). Ainda podem ser utilizadas no tratamento de águas residuais removendo nutrientes, metais pesados e toxinas orgânicas (CHEN; ZHAO; QI, 2015).

Spirulina (Figura 2) é uma cianobactéria, unicelular, procariota, que forma tricomas cilíndricos multicelulares, com 1 a 12 µm de diâmetro e até 1 mm de comprimento (VONSHAK, 1997). Devido às suas propriedades, tais como alto valor nutricional e a presença de biocompostos como a ficocianina, *Spirulina* é uma das microalgas mais estudada (BORGES et al., 2013). Pela capacidade fotoautotrófica, as microalgas têm sido utilizadas, há alguns anos, para remoção de CO₂ produzido pela queima de combustíveis fósseis em usinas termelétricas (MORAIS; COSTA, 2007a).

Figura 2- Micrografia da microalga *Spirulina* sp. LEB 18 sob aumento de 400X



Fonte: Laboratório de Engenharia Bioquímica- LEB- FURG

A composição bioquímica das microalgas varia entre as diferentes espécies e até mesmo dentro da mesma espécie dependendo das condições de cultivo (BROWN et al., 1997). O cultivo de microalgas é um processo atrativo para a obtenção de vários compostos com alto valor agregado. Em particular, com a microalga *Spirulina* pode se obter alta concentração de ficocianina, clorofila *a*, β -caroteno, polissacarídeos e ácido γ -linolênico (CHEN et al., 2010).

A Tabela 1 apresenta a composição de diferentes microalgas quanto à concentração de proteínas, carboidratos e lipídios (em base seca).

Tabela 1- Composição de proteínas, carboidratos e lipídios (em base seca) de diferentes espécies de microalgas.

Microalga	Proteínas (% m m ⁻¹)	Carboidratos (% m m ⁻¹)	Lipídios (% m m ⁻¹)	Referência
<i>Anabaena cylindrica</i>	43-56	25-30	4-7	Becker (1994)
<i>Chlamydomonas rheinhardii</i>	48	17	21	Becker (1994)
<i>Chlorella fusca</i> LEB 111	60	25	13	Deamici et al. (2016)
<i>Scenedesmus obliquus</i>	50-56	10-17	12-14	Becker (1994);
<i>Spirulina</i> sp. LEB 18	71	12	11	Rosa et al. (2016)
<i>Synechococcus nidulans</i> LEB 115	61	12	14	Duarte; Costa (2018)

Os carboidratos são os produtos majoritários derivados da fotossíntese e do metabolismo da fixação de carbono (HO et al., 2011). Algumas espécies de microalgas dos gêneros *Chlorella*, *Dunaliella*, *Chlamydomonas*, *Scenedesmus* e *Spirulina* (dependendo das condições de cultivo) podem conter mais de 50 % de carboidratos em sua biomassa (UEDA et al., 1996). Os carboidratos da biomassa microalgal podem ser hidrolisados, convertendo-os a glicose e utilizados como substrato para micro-organismos heterotróficos, produzindo biocombustíveis como etanol a partir do processo de fermentação (ZHAO et al., 2013). A produção de bioetanol por microalgas pode ser alternativa viável, uma vez que apresentam maior produtividade que culturas como cana-de-açúcar e milho, já utilizadas na produção desse biocombustível (SILVA; BERTUCCO, 2016). Além disso, a ausência de lignina nas microalgas facilita a hidrólise dos carboidratos dessa biomassa comparada a materiais lignocelulósicos (SHOKRKAR; EBRAHIMI; ZAMANI, 2017).

Os lipídios das microalgas podem ter diferentes aplicações de acordo com o número de carbonos. Ácidos graxos, com 14-20 carbonos, podem ser utilizados na produção de biocombustíveis e ácidos graxos poli-insaturados. Com mais de 20 carbonos podem ser aplicados na suplementação de alimentos. A utilização desses lipídios acumulados para a produção de biocombustíveis, como biodiesel, vai depender do conteúdo lipídico, do tipo de lipídio produzido e da produtividade da microalga (YEN et al., 2013). O biodiesel de microalgas é considerado carbono-neutro, pois o CO₂ produzido pela queima desse biocombustível é o mesmo que foi consumido na fotossíntese (CHISTI, 2007). Uma vez que o biodiesel pode substituir os combustíveis fósseis utilizados atualmente, sua demanda deve aumentar nos próximos anos. O uso das microalgas como matéria-prima não afeta o fornecimento de óleo no setor de alimentos (SUMPRASIT et al., 2017), contribuindo substancialmente com essa demanda.

O elevado teor de proteínas presente na biomassa de várias espécies de microalgas é uma das principais razões para considerá-las fonte suplementar proteica (SPOLAORE et al., 2006) na dieta humana e animal. Segundo a agência americana que controla e supervisiona a segurança alimentar, a *Food and Drug Administration* (FDA), *Spirulina* é uma das melhores fontes de proteína. Isto porque a microalga *Spirulina* contém todos os aminoácidos essenciais, que são 47 % do peso total da porção proteica (SONI; SUDHAKAR; RANA, 2017). As proteínas presentes na biomassa microalgal tem qualidade superior às fontes vegetais, como trigo, arroz e leguminosas (MATA; MARTINS; CAETANO, 2010).

Os micro-organismos fotossintéticos contêm pigmentos orgânicos que convertem luz em energia. Nas cianobactérias como *Spirulina* estão presentes os pigmentos clorofila *a*, carotenoides e ficobiliproteínas (MACINTYRE et al., 2002). A clorofila *a* (pigmento verde) e os carotenoides (pigmentos amarelos ou laranjas) são lipofílicos e associados em complexos clorofila-proteína, enquanto as ficobiliproteínas são hidrofílicas (RICHMOND, 2004). *Spirulina* é composta por um dos maiores teores de clorofila entre os organismos que contêm esse pigmento, correspondendo a 1,15 % de sua biomassa, dependendo das condições de cultivo (HENRIKSON, 1989). O estímulo na síntese de clorofila torna a absorção de luz mais eficiente, o que pode ajudar no crescimento celular (SMALL; HÜNER; WAN, 2012).

As ficobiliproteínas podem ser divididas em ficocianinas, aloficocianinas e ficoeritrinas. Esse grupo de pigmentos é responsável por aumentar o espectro de captação de luz da fotossíntese e também atuar como reserva de nitrogênio (LOURENÇO, 2006). A ficocianina é um corante azul natural, com aplicação na indústria de alimentos, cosméticos e em ensaios de fluorescência, além de apresentar propriedades antioxidantes (BHAT;

MADYASTHA, 2000; REIS et al., 1998), e emulsionantes, podendo reduzir ou substituir o uso de aditivos sintéticos nesses produtos (PAPADAKI et al., 2017). A cianobactéria *Spirulina platensis* é uma excelente fonte de ficocianina, sendo que em sua porção proteica pode conter até 20 % deste pigmento (VONSHAK, 1997).

Os carotenoides desempenham papel importante na regulação do crescimento de plantas e micro-organismos, servindo como fotorreceptores e precursores de hormônios. Entre os carotenoides produzidos pelas cianobactérias o principal é o β -caroteno. Nos humanos os carotenoides atuam como precursores da vitamina A, desempenhando importante papel na prevenção de doenças oculares, na saúde da pele e no desenvolvimento dentário e ósseo (HYNSTOVA et al, 2018). *Spirulina platensis* pode ser utilizada, por exemplo, na suplementação dietética de peixes “trutas-arco-íris” como fonte efetiva de carotenoides naturais para sua pigmentação (TEIMOURI; AMIRKOLAIE; YEGANEH, 2013).

A fim de acumular compostos de interesse na biomassa podem ser realizadas modificações físico-químicas no cultivo, tais como aumento ou diminuição de luz, temperatura e aeração (RADMANN; REINEHR; COSTA, 2007), alteração na composição de nutrientes do meio (VAZ; COSTA; MORAIS, 2016), exposição das células a campos magnéticos (DEAMICI; SANTOS; COSTA, 2018) e ainda adição de absorventes químicos de CO₂ ao cultivo (ROSA et al., 2016).

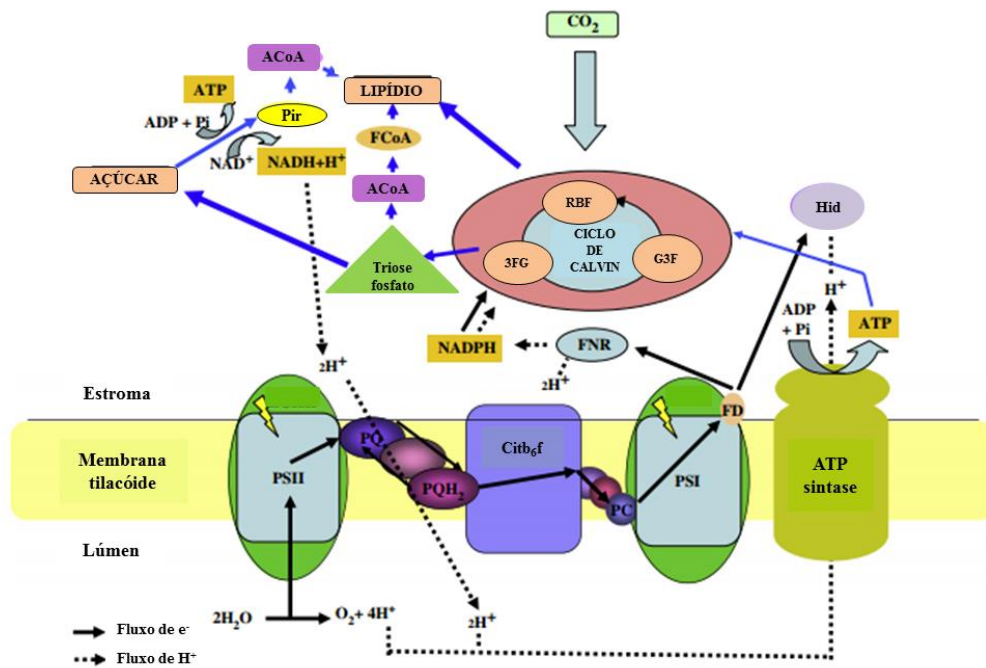
3.3 BIOFIXAÇÃO DE CO₂

O CO₂ é a fonte de carbono para o crescimento fotossintético e autotrófico de microalgas. Por meio do processo de fotossíntese, as microalgas utilizam água, dióxido de carbono e luz para produzir biomassa (ALBERTS et al., 2008). Quanto ao sequestro de carbono da atmosfera, as microalgas são os micro-organismos mais eficientes na fixação de carbono. Em média, para a produção de 1 kg de biomassa microalgal seca utiliza-se 1,8 kg de CO₂ (BRENNAN; OWENDE, 2010).

Na fotossíntese, ocorrem reações que dependem de luz (fase clara) e reações independentes de luz (fase escura), que interagem entre si (Figura 3). Nesse processo as microalgas utilizam a energia da luz para transportar elétrons da água para o NADP⁺, reduzindo-o a NADPH, no fotossistema I (complexo proteico onde ocorrem reações da fotossíntese). Ao mesmo tempo o O₂ é produzido no fotossistema II, pela oxidação da água. A produção de ATP é vinculada ao transporte de elétrons nessa cadeia. Nas reações da fase escura, o ATP e o

NADPH gerados nas reações de luz fornecem energia para a conversão enzimática do CO₂ atmosférico em carboidratos (CAMPBELL; FARRELL, 2006; VONSHAK, 1997).

Figura 3- Apresentação esquemática da fotossíntese de cianobactérias.

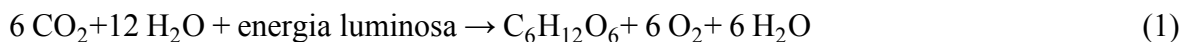


PQ: plastoquinona, PS: fotossistema, Citb₆f: citocromo b₆f, FD: ferredoxina, FNR: ferredoxina-NADP⁺ redutase, 3FG: 3-fosfoglicerato, G3F: gliceraldeído-3-fosfato, RBF: ribulose-1,5-bisfosfato (Rubisco), Hid: hidrogenase, Pir: piruvato, ACoA: acetil-coenzima A.

Fonte: Adaptado de Gupta et al. (2013)

A clorofila *a* é o principal pigmento fotossintético, e desempenha papel essencial na absorção de energia da luz visível na faixa de luz vermelha e azul (PHONGAMWONG; CHAREONPANICH; LIMTRAKUL, 2015). A ficocianina é considerada o principal pigmento acessório da fotossíntese, o qual capta energia luminosa em porções do espectro de luz visível não absorvida pela clorofila, transferindo a energia captada para a clorofila *a*, no centro de reação (BOUSSIBA; RICHMOND, 1980; HEMLATA, 2009).

A fixação do dióxido de carbono ocorre, de fato, no Ciclo de Calvin, onde 6 moléculas de CO₂ produzem um carboidrato (C₆H₁₂O₆), conforme Equação 1. O CO₂ reage com água formando ácido carbônico (H₂CO₃). Este ácido é dissociado em bicarbonato e íons H⁺, podendo o bicarbonato ser dissociado em CO₂ ou íons carbonato, dependendo do pH do meio de cultivo. Como as microalgas retiram CO₂ da solução são formados íons OH⁻, o que, geralmente, eleva o pH do meio (BINAGHI et al., 2003).



O investimento em carbono, quando se utiliza bicarbonato em cultivos de *Spirulina*, representa 60 % dos custos com nutrientes (ALAVA; MELLO; WAGENER, 1997). As microalgas podem utilizar o CO₂ proveniente da queima dos combustíveis fósseis, como fonte de carbono (VAZ; COSTA; MORAIS, 2016). Assim, a utilização de bioengenharia de microalgas em termelétricas, além de contribuir com a redução dos GEE na atmosfera (ONO; CUELLO, 2004), pode também, reduzir custos com nutrientes no cultivo. Pode-se até considerar que o CO₂ é uma fonte de carbono mais satisfatoriamente consumida pelo micro-organismo, baseando-se no conceito de que o CO₂ livre é o único substrato do ciclo de Calvin e o bicarbonato serve como um veículo de transporte de carbono inorgânico para a célula (MANJUNATH; GEETA, 2005).

3.3.1 Fatores que influenciam a biofixação de CO₂ por microalgas

A biofixação de CO₂ por microalgas envolve um metabolismo complexo durante o processo de cultivo (KASSIM; MENG, 2017). As cianobactérias apresentam mecanismos de concentração do CO₂ que envolvem genes e componentes proteicos operando para elevar o CO₂ em torno da rubisco durante a fotossíntese (BADGER; PRICE, 2003). Vários fatores podem afetar a eficiência de biofixação das microalgas. Além disso, podem alterar a composição da biomassa (concentração de lipídios ou carboidratos, por exemplo) (SUALI; SARBATLY, 2012).

A temperatura é um dos fatores mais importantes no crescimento, pois afeta todas as atividades metabólicas do micro-organismo (VONSHAK, 1997). A taxa de crescimento de *Spirulina* aumenta com o aumento da temperatura, atingindo o melhor valor em 30 °C e reduzindo depois disso (SHI et al., 2016).

O pH inicial é um dos fatores que mais pode influenciar o crescimento microalgal e a distribuição bioquímica nas células (KASSIM; MENG, 2017). Também é importante o controle do pH para que não ocorra a contaminação do meio por outros micro-organismos como bactérias e fungos, evitando a competição por nutrientes (PENG et al., 2015).

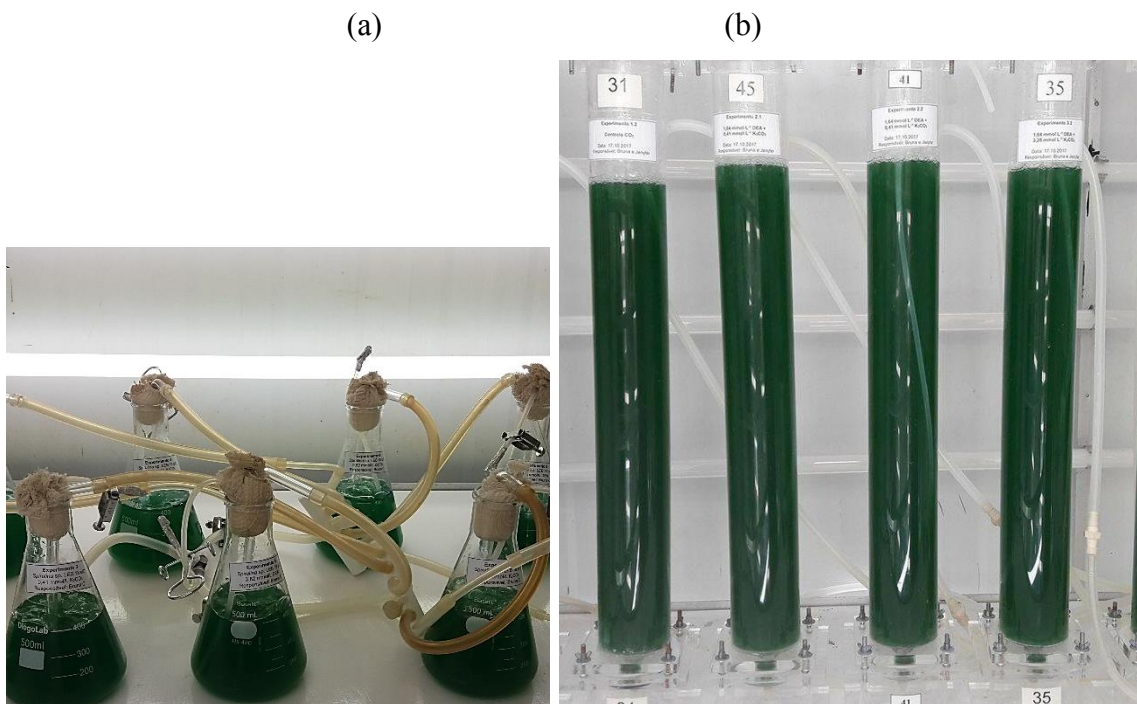
Quando cultivada a 30 °C, a microalga *Spirulina* apresenta maior crescimento em pH 9,5-10 (OGBONDA; AMINIGO; ABU, 2007). Geralmente em pH moderado a alcalino a forma dominante do CO₂ em água é o bicarbonato, para o qual as células das microalgas têm mecanismos de transporte e armazenamento através do ciclo de Calvin (KASSIM; MENG,

2017). Existe uma correlação entre o aumento de carbono total no meio e a redução do valor do pH, influenciados pela absorção do CO₂ pelo equilíbrio do CO₂, HCO₃⁻ e CO₃²⁻ no meio, conforme Equações 2, 3 e 4 (BAO et al., 2012).



A distribuição do CO₂ no cultivo, bem como a entrada de luz, são fatores importantes para o crescimento e fixação de carbono pelas microalgas e que podem ser afetados pelo tipo de biorreator utilizado (HUANG et al., 2017). A microalga *Spirulina* sp. cultivada com CO₂ em fotobiorreatores tubulares verticais (Figura 4a) apresenta melhores resultados quanto à cinética de crescimento e biofixação de CO₂ que quando cultivada em *erlenmeyers* (Figura 4b) (MORAIS; COSTA, 2007b). Uma vantagem dos fotobiorreatores tubulares verticais é o maior tempo de residência do CO₂ no meio, o que aumenta a eficiência de utilização do gás pela microalga (MORAIS; COSTA, 2007a).

Figura 4- Fotobiorreatores fechados utilizados no cultivo de microalgas em diferentes escalas: (a) *erlenmeyer* (0,5 L) e (b) tubular vertical (1,8 L).



Segundo Rosa et al. (2016), o uso do CO₂ como fonte de carbono em reatores tubulares verticais maximiza o tempo de residência do gás no meio líquido, em relação à reatores de menor altura, por exemplo o *erlenmeyer*, devido à barreira física gás-líquido. Dessa forma, a fonte de carbono fica disponível para a microalga por mais tempo, intensificando seu crescimento.

Em fotobiorreatores tubulares, a distribuição da energia luminosa é mais uniforme. A insuficiência ou excesso de luz podem inibir o crescimento da microalga (PILON; BERBEROGLU; KANDILIAN, 2011). Quando a intensidade de luz está abaixo do ótimo pode ocorrer efeito de auto sombreamento das células e a transferência de elétrons na clorofila torna-se limitada, reduzindo a capacidade de a microalga absorver o CO₂ (MELIS, 1999).

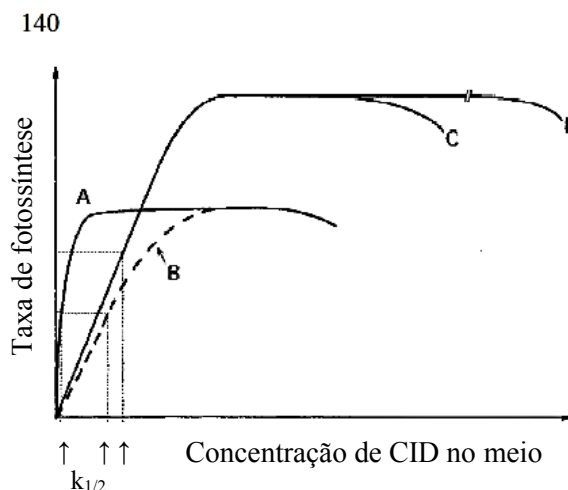
O crescimento celular, acúmulo de lipídios ou carboidratos na biomassa, podem ser influenciados também pela alteração no tipo ou concentração da fonte de carbono (SUN et al., 2014a). Algumas espécies de microalgas, quando cultivadas em altas concentrações de CO₂, perdem a capacidade de fixar CO₂ eficientemente devido à concentração limitante de carbono inorgânico dissolvido (CID) no meio. No entanto, outras espécies podem crescer rapidamente em concentrações de CO₂ acima de 40 % (Figura 5) (MIYACHI; IWASAKI; SHIRAIWA, 2003). A microalga *Spirulina* sp. tolera a presença de até 18 % de CO₂ no ar. Porém, apresenta melhor crescimento quando cultivada em concentração de CO₂ até 6 % (MORAIS; COSTA, 2007c).

O conteúdo de CO₂ atmosférico (em média 0,03 %) é suficiente para a reprodução celular da microalga. Cada espécie apresenta uma resposta diferente à concentração de CO₂. Em geral, o teor adicional de CO₂ ao cultivo pode aumentar o conteúdo lipídico e a produtividade da biomassa (SUALI; SARBATLY, 2012). Segundo Morais e Costa (2007b), a microalga *Spirulina* sp. apresenta melhor crescimento quando cultivada com ar enriquecido de 6 % de CO₂ em relação ao meio com bicarbonato.

Concentrações de carbono inorgânico dissolvido abaixo do ótimo podem levar a limitação do nutriente para a microalga, restringindo a síntese de enzimas essenciais como a anidrase carbônica e a rubisco, envolvidas no metabolismo celular do carbono (ANJOS et al., 2013).

A adição de absorventes de CO₂ no cultivo microalgal pode resolver parcialmente algumas limitações da biofixação de CO₂. A concentração de carbono dissolvido no meio pode aumentar com a presença de absorventes como, por exemplo, a monoetanolamina (MEA), alcançando-se maiores taxas de crescimento e incremento no conteúdo de carboidratos na biomassa microalgal (CHOI; KIM; LEE, 2012; ROSA et al., 2015).

Figura 5- Relação entre a taxa de fotossíntese e a concentração de carbono inorgânico dissolvido (CID) no meio para microalgas cultivadas em condições baixas, altas e extremamente altas de CO₂.



$k_{1/2}$: constante de afinidade; A: espécies de baixo teor de CO₂ (cultivadas em ar com 0,04 % de CO₂); B: espécies de baixo teor de CO₂ tratadas com um inibidor da enzima anidrase carbônica ou espécies de alto teor de CO₂ (por exemplo, *Chlamydomonas*); C: espécies de alto teor de CO₂ (cultivadas em ar enriquecido com CO₂) (por exemplo, *Chlorella* e *Spirulina*); D: espécies tolerantes a concentrações extremamente elevadas de CO₂ (cultivadas sob mais de 40 % de CO₂).

Fonte: Miyachi, Iwasaki e Shiraiwa (2003)

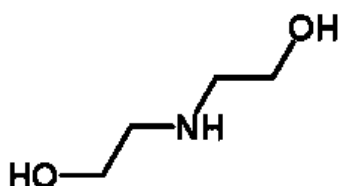
3.4 ABSORÇÃO QUÍMICA DE CO₂

Muitos solventes químicos têm sido estudados a fim de determinar maiores potenciais de remoção de CO₂ de correntes gasosas para aplicação industrial. Isso inclui monoetanolamina (MEA), dietanolamina (DEA), metildietanolamina (MDEA), diisopropanolamina (DIPA) e carbonato de potássio (K₂CO₃) (DEVRIES, 2014). Os processos de absorção baseados em aminas são amplamente utilizados no tratamento de gases de combustão (ISLAM et al., 2017), sendo mais utilizadas as soluções aquosas de alcanolaminas, como MEA e DEA, que formam carbamato e bicarbonato quando reagem com CO₂ (GOEPPERT et al., 2012).

3.4.1 Dietanolamina

Dietanolamina (DEA), com fórmula molecular $C_4H_{11}NO_2$ (Figura 6), é uma amina secundária, que apresenta duas cadeias de álcool e um átomo de hidrogênio, ligados ao átomo de nitrogênio (KIERZKOWSKA-PAWLAK; CHACUK, 2010).

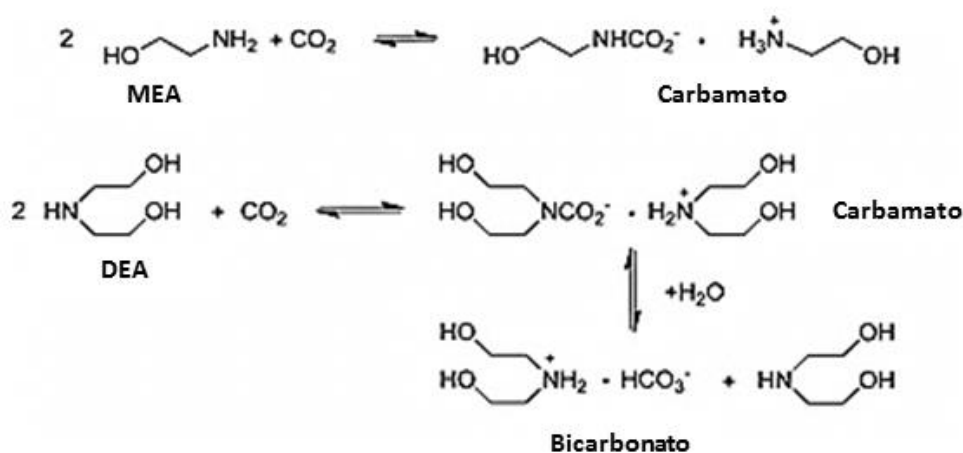
Figura 6- Estrutura química da dietanolamina



Fonte: *Royal Society of Chemistry* (2014)

Uma das vantagens das alcanolaminas é que elas contêm pelo menos uma hidroxila (-OH) em sua estrutura, o que ajuda a reduzir pressões de vapor, aumentando sua solubilidade em soluções aquosas. Além disso, esse grupo -OH proporciona a alcalinidade necessária para a absorção do CO_2 (ISLAM et al., 2017). As aminas interagem com CO_2 ao longo de duas vias (Figura 7), através da formação de bicarbonato com relação amina: CO_2 1:1, e pela via carbamato com relação amina: CO_2 2:1 (LEE et al., 2013).

Figura 7- Reações de aminas primárias e secundárias com CO_2



Fonte: Goeppert et al. (2012)

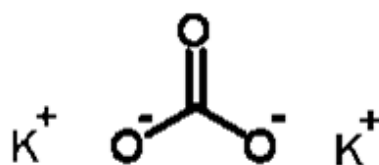
A dietanolamina tem sido usada no tratamento de gases residuais de refinarias de recuperação de enxofre, contendo sulfeto de carbonila (COS) e dissulfeto de carbono (CS₂). Também para remover sulfeto de hidrogênio (H₂S) e CO₂ do gás natural (ISLAM et al., 2017). DEA tem maior capacidade de trabalho que MEA, o que indica que a via carbamato em DEA é menos estável em comparação com MEA, favorecendo a via 1:1 de bicarbonato (LEE et al., 2013). Segundo Sartori e Savage (1983), o intermediário carbamato em DEA é seis vezes menos estável que em MEA, tornando o processo de captura do CO₂ com DEA mais eficiente.

Lee et al. (2013) compararam processos de captura de CO₂ por diferentes solventes, MEA e DEA, e concluíram que o uso de DEA é preferível uma vez que tanto os custos com energia térmica para regeneração, quanto os investimentos para captura de CO₂ relacionados ao DEA são inferiores quando comparados ao MEA.

3.4.2 Carbonato de potássio

Carbonato de potássio (K₂CO₃) (Figura 8) é uma classe emergente de absorventes utilizados no tratamento de gases de combustão. Os principais benefícios do uso desse absorvente na captura do CO₂ incluem baixo custo, poucos problemas de degradação e corrosão e menor toxicidade quando comparado com as aminas. Além disso, o K₂CO₃ não é prontamente degradado por oxigênio ou impurezas (NO_x, SO_x) que possam estar presentes no gás que está sendo tratado, necessitando de menor energia para regeneração (DEVRIES, 2014; ZHENG et al., 2017).

Figura 8- Estrutura química do carbonato de potássio



Fonte: *Royal Society of Chemistry* (2014)

O K₂CO₃ tem menor velocidade de reação com CO₂ que as aminas aquosas, o que pode ser uma desvantagem em processos de captura do CO₂ diretamente na saída dos gases (DEVRIES, 2014). A reação de absorção entre CO₂ e solução de K₂CO₃ é exotérmica. O

carbonato é transformado em bicarbonato durante a absorção (BORHANI et al., 2015), conforme Equação 5.



As aminas têm sido os absorventes mais investigados, pois são os mais empregados na indústria, enquanto o carbonato de potássio tem mostrado crescente interesse dos pesquisadores (DEVRIES, 2014).

A mistura de absorventes atrai interesse por que combina as características favoráveis de diferentes absorventes ao mesmo tempo que suprime as características desfavoráveis. Geralmente, quando utilizadas em processos de captura do CO_2 , são considerados o desempenho de absorção e o consumo de energia para a regeneração do absorvente para escolher as combinações adequadas deles (WU et al., 2014).

3.5 INTEGRAÇÃO DA FIXAÇÃO QUÍMICA E BIOLÓGICA

Aliar a absorção química e a fixação biológica pode ser uma estratégia para aumentar a taxa de fixação de CO_2 a fim de diminuir concentrações desse gás na atmosfera. Alguns estudos nessa área foram realizados, encontrando-se respostas positivas nos parâmetros de crescimento e incremento de biomoléculas nas microalgas.

Choi, Kim e Lee (2012) testaram diferentes concentrações de MEA em cultivo de *Scenedesmus* sp. e observaram que concentrações superiores a $6,55 \text{ mmol L}^{-1}$ inibiram o crescimento celular, associando esse resultado a possível toxicidade do intermediário carbamato. Porém, utilizando $1,64 \text{ mmol L}^{-1}$ de MEA conseguem, além de maior concentração celular, aumento de cerca de 36 % no conteúdo de clorofila *a* e taxa de fixação de CO_2 de $539,6 \text{ mgCO}_2 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, valor 63 % mais elevado, quando comparado ao cultivo sem MEA.

Rosa et al. (2015), adicionando $0,20 \text{ mmol L}^{-1}$ de MEA em cada reciclo de cultivos semi-contínuos da microalga *Spirulina* sp. LEB 18, observaram aumento de 13,3 % na velocidade específica máxima de crescimento e máxima taxa de biofixação superior aos ensaios sem MEA durante o tempo de cultivo. Os autores observaram aumento de 96 % do conteúdo de carboidratos da microalga nos cultivos com adição do absorvente químico. No entanto, Rosa et al. (2016) verificaram que a microalga *Spirulina* sp. LEB 18 com concentração celular inicial de $0,2 \text{ g L}^{-1}$ não resiste a concentrações de MEA acima de $0,82 \text{ mmol L}^{-1}$.

Zheng, Martin e Kentish (2016) estudaram a combinação de sistemas envolvendo a absorção química com K_2CO_3 , desorção por membranas e cultivo microalgal, com *Chlorella* sp., e observaram aumento na produtividade volumétrica e na concentração da biomassa com uso desse absorvente.

No cultivo microalgal, a utilização de aminas secundárias, como DEA, pode aumentar a concentração de CO_2 dissolvido no meio, formando bicarbonato, que é a forma de carbono inorgânico preferencialmente absorvida pelas microalgas num ambiente aquoso (KIM et al., 2013). Segundo Danckwerts e McNeil (1967 apud BOSCH; VERSTEEG; VAN SWAAIJ, 1989, p. 2736), a amina que reage com o CO_2 na interface gás-líquido pode ser regenerada pela reversão da reação de formação do carbamato, seguida da hidratação do CO_2 .

Dessa forma, as microalgas, devido a sua atividade fotoautotrófica, podem ser utilizadas para a fixação de CO_2 , reduzindo a concentração do gás na atmosfera e utilizando-o como fonte de carbono em seu metabolismo (KUMAR et al., 2011). A absorção química pode ser integrada a este processo como forma de aumentar a taxa de fixação de CO_2 e a eficiência de utilização do carbono, pela microalga (CHOI; KIM; LEE, 2012).

CAPÍTULO III

DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO

Foram realizados cultivos da microalga *Spirulina* sp. LEB 18 em fotobiorreatores do tipo *erlenmeyer*, de 0,5 L, com adição dos absorventes químicos de CO₂, dietanolamina e carbonato de potássio, separadamente. Foram selecionadas as concentrações dos absorventes nas quais a microalga *Spirulina* sp. LEB 18 apresentou melhor crescimento. Com as concentrações selecionadas os cultivos foram realizados em fotobiorreatores tubulares verticais (FBRTv), de 1,8 L, com injeção de CO₂, a fim de avaliar a biofixação de CO₂ e a composição da biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18. Posteriormente, nos FBRTv, foram realizados ensaios com adição de misturas de carbonato de potássio e dietanolamina, nas concentrações que apresentaram melhores resultados de biofixação de CO₂ e incremento de biomoléculas na etapa anterior.

**FIXAÇÃO DE CARBONO E COMPOSIÇÃO DA BIOMASSA DE *Spirulina*
CULTIVADA COM ABSORVENTES DE CO₂**

Fixação de carbono e composição da biomassa de *Spirulina* cultivada com absorventes de CO₂

RESUMO

A biofixação de dióxido de carbono (CO₂) por microalgas é uma técnica promissora de mitigação desse gás de efeito estufa, que é o principal contribuinte do aquecimento global. Algumas limitações desse processo, como baixa transferência do CO₂ para o meio líquido, podem ser contornadas com modificações no cultivo. Adição de absorventes químicos de CO₂, como dietanolamina ou carbonato de potássio no cultivo microalgal pode ser uma estratégia para reduzir as limitações de disponibilização do gás para o micro-organismo. O objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos da adição dos absorventes químicos dietanolamina e carbonato de potássio na biofixação de CO₂, parâmetros de crescimento e composição da biomassa da microalga *Spirulina* sp. LEB 18. A adição de dietanolamina no cultivo de *Spirulina* aumentou 35 % a produtividade de biomassa e a biofixação de CO₂. A adição de carbonato de potássio incrementou o conteúdo de carboidratos (12,2 %) e lipídios (11 %). O ensaio com a mistura de 1,64 mmol L⁻¹ de dietanolamina e 0,41 mmol L⁻¹ de K₂CO₃ apresentou a maior concentração celular máxima (2,1 g L⁻¹) e maior eficiência de fixação do CO₂ (43,7 % m m⁻¹). Dessa forma, o cultivo de *Spirulina* sp. LEB 18 pode ser aliado à fixação química para a mitigação do CO₂, com possível aplicação da biomassa na indústria alimentícia, de biocorantes ou na produção de biocombustíveis.

Palavras-chave: Absorvente químico. Carbonato de potássio. Dietanolamina. Microalga. Mitigação do CO₂.

Carbon fixation and biomass composition of *Spirulina* cultivated with CO₂ chemical absorbents

ABSTRACT

Carbon dioxide (CO₂) biofixation by microalga is a promising technique to mitigate of this greenhouse gas, which is the main contributor to global warming. Some limitations of this process, such as low CO₂ transfer to the liquid medium, can be bypassed with media modifications. CO₂ chemical absorbents addition, such as diethanolamine or potassium carbonate in microalgal cultivation may be a strategy to reduce the limitations of gas availability to the microorganism. The aim of this study was to evaluate the effects of chemical adsorbents addition, diethanolamine and potassium carbonate, in the CO₂ biofixation, growth parameters and biomass composition of *Spirulina* sp. LEB 18. The addition of diethanolamine in *Spirulina* cultivation increased 35% biomass productivity and CO₂ biofixation. The addition of potassium carbonate increased the content of carbohydrates (12.2%) and lipids (11%). The assay with the 1.64 mmol L⁻¹ of diethanolamine mixture with 0.41 mmol L⁻¹ of K₂CO₃ had the highest maximum cell concentration (2.1 g L⁻¹) and higher CO₂ biofixation efficiency (43.7 % w w⁻¹).

Thus, the culture of *Spirulina* sp. LEB 18 can be linked to the chemical fixation for CO₂ mitigation, with the possible application of biomass in the food industry, biodye or biofuels.

Keywords: Chemical absorbent. CO₂ mitigation. Diethanolamine. Microalga. Potassium carbonate.

1 INTRODUÇÃO

Spirulina é uma microalga com elevado valor econômico e tem sido estudada devido ao alto conteúdo de macro e micronutrientes, aminoácidos essenciais, proteínas, lipídios e anti-oxidantes em sua biomassa (SHI et al., 2016; SONI; SUDHAKAR; RANA, 2017). As microalgas podem utilizar o dióxido de carbono (CO₂) para crescer, convertendo-o em oxigênio e biomassa. Dessa forma, o cultivo microalgal tem sido empregado em processos de mitigação do CO₂ a fim de reduzir as concentrações desse gás de efeito estufa (GEE) na atmosfera (CHISTI, 2007; SADEGHIZADEH et al., 2017).

O aumento da concentração atmosférica de CO₂ tem sido desafio para o meio ambiente e a sustentabilidade. A mitigação do CO₂ pelas microalgas é uma das estratégias mais efetivas nesse processo, pois estes micro-organismos apresentam elevadas taxas de crescimento e eficiência de fixação de CO₂ (ZENG et al., 2012). Estima-se que 25 % do CO₂ atmosférico é capturado pelas microalgas em processos naturais, sendo necessário aumentar a captura para aplicação industrial (CHI; O'FALLON; CHEN, 2011). Dessa forma, modificações no cultivo têm sido estudadas a fim de elevar a concentração de CO₂ biofixado, alterando a composição da biomassa e potencializando sua aplicação em diversos setores, como alimentos funcionais, nutracêuticos e biocombustíveis (YEN et al., 2013).

O CO₂ liberado em processos industriais também pode ser removido por métodos químicos. Os absorventes químicos utilizados nesses processos são principalmente soluções aquosas de aminas, como a dietanolamina (DEA) ou soluções de carbonato de potássio (K₂CO₃) (LUIS, 2016). A DEA tem sido comumente utilizada em unidades de purificação do gás natural para remover o CO₂ (AL-ZUHAIR; ALKETBI; AL-MARZOUQI, 2016). As soluções de K₂CO₃ são empregadas em processos de remoção do CO₂ a quente, principalmente pelo baixo custo, baixa toxicidade e pela capacidade de incorporar óxido de enxofre (SO_x) e óxido de nitrogênio (NO_x) (GHOSH; KENTISH; STEVENS, 2009; SMITH et al., 2014), gases liberados nos processos industriais, que contribuem para o aumento do efeito estufa.

Algumas pesquisas têm focado na mistura de absorventes químicos para combinar as vantagens de cada um no tratamento de gases de combustão, como associação de

monoetanolamina e dietanolamina (XIAO et al., 2017) e dietanolamina e metildietanolamina (RINKER; ASHOUR; SANDALL, 2000). A reação do absorvente químico com CO₂ no meio aquoso, forma bicarbonato (MELDON; MORALES-CABRERA, 2011), o qual é utilizado como fonte de carbono pelas microalgas (ZENG et al., 2012).

Neste contexto, o objetivo do trabalho foi avaliar se a adição dos absorventes químicos dietanolamina e carbonato de potássio afetam a biofixação de CO₂, o crescimento e a composição da biomassa da microalga *Spirulina* sp. LEB 18.

2 MATERIAL E MÉTODOS

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

A microalga utilizada foi *Spirulina* sp. LEB 18 (MORAIS et al., 2008), pertencente à Coleção de Culturas do Laboratório de Engenharia Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande - FURG. A microalga foi mantida em meio Zarrouk (ANEXO I, Tabela A1) (ZARROUK, 1966) modificado, retirando-se a fonte de carbono do meio (NaHCO₃).

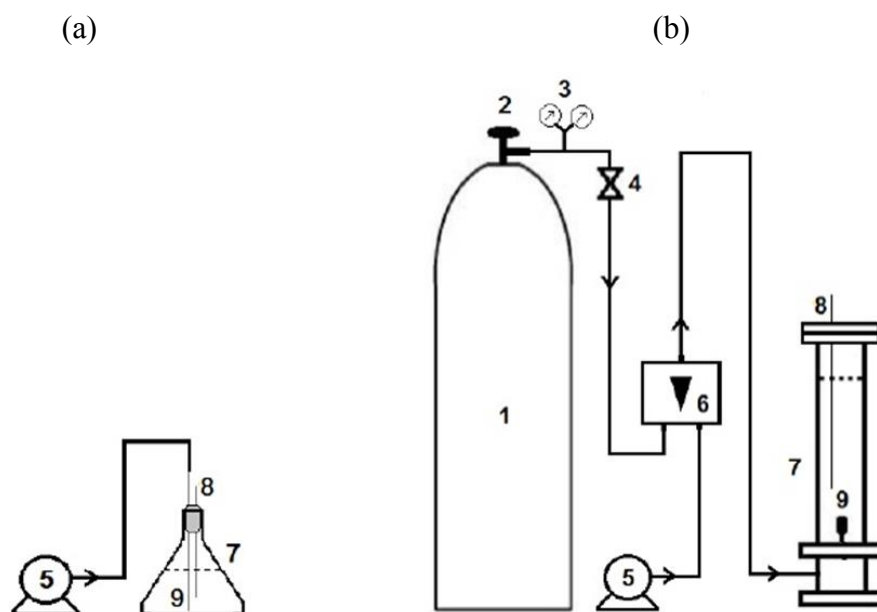
O inóculo de *Spirulina* sp. LEB 18 foi adaptado 7 d antes do início dos experimentos ao CO₂ (comercial pureza mínima 99 %, White Martins, Brasil), injetado com vazão específica de alimentação de 0,12 mL_{CO2} mL_{meio}⁻¹ d⁻¹, por 2 min h⁻¹, na fase clara (ROSA et al., 2010).

2.2 CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS

Foram estudados dois absorventes químicos de CO₂, carbonato de potássio (K₂CO₃) e dietanolamina (DEA, C₄H₁₁NO₂), ambos da marca Synth. O crescimento da microalga quanto às concentrações dos absorventes foi avaliado em duplicatas em *erlenmeyers* (Figura 1a) com volume total de 0,50 L e volume útil de 0,40 L. As concentrações dos absorventes químicos testadas foram: 4,92 mmol L⁻¹, 3,28 mmol L⁻¹, 1,64 mmol L⁻¹, 1,23 mmol L⁻¹, 0,82 mmol L⁻¹ e 0,41 mmol L⁻¹ (ROSA et al., 2016).

Os cultivos foram realizados com meio Zarrouk modificado (sem NaHCO₃), mantidos a 30 °C, fotoperíodo 12 h claro/escuro, 41,6 μmol_{fótons} m⁻² s⁻¹ (MORAIS; COSTA, 2007), durante 10 d. A agitação foi promovida por ar comprimido. A concentração celular inicial foi 0,2 g L⁻¹ (ROSA et al., 2011). Paralelamente foi realizado um ensaio controle, nas mesmas condições, sem adição dos absorventes.

Figura 1- Desenho esquemático dos ensaios de *Spirulina* sp. LEB 18 em (a) fotobiorreatores *erlenmeyer* e (b) fotobiorreatores tubulares verticais.



(1) Cilindro de CO₂ industrial; (2) válvula de abertura do cilindro; (3) manômetro e medidor de vazão; (4) válvula solenóide; (5) minicompressor de ar; (6) rotâmetros; (7) fotobiorreator; (8) amostrador; (9) aspersor de ar ou CO₂.

Fonte: Rosa, 2014.

Após selecionar as concentrações de absorventes com as quais a microalga apresentou melhor crescimento, foram realizadas bateladas alimentadas com CO₂ em biorreatores de maior volume. Foram realizadas duplicatas dos cultivos em fotobiorreatores tubulares verticais (FBRTv, Figura 1b) de 1,8 L, com volume útil de 1,5 L (MORAIS; COSTA, 2007). As condições de cultivo foram as mesmas submetidas aos ensaios em *erlenmeyer*. A agitação foi promovida por ar comprimido com vazão específica de 0,1 vvm (volume de ar volume de meio⁻¹ min⁻¹). A alimentação de CO₂ foi realizada conforme Rosa et al. (2015), com vazão específica de 0,36 mL_{CO2} mL_{meio}⁻¹ d⁻¹ (22,5 mL min⁻¹) por 2 min h⁻¹, durante a fase clara. A aeração dos cultivos foi interrompida 1 min antes e 1 min depois da adição de CO₂ para aumentar o tempo de residência do gás no meio de cultivo.

Nas mesmas condições de cultivo, foram realizados ensaios com meio Zarrouk modificado, adição de CO₂ e sem absorvente químico (controle) e ensaios com meio Zarrouk, sem adição de absorvente e sem adição de CO₂ (controle negativo). Também foram realizados ensaios abióticos (sem microalga) para observar a atuação dos absorventes químicos sozinhos, com 1,64 mmol L⁻¹ de DEA, 1,64 mmol L⁻¹ de K₂CO₃ e sem absorvente.

DEA e K_2CO_3 também foram avaliados misturados. Os ensaios foram realizados em duplicatas, em FBRTv, nas mesmas condições já citadas. DEA foi adicionado na concentração $1,64 \text{ mmol L}^{-1}$, enquanto as concentrações de K_2CO_3 adicionadas foram $0,41 \text{ mmol L}^{-1}$ (DEA + $0,41 K_2CO_3$) e $3,28 \text{ mmol L}^{-1}$ (DEA + $0,41 K_2CO_3$). Também foi realizado ensaio controle, sem adição dos absorventes químicos e com adição de CO_2 .

A Tabela 1 apresenta um resumo das condições dos ensaios realizados.

Tabela 1- Principais modificações nas condições dos ensaios realizados.

Ensaio	Fotobiorreator	X_0 ($g L^{-1}$)	Meio de cultivo	Concentração de DEA ($mmol L^{-1}$)	Concentração de K_2CO_3 ($mmol L^{-1}$)	Adição de CO_2
Seleção das concentrações de absorvente	<i>Erlenmeyer</i>	0,2	Zarrouk modificado	0,41; 0,82; 1,23; 1,64; 3,28; 4,92	- 0,41; 0,82; 1,23; 1,64; 3,28; 4,92	Não
Controle	<i>Erlenmeyer</i>	0,2	Zarrouk modificado	-	-	Não
Avaliação da biofixação	FBRTv	0,2	Zarrouk modificado	0,41; 1,64; 3,28	- 0,41; 1,64; 3,28	Sim
Controle	FBRTv	0,2	Zarrouk modificado	-	-	Sim
Controle negativo	FBRTv	0,2	Zarrouk	-	-	Não
Abiótico DEA	FBRTv	-	Zarrouk modificado	1,64	-	Sim

Ensaio	Fotobiorreator	X ₀ (g L ⁻¹)	Meio de cultivo	Concentração de DEA (mmol L ⁻¹)	Concentração de K ₂ CO ₃ (mmol L ⁻¹)	Adição de CO ₂
Abiótico K ₂ CO ₃	FBRTv	-	Zarrouk modificado	-	1,64	Sim
Controle abiótico	FBRTv	-	Zarrouk modificado	-	-	Sim
DEA+0,41 K ₂ CO ₃	FBRTv	0,2	Zarrouk modificado	1,64	0,41	Sim
DEA+3,28 K ₂ CO ₃	FBRTv	0,2	Zarrouk modificado	1,64	3,28	Sim
Controle (misturas)	FBRTv	0,2	Zarrouk modificado	-	-	Sim

X₀: Concentração celular inicial; FBRTv: fotobiorreator tubular vertical; (-): Não se aplica.

2.3 DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS

Nos ensaios em *erlenmeyers* e FBRTv, diariamente foi determinada a concentração de biomassa e realizada a medida de pH. A concentração de biomassa foi determinada pela densidade óptica por leitura em espectrofotômetro digital (QUIMIS Q798DRM, Diadema – SP – Brazil) a 670 nm, a partir de curva padrão previamente obtida, relacionando densidade ótica e biomassa seca (COSTA et al., 2002). O pH foi determinado em pHmetro digital (QUIMIS Q.400H) (APHA, 1998).

Nos ensaios com adição de CO₂, a cada 72 h foi determinada a concentração de carbono inorgânico dissolvido (CID). A concentração de carbono inorgânico dissolvido (CID) foi calculada a partir das frações de ionização de carbono no meio, obtidas da medida de alcalinidade total (APHA, 1998) e pH dos ensaios, conforme as equações de equilíbrio de Brune

e Novak (1981) e Rubio et al. (1999), demonstradas por Rosa et al. (2015). Nos ensaios abióticos foram analisados apenas pH e CID, a cada 72 h.

2.4 PARÂMETROS DE CRESCIMENTO

A partir dos perfis de crescimento celular da microalga foi obtida a concentração celular máxima ($X_{\text{máx}}$, g L⁻¹) e avaliadas a produtividade volumétrica de biomassa (P_X , mg L⁻¹ d⁻¹), velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{\text{máx}}$, d⁻¹) e tempo de geração (t_g , d) nos ensaios em *erlenmeyer* e FBRTv. Além disso, nos ensaios em FBRTv foram calculados a taxa de biofixação de CO₂ (TB, mg L⁻¹ d⁻¹) e a eficiência de utilização de CO₂ (E, % m m⁻¹).

A produtividade volumétrica de biomassa (P_X , mg L⁻¹ d⁻¹) (BAILEY; OLLIS, 1986) foi calculada segundo a Equação 1, onde X é a concentração celular (g L⁻¹) no tempo t (d) e X_0 é a concentração celular (g L⁻¹) no tempo t_0 (d). A produtividade volumétrica máxima de biomassa ($P_{\text{máx}}$, mg L⁻¹ d⁻¹) é o maior valor de produtividade obtido em cada ensaio.

$$P_X = \frac{X - X_0}{t - t_0} \quad (1)$$

A velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{\text{máx}}$, d⁻¹) (SCHMIDELL et al., 2001) foi obtida pela regressão linear da fase logarítmica de crescimento da microalga.

O tempo de geração (t_g , d) (BAILEY; OLLIS, 1986) das células foi calculado conforme a Equação 2.

$$t_g = \frac{\ln 2}{\mu_{\text{máx}}} \quad (2)$$

2.5 BIOFIXAÇÃO DE CO₂

A taxa de biofixação de CO₂ (TB, mg L⁻¹ d⁻¹) (TOLEDO-CERVANTES et al., 2013) foi calculada pela Equação 3, em que $P_{\text{máx}}$ é a produtividade volumétrica máxima (mg L⁻¹ d⁻¹) determinada em cada ensaio, X_{cbm} é a fração mássica de carbono determinada por análise elementar da biomassa, M_{CO_2} é a massa molar do dióxido de carbono e M_C é a massa molar do carbono. A máxima taxa de biofixação de CO₂ é o máximo valor de TB obtido em cada ensaio.

$$TB = P_{\text{máx}} \cdot X_{\text{cbm}} \cdot \frac{M_{\text{CO}_2}}{M_C} \quad (3)$$

A eficiência de utilização de CO₂ (E, % m m⁻¹) (ZHANG; KURANO; MIYACHI, 2002) foi calculada segundo Equação 4, onde TB é a taxa de biofixação de CO₂ diária (mg L⁻¹ d⁻¹), V_{trabalho} o volume útil de trabalho do fotobiorreator (L) e ṁ a taxa mássica de alimentação diária com CO₂ (mg d⁻¹).

$$E = \frac{TB \cdot V_{\text{trabalho}}}{\dot{m}} \cdot 100 \quad (4)$$

2.6 RECUPERAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA BIOMASSA

Ao final dos experimentos nos FBRTv a biomassa foi centrifugada (HITACHI himac CR-GIII, Tóquio - Japão) à 9500g, por 20 min à 20 °C, ressuspendida em água destilada e novamente centrifugada nas mesmas condições. Posteriormente, a biomassa foi congelada à -80 °C, liofilizada e armazenada à -20 °C até sua caracterização.

A biomassa foi caracterizada quanto a concentração de carboidratos, proteínas, lipídios, umidade e cinzas. Também foi realizada a análise elementar das frações de carbono, hidrogênio e nitrogênio.

Para as análises de proteínas e carboidratos foram preparados extratos com 5 mg de biomassa de microalga liofilizada e 10 mL de água destilada, sonicados em sonda ultrassônica (COLE PARMER CPX 130 – Illinois – USA), com 10 ciclos de funcionamento, sendo 1 min ligado e 1 min desligado. Este procedimento foi utilizado para liberar o material intracelular da microalga no meio líquido.

A concentração de proteínas foi determinada a partir do método colorimétrico de Lowry et al. (1951), utilizando curva de albumina de soro bovino. A concentração de carboidratos na biomassa foi determinada pelo método fenol-sulfúrico de Dubois et al. (1956), utilizando curva de glicose. A concentração de lipídios foi determinada por método baseado na extração de lipídios polares e apolares utilizando clorofórmio e metanol (FOLCH; LEES; STANLEY, 1957). O teor de umidade foi determinado de acordo com a metodologia n° 925.09 da AOAC (2000), por secagem em estufa a 105°C, até peso constante. As cinzas foram determinadas segundo o método gravimétrico n° 923.03 da AOAC (2000).

As concentrações de carbono, hidrogênio e nitrogênio (CHN) na biomassa liofilizada, foram determinadas em analisador elementar (Perkin Elmer 2400, USA), utilizando acetanilida como padrão.

2.7 QUANTIFICAÇÃO DE PIGMENTOS

Diariamente foi realizada a extração de clorofila com metanol, a partir de amostra líquida. A quantificação foi realizada por espectrofotometria a 470 nm, 665,2 nm e 652,4 nm, relacionando nas Equações 5, 6 e 7, como proposto por Lichtenthaler (1987).

$$C_a = 16,72A_{665,2} - 9,16A_{652,4} \quad (5)$$

$$C_b = 34,09A_{652,4} - 15,28A_{665,2} \quad (6)$$

$$C_{a+b} = 1,44A_{665,2} + 24,93A_{652,4} \quad (7)$$

Onde: $A_{665,2}$ e $A_{652,4}$: absorbâncias nos respectivos comprimentos de onda; C_a : Clorofila *a*; C_b : Clorofila *b*; C_{a+b} : Clorofila *a* + Clorofila *b*.

A extração de ficocianina foi realizada na biomassa final dos cultivos, utilizando água como solvente e 0,08 g mL⁻¹ de biomassa. A solução foi mantida em agitador orbital (shaker) a 100 rpm, 25 °C, por 4 h (SILVEIRA et al., 2007). Após, foi centrifugada e lida a absorbância do sobrenadante a 615 e 652 nm.

A concentração de ficocianina (mg mL⁻¹) foi calculada usando a Equação 8, descrita por Bennett e Bogorad (1973), onde CF é a concentração de ficocianina em mg mL⁻¹; A_{615} e A_{652} são as leituras de absorbância nos respectivos comprimentos de onda.

$$CF = \frac{A_{615} - 0,474 \cdot A_{652}}{5,34} \quad (8)$$

O rendimento da extração foi calculado pela Equação 9, em que R é o rendimento da extração (mg g⁻¹), CF é a concentração de ficocianina (mg mL⁻¹), V é o volume de solvente (mL) e m massa de *Spirulina* sp. LEB 18 (g) (SILVEIRA et al., 2007).

$$R = \frac{CF \cdot V}{m} \quad (9)$$

2.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

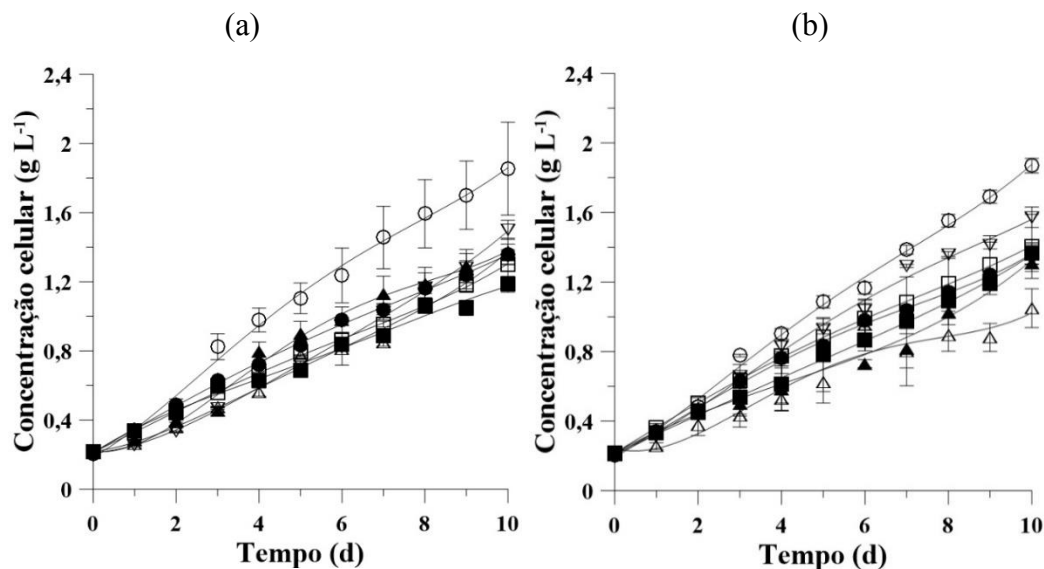
As respostas obtidas nos ensaios foram avaliadas por análise de variância (ANOVA), seguidas de teste de Tukey para comparação entre as médias, ao nível de 95 % de confiança.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CRESCIMENTO DA MICROALGA *Spirulina* sp. LEB 18 CULTIVADA COM ABSORVENTES QUÍMICOS EM FOTOBIORREATORES *ERLENMEYER*

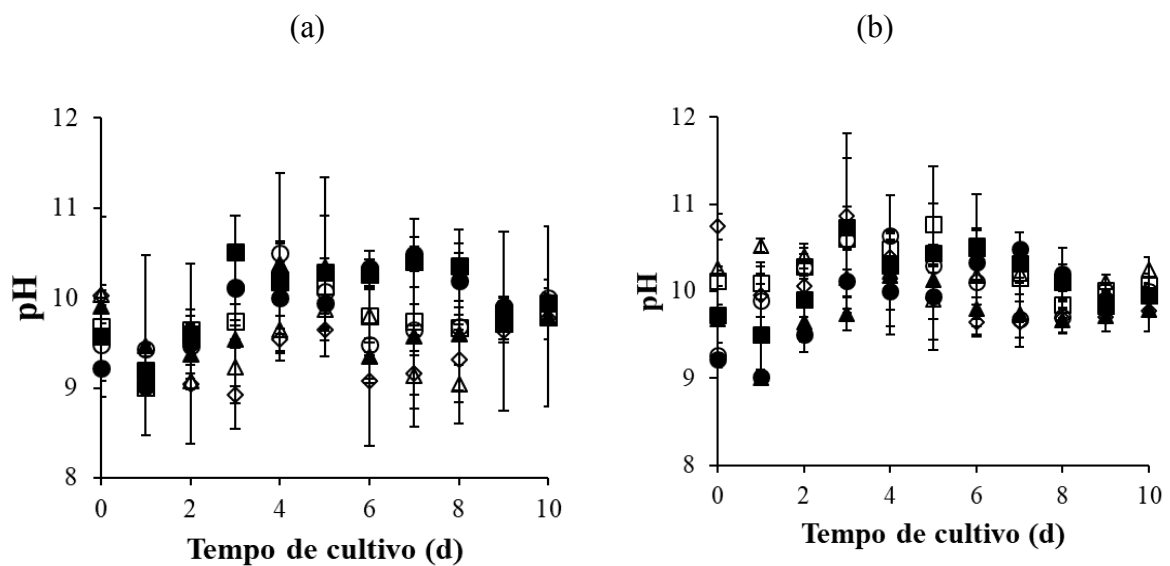
A microalga cresceu em todas as todas as concentrações de K_2CO_3 e DEA testadas (Figura 2). A faixa de concentração dos absorventes estudada não causa grande variação no crescimento da microalga. Na presença de K_2CO_3 a concentração celular máxima da microalga ocorreu no ensaio com $0,41 \text{ mmol L}^{-1}$ ($1,87 \text{ g L}^{-1}$) e o menor crescimento foi observado no ensaio com $3,28 \text{ mmol L}^{-1}$ de absorvente ($1,36 \text{ g L}^{-1}$) (Figura 2b). Nos cultivos onde foi adicionada DEA a maior concentração celular também foi observada com $0,41 \text{ mmol L}^{-1}$ do absorvente ($1,85 \text{ g L}^{-1}$) (Figura 2a).

Figura 2- Concentração celular da microalga *Spirulina* sp. LEB 18 nos ensaios controle (meio Zarrouk modificado) (●), com adição de $0,41$ (○), $0,82$ (■), $1,23$ (□), $1,64$ (▲), $3,28$ (△) e $4,92 \text{ mmol L}^{-1}$ (∇) de DEA (a) e K_2CO_3 (b).



O pH dos cultivos (Figura 3) manteve-se na faixa de 9 a 11, ocorrendo variações justificadas pelo crescimento da microalga. Segundo Shi et al. (2016), com o aumento do pH a taxa de crescimento de *Spirulina* aumenta no primeiro momento, seguido de queda, sendo encontrado o máximo crescimento entre pH 9,5-10. Os ensaios se mantiveram nessa faixa ótima em praticamente todo o tempo de cultivo.

Figura 3- Variação de pH dos cultivos de *Spirulina* sp. LEB 18: controle (meio Zarrouk modificado) (●), 0,41 (○), 0,82 (■), 1,23 (□), 1,64 (▲), 3,28 (△) e 4,92 mmol L⁻¹ (◇) de DEA (a) e K₂CO₃ (b).



A Tabela 2 apresenta os resultados de concentração celular máxima ($X_{m\acute{a}x}$), produtividade máxima ($P_{m\acute{a}x}$), velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{m\acute{a}x}$) e tempo de geração (t_g) dos ensaios realizados com diferentes concentrações dos absorventes DEA e K₂CO₃.

Os ensaios com a menor concentração de absorvente (0,41 mmol L⁻¹) apresentaram os melhores resultados de crescimento ($\mu_{m\acute{a}x}$ 0,38 d⁻¹ para K₂CO₃ e 0,41 d⁻¹ para DEA) e produtividade ($P_{m\acute{a}x}$ 190,8 mg L⁻¹ d⁻¹ para K₂CO₃ e 206,9 mg L⁻¹ d⁻¹ para DEA), e foram semelhantes para os dois absorventes. Os ensaios com a maior concentração de absorvente (4,92 mmol L⁻¹) também apresentaram semelhança quanto aos parâmetros de crescimento, podendo-se observar elevada concentração celular máxima (1,57 g L⁻¹ para K₂CO₃ e 1,50 g L⁻¹ para DEA). A adição de 1,64 mmol L⁻¹ de DEA também apresentou elevada produtividade máxima (146,9 mg L⁻¹ d⁻¹) e velocidade específica máxima de crescimento (0,30 d⁻¹).

Tabela 2- Concentração celular máxima ($X_{\text{máx}}$), produtividade máxima ($P_{\text{máx}}$), velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{\text{máx}}$) e tempo de geração (t_g) dos ensaios de *Spirulina* sp. LEB 18 em *erlenmeyers*.

Parâmetro	Controle	K_2CO_3 (mmol L ⁻¹)					
		0,41	0,82	1,23	1,64	3,28	4,92
$X_{\text{máx}}$ (g L ⁻¹)	1,36±0,06 ^c	1,87±0,04 ^{a,A}	1,37±0,06 ^{c,A}	1,41±0,18 ^{c,A}	1,31±0,05 ^{c,A}	1,07±0,10 ^{d,B}	1,57±0,06 ^{b,A}
$P_{\text{máx}}$ (mg L ⁻¹ d ⁻¹)	136,1±2,7 ^{c,d}	190,8±1,9 ^{a,A}	138,1±13,4 ^{c,d,A}	143,9±14,7 ^{b,c,A}	120,9±6,4 ^{d,A}	118,4±22,2 ^{d,A}	160,5±8,2 ^{b,A}
$\mu_{\text{máx}}$ (d ⁻¹)	0,24±≤0,01 ^c	0,38±0,01 ^{a,B}	0,22±0,03 ^{c,dA}	0,10±≤0,01 ^{e,B}	0,13±0,02 ^{e,B}	0,20±0,02 ^{d,B}	0,34±0,01 ^{b,A}
tg (d)	2,9±0,03 ^c	1,8±0,04 ^{d,A}	3,2±0,38 ^{c,B}	6,9±0,23 ^{a,A}	5,6±0,96 ^{b,A}	3,4±0,34 ^{c,A}	2,0±0,07 ^{d,B}
**R ²	0,95±≤0,01	0,98±≤0,01	0,95±0,02	0,99±0,01	0,99±0,01	0,98±≤0,01	0,99±0,01
***Δt (d)	0-6	1-5	0-6	4-10	4-10	0-5	0-4
Parâmetro	*Controle	DEA (mmol L ⁻¹)					
		0,41	0,82	1,23	1,64	3,28	4,92
$X_{\text{máx}}$ (g L ⁻¹)	1,36±0,06 ^c	1,85±0,27 ^{a,A}	1,18±0,05 ^{d,B}	1,30±0,09 ^{c,A}	1,37±0,08 ^{c,A}	1,36±0,02 ^{c,A}	1,50±0,06 ^{b,A}
$P_{\text{máx}}$ (mg L ⁻¹ d ⁻¹)	136,1±2,7 ^{b,c}	206,9±23,2 ^{a,A}	125,2±12,6 ^{c,d,A}	116,6±3,9 ^{d,B}	146,9±13,6 ^{b,B}	116,6±6,9 ^{d,A}	119,8±8,4 ^{d,B}
$\mu_{\text{máx}}$ (d ⁻¹)	0,24±≤0,01 ^d	0,41±0,02 ^{a,A}	0,10±0,01 ^{f,B}	0,15±0,01 ^{e,A}	0,30±0,02 ^{b,A}	0,24±≤0,01 ^{d,A}	0,28±0,01 ^{c,B}
tg (d)	2,9±0,03 ^c	1,7±0,07 ^{e,B}	7,1±0,01 ^{a,A}	4,6±0,18 ^{b,B}	2,3±0,12 ^{d,B}	2,8±0,05 ^{c,B}	2,5±0,06 ^{c,A}
**R ²	0,95±≤0,01	0,98±≤0,01	0,97±0,01	0,98±0,01	0,98±≤0,01	0,99±≤0,01	0,99±0,01
***Δt (d)	0-6	0-4	5-10	2-7	0-5	0-5	0-4

Letras minúsculas iguais sobrescritas na mesma linha e letras maiúsculas iguais sobrescritas na mesma coluna para o mesmo parâmetro indicam que as médias não foram significativamente diferentes ao nível de confiança de 95 % ($p < 0,05$). *O ensaio controle (sem absorvente) foi realizado apenas uma vez, mas foi repetido na tabela para comparação. **R²: o coeficiente de determinação da regressão linear foi aplicado na fase logarítmica de crescimento. ***Δt: tempo inicial-tempo final da fase exponencial de crescimento.

Duarte et al. (2017) em 10 d de cultivo de *Spirulina* sp. LEB 18, em *erlenmeyers* de maior volume (2 L), com meio Zarrouk modificado e adição de CO₂, observaram X_{máx} (0,47 g L⁻¹), P_{máx} (40 mg L⁻¹ d⁻¹) e μ_{máx} (0,17 d⁻¹). Comparando com o presente estudo, observa-se que na faixa de concentração dos absorventes químicos utilizada, houve alteração no crescimento da microalga *Spirulina* sp. LEB 18, podendo se obter aumento nos parâmetros cinéticos avaliados.

A partir desses resultados foram escolhidas as concentrações 0,41 mmol L⁻¹, 1,64 mmol L⁻¹ e 4,92 mmol L⁻¹ de ambos absorventes para realizar o aumento de escala, a fim de avaliar melhor a biofixação de CO₂. O aumento de escala foi realizado pois, segundo Kumar et al. (2011), nos processos de sequestro de CO₂, um dos critérios necessários para o fotobiorreator é a alta transferência de massa. O CO₂, que está na fase gasosa, chega até o interior da célula da microalga através da fase líquida, o que aumenta a resistência à transferência de massa. Dessa forma, o fotobiorreator tubular vertical, devido à sua altura, aumenta o tempo de residência do CO₂ gasoso na fase líquida, quando comparado ao *erlenmeyer*, facilitando a transferência de massa entre as fases.

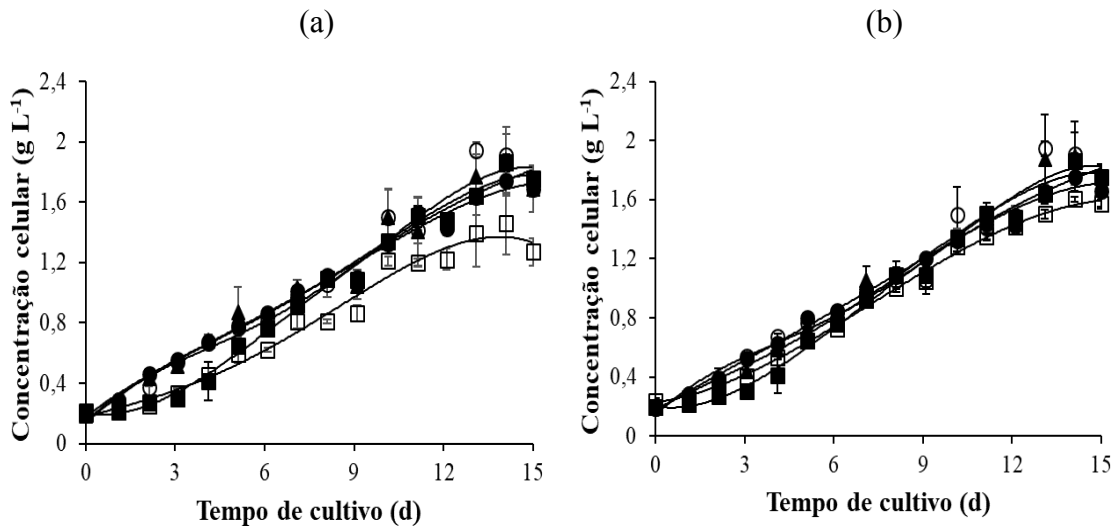
Nas primeiras horas de cultivo com adição de 4,92 mmol L⁻¹ de DEA ocorreu a formação de grande quantidade de espuma, o que impossibilitou a continuação do experimento, verificando-se morte celular no segundo dia de experimento (APÊNDICE, Figura AP3). Choi, Kim e Lee (2012) afirmam que existe uma faixa na qual o CO₂ pode servir como fonte de carbono e ser fixado pelas microalgas (50-100 mg L⁻¹ absorvido com MEA). Concentrações mais elevadas de CO₂-absorvente poderiam inibir o crescimento celular, devido a toxicidade do intermediário carbamato que se forma na reação.

Dessa forma, optou-se por realizar os ensaios com adição de 3,28 mmol L⁻¹ dos absorventes em FBRTv, mantendo a amplitude da faixa de estudo da concentração dos absorventes químicos.

3.2 EFEITOS DOS ABSORVENTES QUÍMICOS NA BIOFIXAÇÃO DE CO₂ PELA MICROALGA *Spirulina* sp. LEB 18 CULTIVADA EM FBRTv

A microalga *Spirulina* sp. LEB 18 cresceu em todas as concentrações testadas dos absorventes químicos (Figura 4). O crescimento apresentou perfil similar entre os ensaios controle, controle negativo e com adição dos absorventes. Pode-se dizer que o NaHCO₃, fonte de carbono geralmente utilizada no meio de cultivo, pode ser substituído pelo CO₂, já que não se observa diferença significativa no crescimento da microalga nessas condições.

Figura 4- Concentração celular da microalga *Spirulina* sp. LEB 18 nos ensaios controle (meio Zarrouk modificado) (■), controle negativo (meio Zarrouk) (○), com adição de 0,41 (●), 1,64 (▲) e 3,28 mmol L⁻¹ (□) de DEA (a) e de K₂CO₃ (b).



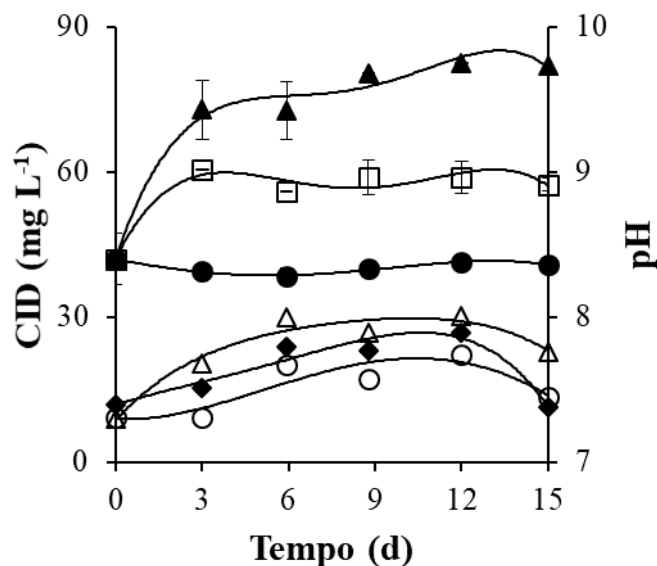
A substituição desse nutriente seria de interesse econômico, pois o investimento em bicarbonato representa 60 % dos custos com o meio de cultivo de *Spirulina* (ALAVA; MELLO; WAGENER, 1997).

Com a maior concentração de DEA (3,28 mmol L⁻¹) observou-se menor crescimento da microalga comparado às outras condições (Figura 4a). Grandes quantidades de DEA no meio podem ser tóxicas para a microalga, devido aos intermediários formados durante a hidrólise de DEA à MEA, conhecidos como carbamatos (CHOI; KIM; LEE, 2012; RINKER; ASHOUR; SANDALL, 2000), o que pode ter resultado no menor crescimento da microalga nessa condição.

Em todos os ensaios, nos últimos dias de experimento, a microalga apresenta tendência a fase estacionária. Segundo Chen et al. (2013), o aumento da concentração celular reduz a passagem de luz pelo reator, o que pode levar à fotolimitação e estagnação do crescimento.

A Figura 5 apresenta a concentração de carbono inorgânico dissolvido (CID) nos ensaios abióticos (sem microalga). O pH dos ensaios manteve-se na faixa de 7,5-8. O ensaio controle abiótico não apresentou variação na concentração de CID. O ensaio com o absorvente K₂CO₃ apresentou a maior variação de CID, 95 % do primeiro para o último dia de experimento. Com o DEA o aumento foi de 36 % nesse mesmo intervalo de tempo. Segundo Kim et al. (2013), a presença de absorvente pode elevar o limite de saturação do CO₂ no meio líquido, dessa forma maior concentração de carbono pode estar dissolvido no meio de cultivo.

Figura 5- Concentração de carbono inorgânico dissolvido (CID, mg L⁻¹) (●: controle; □: 1,64 mmol L⁻¹ de DEA; ▲: 1,64 mmol L⁻¹ de K₂CO₃) e pH (○: controle; Δ: 1,64 mmol L⁻¹ de DEA; ◆: 1,64 mmol L⁻¹ de K₂CO₃) dos ensaios abióticos (sem microalga).

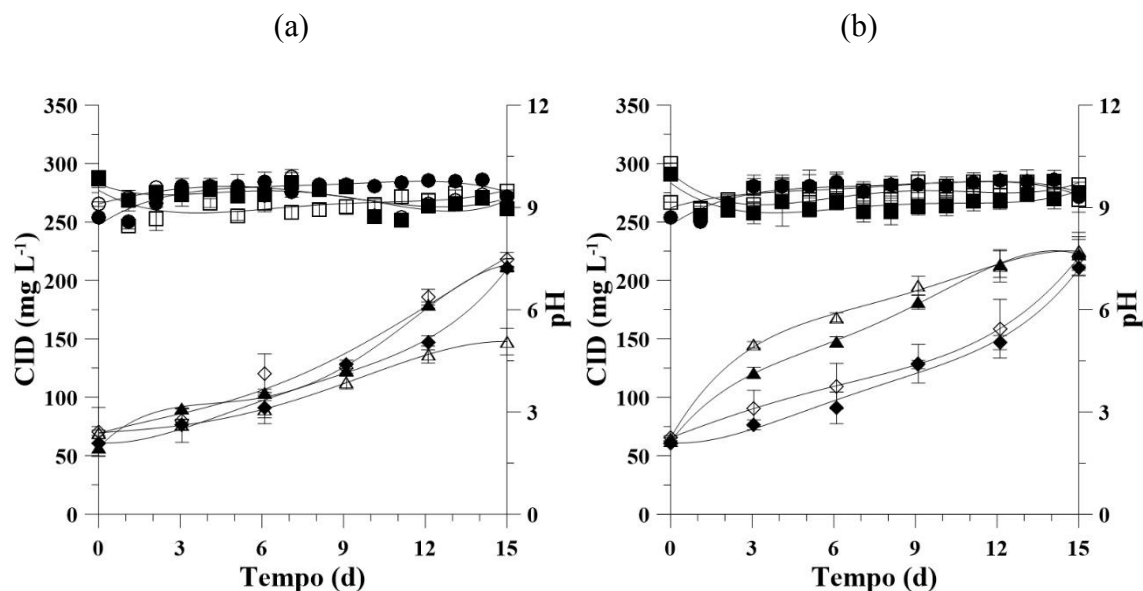


Na Figura 6, observa-se que as maiores concentrações de CID ao longo do cultivo ocorreram nos ensaios com adição do absorvente K₂CO₃ (1,64 e 3,28 mmol L⁻¹), condizente com os resultados encontrados nos ensaios abióticos. A concentração de CID inicial foi em média 60 mg L⁻¹ e ao final dos cultivos todos os ensaios apresentaram CID semelhante (230 mg L⁻¹) (Figura 6b).

A concentração de carbono inorgânico dissolvido (CID) nos cultivos controle e com 0,41 e 1,64 mmol L⁻¹ de DEA aumentou de 60 para 220 mg L⁻¹ (Figura 6a). Porém, a adição de 3,28 mmol L⁻¹ de DEA resultou em menor concentração de CID durante todo o cultivo, apresentando-se cerca de 60 % menor que os outros ensaios ao final dos 15 d. Na presença da maior concentração de DEA, a microalga pode ter apresentado menor crescimento devido a possível toxicidade dos íons carbamato formados, ou ainda pela menor disponibilidade de carbono no meio de cultivo.

Esses valores finais de CID são próximos aos encontrados por Rosa et al. (2016), com *Spirulina* sp. LEB 18 cultivada com adição de 0,41 mmol L⁻¹ de MEA. No entanto, os autores iniciam com altos valores de CID (150 mg L⁻¹). Ou seja, a presença dos absorventes DEA e K₂CO₃ em cultivos de *Spirulina* podem resultar em maiores concentrações de CID que o absorvente MEA.

Figura 6- Concentração de carbono inorgânico dissolvido (CID, mg L^{-1}) (\blacklozenge : controle; \diamond : $0,41 \text{ mmol L}^{-1}$; \blacktriangle : $1,64 \text{ mmol L}^{-1}$; \triangle : $3,28 \text{ mmol L}^{-1}$) e pH (\bullet : controle; \circ : $0,41 \text{ mmol L}^{-1}$; \blacksquare : $1,64 \text{ mmol L}^{-1}$; \square : $3,28 \text{ mmol L}^{-1}$) dos ensaios com adição de (a) DEA e (b) K_2CO_3 .



O pH em todos os ensaios com a microalga manteve-se entre 9 e 10 (Figura 6). A microalga *Spirulina* sp. LEB 18 apresenta ótimo crescimento em pH 9,5-10 (OGBONDA; AMINIGO; ABU, 2007; SHI et al., 2016). Em geral, quando se adiciona CO₂ aos cultivos, a tendência do pH é reduzir, devido à formação de espécies de HCO₃⁻ e liberação de íons H⁺ (BAO et al., 2012). No entanto, a prévia adaptação da microalga a essa condição pode explicar a pouca variação no pH.

A Tabela 3 apresenta os parâmetros cinéticos de crescimento e de biofixação de CO₂ avaliados nos ensaios em FBRTv com a microalga *Spirulina* sp. LEB 18. A maior X_{máx} foi observada nos ensaios com $1,64 \text{ mmol L}^{-1}$ para os dois absorventes estudados, que não apresentaram diferença dos controles. Os ensaios com $3,28 \text{ mmol L}^{-1}$ de K₂CO₃ ($1,61 \text{ mmol L}^{-1}$) e DEA ($1,36 \text{ mmol L}^{-1}$) apresentaram o menor crescimento celular entre todos os ensaios.

A P_{máx} com adição de $1,64 \text{ mmol L}^{-1}$ de DEA ($160,5 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$) aumentou 34,7 % em relação ao controle ($119,2 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$). Kim et al. (2013) também observaram aumento (12,2 %) na produtividade cultivando a microalga *Scenedesmus accuminatus* com adição de 2 mmol L^{-1} de DEA. Para os dois absorventes (K₂CO₃ e DEA) o menor valor de P_{máx} ocorreu nos ensaios com $3,28 \text{ mmol L}^{-1}$ ($102,5 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ para DEA e $104,6 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ para K₂CO₃). Essa redução na produtividade pode ocorrer devido à possível toxicidade dos absorventes nessa concentração mais alta.

Tabela 3- Concentração celular máxima ($X_{m\acute{a}x}$), produtividade máxima ($P_{m\acute{a}x}$), velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{m\acute{a}x}$), tempo de geração (t_g), taxa de biofixação máxima ($TB_{m\acute{a}x}$) e eficiência máxima de utilização do CO_2 ($E_{m\acute{a}x}$) nas condições avaliadas.

Parâmetro	Controle negativo	Controle	DEA (mmol L ⁻¹)		
			0,41	1,64	3,28
$X_{m\acute{a}x}$ (g L ⁻¹)	2,01 ± 0,04 ^a	1,87 ± 0,04 ^{a,b}	1,75 ± 0,06 ^{b,A}	1,99 ± 0,18 ^{a,A}	1,36 ± 0,17 ^{c,B}
$P_{m\acute{a}x}$ (mg L ⁻¹ d ⁻¹)	141,2 ± 5,4 ^b	119,2 ± 5,3 ^c	123,3 ± 5,2 ^{c,A}	160,6 ± 7,4 ^{a,A}	102,5 ± 5,6 ^{d,A}
$\mu_{m\acute{a}x}$ (d ⁻¹)	0,28 ± 0,01 ^b	0,14 ± 0,01 ^d	0,27 ± 0,01 ^{b,B}	0,31 ± 0,03 ^{a,A}	0,23 ± 0,01 ^{c,A}
t_g (d)	2,5 ± 0,04 ^c	4,7 ± 0,07 ^a	2,6 ± 0,08 ^{c,A}	2,1 ± 0,05 ^{d,B}	3,0 ± 0,07 ^{b,B}
**R ²	0,95 ± 0,01	0,98 ± 0,01	0,96 ± 0,02	0,97 ± 0,01	0,98 ± 0,01
***Δt	0-5	5-11	0-5	0-5	1-7
$TB_{m\acute{a}x}$ (mg L ⁻¹ d ⁻¹)	-	197,8 ± 6,3 ^b	191,7 ± 9,4 ^{b,A}	259,0 ± 12,2 ^{a,A}	165,8 ± 6,7 ^{c,A}
$E_{m\acute{a}x}$ (% m m ⁻¹)	-	28,2 ± 1,3 ^b	27,2 ± 1,8 ^{b,A}	36,0 ± 1,7 ^{a,A}	23,0 ± 0,9 ^{c,A}

Parâmetro	*Controle negativo	*Controle	K ₂ CO ₃ (mmol L ⁻¹)		
			0,41	1,64	3,28
$X_{m\acute{a}x}$ (g L ⁻¹)	2,01 ± 0,04 ^a	1,87 ± 0,04 ^{a,b}	1,76 ± 0,05 ^{b,c,A}	2,04 ± 0,23 ^{a,A}	1,61 ± 0,01 ^{c,A}
$P_{m\acute{a}x}$ (mg L ⁻¹ d ⁻¹)	141,2 ± 5,4 ^a	119,2 ± 5,3 ^b	120,3 ± 7,1 ^{b,A}	125,8 ± 9,9 ^{b,B}	104,6 ± 4,1 ^{c,A}
$\mu_{m\acute{a}x}$ (d ⁻¹)	0,28 ± 0,01 ^a	0,14 ± 0,01 ^d	0,28 ± 0,01 ^{a,A}	0,23 ± 0,01 ^{b,B}	0,20 ± 0,01 ^{c,B}
t_g (d)	2,5 ± 0,04 ^d	4,7 ± 0,07 ^a	2,5 ± 0,06 ^{d,A}	3,1 ± 0,15 ^{c,A}	3,4 ± 0,09 ^{b,A}
**R ²	0,95 ± 0,01	0,98 ± 0,01	0,98 ± 0,01	0,99 ± 0,01	0,99 ± 0,01
***Δt	0-5	5-11	0-5	0-7	0-7
$TB_{m\acute{a}x}$ (mg L ⁻¹ d ⁻¹)	-	197,8 ± 6,3 ^{a,b}	189,9 ± 7,9 ^{b,B}	204,6 ± 4,4 ^{a,B}	169,9 ± 4,6 ^{c,A}
$E_{m\acute{a}x}$ (% m m ⁻¹)	-	28,2 ± 1,3 ^{a,b}	26,8 ± 1,3 ^{b,B}	29,5 ± 1,6 ^{a,B}	23,6 ± 0,68 ^{c,A}

Letras minúsculas iguais sobrescritas na mesma linha e letras maiúsculas iguais sobrescritas na mesma coluna para o mesmo parâmetro indicam que as médias não foram significativamente diferentes ao nível de confiança de 95 % ($p < 0,05$). *Os ensaios controle (meio Zarrouk modificado) e controle negativo (meio Zarrouk) foram realizados apenas uma vez, mas foram repetidos na tabela para melhor comparação. **R²: o coeficiente de determinação da regressão linear foi aplicado na fase logarítmica de crescimento. ***Δt: tempo inicial-tempo final da fase exponencial de crescimento.

O ensaio com adição de 1,64 mmol L⁻¹ de DEA também apresentou maior $\mu_{\text{máx}}$ (0,31 d⁻¹) e menor t_g (2,1 d), com fase log de crescimento entre 0 e 5 d de cultivo. Deamici, Costa e Santos (2016) reportam valores semelhantes de $\mu_{\text{máx}}$ e t_g (0,2 d⁻¹ e 2,9 d, respectivamente) para a microalga *Spirulina* sp. LEB 18, cultivada com meio Zarrouk.

Com 1,64 mmol L⁻¹ de DEA a biofixação de CO₂ pela microalga foi maior em relação às outras condições. A TB_{máx} apresentou aumento de 31,5% (259,0 mg L⁻¹ d⁻¹) e a E_{máx} de 27,6 % (36 % m m⁻¹) em relação ao controle. Nos ensaios com 1,64 mmol L⁻¹ de K₂CO₃, a TB_{máx} e E_{máx} não apresentaram diferença significativa em relação ao ensaio controle e foram menores que dos ensaios na mesma concentração de DEA. Os menores valores de biofixação foram observados com adição de 3,28 mmol L⁻¹ de ambos absorventes, que não apresentaram diferença entre si. Os ensaios com 0,41 mmol L⁻¹ de DEA e K₂CO₃ apresentaram respostas de fixação de CO₂ semelhantes ao controle e entre os absorventes. Como pode-se observar, a concentração intermediária de absorvente estudada apresentou maior influência na fixação do CO₂, bem como melhores resultados de crescimento da microalga *Spirulina* sp. LEB 18, principalmente com o absorvente DEA.

A Tabela 4 apresenta os resultados da caracterização da biomassa quanto proteínas, carboidratos, lipídios e cinzas.

A adição de 0,41 mmol L⁻¹ de DEA no cultivo reduziu a concentração proteica da biomassa de *Spirulina* para 51,5 % m m⁻¹ (semelhante ao controle), enquanto com as demais concentrações do absorvente foi em média 58 % m m⁻¹ (semelhante ao controle negativo). A concentração de carboidratos não apresentou diferença significativa e de lipídios apresentou pequena variação do ensaio 0,41 mmol L⁻¹ para as outras concentrações de DEA.

Com 3,28 mmol L⁻¹ e 1,64 mmol L⁻¹ de K₂CO₃ o conteúdo proteico foi bastante reduzido em relação aos ensaios controle e nas mesmas concentrações de DEA (38,2 e 42,2 % m m⁻¹, respectivamente). No ensaio com 3,28 mmol L⁻¹ de K₂CO₃ houve incremento de 34 % da concentração de carboidratos em relação ao controle. A concentração de lipídios não apresentou grande variação, observando-se a maior concentração no ensaio com 0,41 mmol L⁻¹ de K₂CO₃ (13,9 % m m⁻¹). O conteúdo de cinzas não apresentou diferença significativa entre as concentrações dos absorventes avaliadas.

A microalga *Spirulina* sp. LEB 18 cultivada com CO₂, geralmente apresenta 8-10 % m m⁻¹ de carboidratos e 9,5-12 % m m⁻¹ de lipídios (MORAES et al., 2016; ROSA et al., 2016). Os resultados do presente trabalho estão de acordo com a literatura. Em geral, quando ocorre estresse o micro-organismo acumula grande quantidade de carboidratos e lipídios. As alterações no cultivo podem ser uma estratégia de estresse celular, que desviam as condições

normais de crescimento da microalga, causando mudanças a nível funcional no micro-organismo (BENAVENTE-VALDÉS et al., 2016). Pode-se dizer que a adição de absorventes é uma condição favorável de crescimento para a microalga *Spirulina* sp, LEB 18, visto que ela não apresentou grandes variações na concentração dessas macromoléculas.

Tabela 4- Concentração de proteínas, carboidratos, lipídios e cinzas (em base seca) da biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 cultivada com e sem adição de absorventes químicos.

DEA	Macromoléculas (% m m ⁻¹)			
	Proteínas	Carboidratos	Lipídios	Cinzas
Controle negativo	57,5 ± 1,9 ^a	17,1 ± 0,76 ^a	11,8 ± 0,69 ^{a,b}	5,5 ± 0,44 ^b
Controle	53,4 ± 1,3 ^b	16,57 ± 1,2 ^a	12,5 ± 0,52 ^a	5,7 ± 0,32 ^b
0,41 mmol L⁻¹	51,5 ± 1,2 ^{b,A}	15,53 ± 1,5 ^{a,A}	10,8 ± 0,28 ^{b,B}	5,9 ± 0,24 ^{b,A}
1,64 mmol L⁻¹	58,7 ± 1,2 ^{a,A}	14,7 ± 2,9 ^{a,A}	12,3 ± 0,37 ^{a,A}	6,5 ± 0,07 ^{b,A}
3,28 mmol L⁻¹	58,3 ± 1,8 ^{a,A}	15,7 ± 0,33 ^{a,B}	11,7 ± 0,30 ^{a,b,A}	6,7 ± 0,28 ^{a,A}

K ₂ CO ₃	Macromoléculas (% m m ⁻¹)			
	Proteínas	Carboidratos	Lipídios	Cinzas
*Controle negativo	57,5 ± 1,9 ^a	17,1 ± 0,76 ^b	11,8 ± 0,69 ^{b,c}	5,5 ± 0,44 ^{a,b}
*Controle	53,4 ± 1,3 ^b	16,57 ± 1,2 ^b	12,5 ± 0,52 ^b	5,7 ± 0,32 ^a
0,41 mmol L⁻¹	50,8 ± 1,7 ^{b,A}	15,5 ± 0,5 ^{b,A}	13,9 ± 0,55 ^{a,A}	5,7 ± 0,13 ^{a,A}
1,64 mmol L⁻¹	42,2 ± 1,6 ^{c,B}	15,9 ± 1,3 ^{b,A}	10,7 ± 0,27 ^{c,d,B}	4,8 ± 0,19 ^{b,B}
3,28 mmol L⁻¹	38,2 ± 1,4 ^{d,B}	18,6 ± 0,77 ^{a,A}	10,3 ± 0,44 ^{d,B}	6,2 ± 0,38 ^{a,A}

Letras minúsculas iguais sobrescritas na mesma coluna indicam que as médias não foram significativamente diferentes entre as concentrações para o mesmo absorvente; letras maiúsculas iguais sobrescritas na mesma coluna, indicam que as médias não foram significativamente diferentes para a mesma concentração entre os absorventes, ao nível de confiança de 95 % (p<0,05). *Os ensaios controle (meio Zarrouk modificado) e controle negativo (meio Zarrouk) foram realizados apenas uma vez, mas foram repetidos na tabela para melhor comparação.

Na Tabela 5 é apresentada a composição elementar da biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 obtida dos experimentos.

As concentrações de carbono elementar foram utilizadas para calcular a taxa de biofixação do CO₂. A maior concentração de C foi verificada no ensaio com 1,64 mmol L⁻¹ de K₂CO₃ (47,2 %). Os resultados de concentração de N não apresentaram diferença significativa entre as condições avaliadas. A composição elementar apresenta resultados bem próximos aos obtidos por Rosa et al. (2016) (C- 48,8 %; H- 7,4 % e N- 12,0 %) em cultivos de *Spirulina* sp. LEB 18 com 0,41 mmol L⁻¹ de MEA.

Tabela 5- Composição elementar da biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 cultivada com e sem adição de absorventes químicos.

DEA	C (% m m ⁻¹)	H (% m m ⁻¹)	N (% m m ⁻¹)
Controle negativo	46,2 ± 1,1 ^a	5,6 ± 0,7 ^a	10,6 ± 0,5 ^a
Controle	46,4 ± 0,1 ^a	6,6 ± 0,2 ^a	11,1 ± ≤ 0,01 ^a
0,41 mmol L⁻¹	44,6 ± 1,3 ^{a,A}	5,9 ± 0,6 ^{a,A}	10,2 ± 0,6 ^{a,A}
1,64 mmol L⁻¹	44,0 ± 0,1 ^{a,B}	6,0 ± ≤ 0,01 ^{a,B}	10,1 ± 0,4 ^{a,A}
3,28 mmol L⁻¹	44,1 ± 0,9 ^{a,A}	6,2 ± 0,2 ^{a,A}	10,3 ± 0,1 ^{a,A}
K ₂ CO ₃	C (% m m ⁻¹)	H (% m m ⁻¹)	N (% m m ⁻¹)
*Controle negativo	46,2 ± 1,1 ^{a,b}	5,6 ± 0,7 ^a	10,6 ± 0,5 ^a
*Controle	46,4 ± 0,1 ^{a,b}	6,6 ± 0,2 ^a	11,1 ± ≤ 0,01 ^a
0,41 mmol L⁻¹	44,3 ± 0,4 ^{b,A}	6,1 ± 0,1 ^{a,A}	10,5 ± 0,4 ^{a,A}
1,64 mmol L⁻¹	47,2 ± 0,7 ^{a,A}	6,9 ± 0,3 ^{a,A}	10,5 ± 0,5 ^{a,A}
3,28 mmol L⁻¹	44,2 ± 0,6 ^{b,A}	6,4 ± 0,2 ^{a,A}	10,1 ± 0,1 ^{a,A}

Letras minúsculas iguais sobrescritas na mesma coluna indicam que as médias não foram significativamente diferentes entre as concentrações para o mesmo absorvente; letras maiúsculas iguais sobrescritas na mesma coluna, indicam que as médias não foram significativamente diferentes para a mesma concentração entre os absorventes, ao nível de confiança de 95 % (p<0,05). *Os ensaios controle (meio Zarrouk modificado) e controle negativo (meio Zarrouk) foram realizados apenas uma vez, mas foram repetidos na tabela para melhor comparação. C: carbono; H: hidrogênio; N: nitrogênio.

O carbono é a principal necessidade nutricional das microalgas. A biomassa microalgal contém aproximadamente 50 % de carbono (massa seca), derivado do CO₂ (DOUCHA; LÍVANSK'Y, 2006; LAM; LEE; MOHAMED, 2012), próximo ao observado nos ensaios. O nitrogênio é componente de proteínas, ácidos nucleicos e pigmentos fotossintetizantes, podendo estar em variadas concentrações na biomassa (LAVÍN; LOURENÇO, 2005).

Em todas as concentrações de DEA testadas a microalga apresentou aumento na concentração de ficocianina (CF) em relação ao controle (Tabela 6).

O maior rendimento de extração da ficocianina (R_{fico}) ocorreu no ensaio com 1,64 mmol L⁻¹ de DEA, onde o aumento foi de 62,5 % em relação ao cultivo sem absorvente. Os resultados de CF e R_{fico} para os cultivos com 0,41 e 1,64 mmol L⁻¹ de K₂CO₃ apresentaram valores menores das mesmas concentrações de DEA, e com 3,28 mmol L⁻¹ não apresentou diferença. Os ensaios com absorventes de CO₂, principalmente nas maiores concentrações, podem ter alterado componentes da membrana celular, que facilitaram a extração da ficocianina, obtendo-se maior concentração do pigmento nessas condições.

Tabela 6- Concentração de ficocianina (CF, mg mL⁻¹), rendimento da extração de ficocianina (R_{fico}, mg g⁻¹) e concentração máxima de clorofila (C_{clorofila}, mg g⁻¹) da biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 cultivada com e sem adição de absorventes químicos.

DEA	CF (mg mL ⁻¹)	R _{fico} (mg g ⁻¹)	C _{clorofila} (mg g ⁻¹)
Controle negativo	10,6 ± 0,24 ^{a,b}	131,6 ± 2,6 ^b	23,3 ± 0,98 ^a
Controle	6,5 ± 1,1 ^c	94,1 ± 13,3 ^c	20,2 ± 0,97 ^a
0,41 mmol L⁻¹	8,8 ± 0,03 ^{b,A}	109,0 ± 0,18 ^{c,A}	23,0 ± 2,8 ^{a,A}
1,64 mmol L⁻¹	11,8 ± 0,69 ^{a,A}	153,0 ± 2,1 ^{a,A}	19,2 ± 0,7 ^{a,A}
3,28 mmol L⁻¹	10,9 ± 0,86 ^{a,b,A}	142,4 ± 3,5 ^{a,b,A}	23,8 ± 4,8 ^{a,A}
K ₂ CO ₃	CF (mg mL ⁻¹)	R _{fico} (mg g ⁻¹)	C _{clorofila} (mg g ⁻¹)
*Controle negativo	10,6 ± 0,24 ^{a,b}	131,6 ± 2,6 ^a	23,3 ± 0,98 ^a
*Controle	6,5 ± 1,1 ^c	94,1 ± 13,3 ^b	20,2 ± 0,97 ^a
0,41 mmol L⁻¹	8,2 ± 0,09 ^{b,c,B}	101,5 ± 1,1 ^{b,B}	21,8 ± 0,30 ^{a,A}
1,64 mmol L⁻¹	8,5 ± 0,42 ^{c,B}	105,9 ± 5,4 ^{b,B}	18,9 ± 1,5 ^{a,A}
3,28 mmol L⁻¹	11,2 ± 0,31 ^{a,A}	139,7 ± 3,3 ^{a,A}	20,4 ± 1,9 ^{a,A}

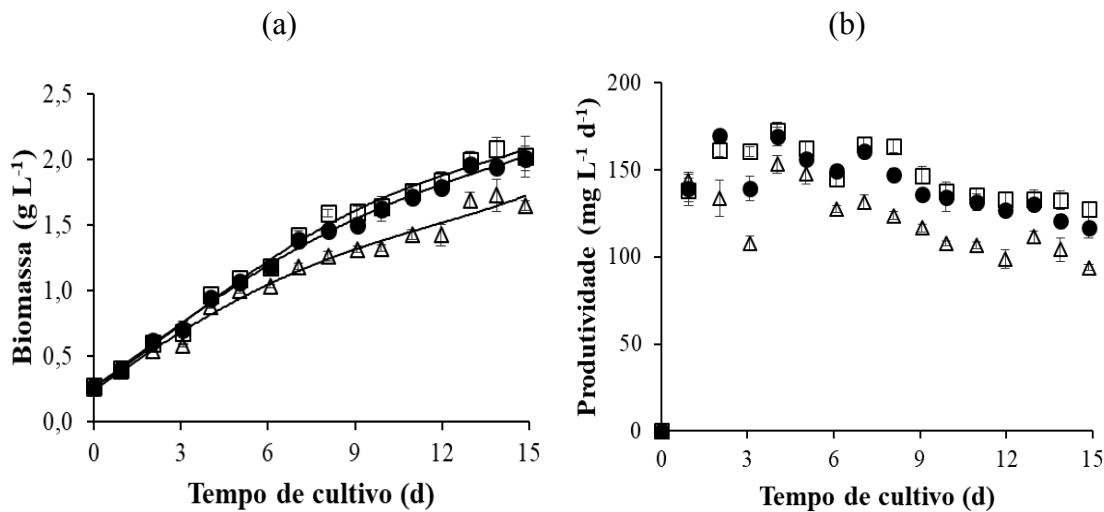
Letras minúsculas iguais sobrescritas na mesma coluna indicam que as médias não foram significativamente diferentes entre as concentrações para o mesmo absorvente; letras maiúsculas iguais sobrescritas na mesma coluna, indicam que as médias não foram significativamente diferentes para a mesma concentração entre os absorventes, ao nível de confiança de 95 % (p<0,05).*Os ensaios controle (meio Zarrouk modificado) e controle negativo (meio Zarrouk) foram realizados apenas uma vez, mas foram repetidos na tabela para melhor comparação.

A concentração máxima de clorofila (C_{clorofila}) tanto para ensaios controle, com DEA ou K₂CO₃, não apresentou diferença significativa, variando entre 19 e 23 mg g⁻¹ (Tabela 6). Deamici, Santos e Costa (2018), observaram resultados similares com *Spirulina* sp. LEB 18 cultivada em tanques *raceway*, com meio Zarrouk. Os autores encontraram C_{clorofila} em torno de 22 mg g⁻¹ em 15 d de cultivo.

3.3 EFEITOS DA MISTURA DOS ABSORVENTES QUÍMICOS NA BIOFIXAÇÃO DE CO₂ PELA MICROALGA *Spirulina* sp. LEB 18 CULTIVADA EM FBRTv

O crescimento da microalga *Spirulina* sp. LEB 18 cultivada com DEA + 0,41K₂CO₃ foi superior ao ensaio com DEA + 3,28 K₂CO₃ (Figura 7a). A produtividade de biomassa nos ensaios DEA + 0,41 K₂CO₃ e controle (sem absorventes) foi maior que no ensaio DEA + 3,28 K₂CO₃ e manteve-se praticamente estável durante o cultivo em todas as condições (Figura 7b).

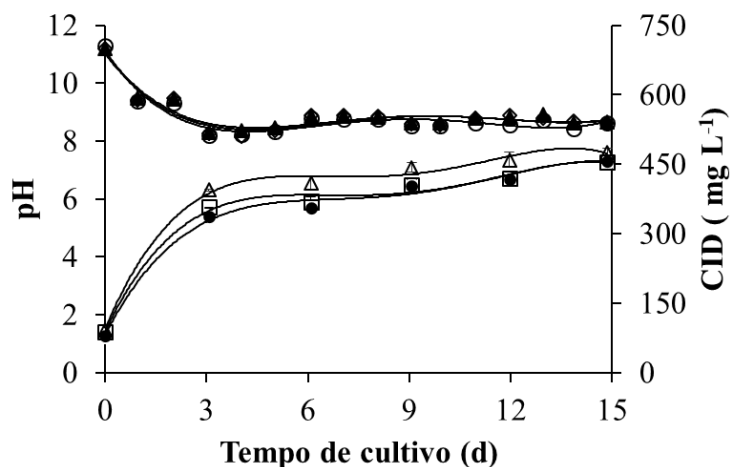
Figura 7- Crescimento celular (a) e produtividade de *Spirulina* sp. LEB 18 (b) nos ensaios: (●) controle; (□) DEA + 0,41 K₂CO₃; (Δ) DEA + 3,28 K₂CO₃.



Controle: sem absorventes químicos; DEA + 0,41 K₂CO₃: 1,64 mmol L⁻¹ DEA + 0,41 mmol L⁻¹ K₂CO₃; DEA + 3,28 K₂CO₃: 1,64 mmol L⁻¹ DEA + 3,28 mmol L⁻¹ K₂CO₃.

A maior concentração de CID no meio foi observada no ensaio DEA + 3,28 K₂CO₃ (Figura 8a). Apesar disso, a eficiência de fixação do CO₂ pela microalga foi menor nessa condição (Tabela 7). O pH do meio de cultivo pode reduzir devido a utilização do CO₂ como fonte de carbono (TANG et al., 2011). Como mostra a Figura 8a, o pH inicial dos ensaios foi em torno de 11 e reduziu, mantendo-se na faixa de 8,5-9,0 durante o cultivo.

Figura 8- Concentração de carbono inorgânico dissolvido (CID) (●: controle; □: DEA + 0,41 K₂CO₃; Δ: DEA + 3,28 K₂CO₃) e pH (◇: controle; ▲: DEA + 0,41 K₂CO₃; ○: DEA + 3,28 K₂CO₃) dos ensaios com *Spirulina* sp. LEB 18.



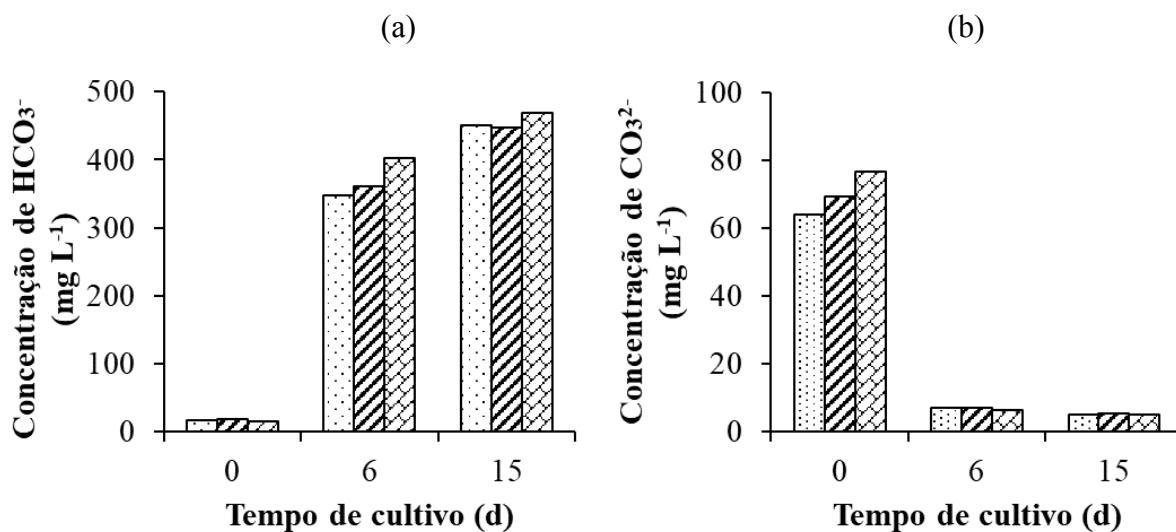
Controle: sem absorventes químicos; DEA + 0,41 K₂CO₃: 1,64 mmol L⁻¹ DEA + 0,41 mmol L⁻¹ K₂CO₃; DEA + 3,28 K₂CO₃: 1,64 mmol L⁻¹ DEA + 3,28 mmol L⁻¹ K₂CO₃.

Segundo Kim et al. (2012), as soluções de K_2CO_3 são conhecidas por absorver CO_2 na forma de bicarbonato, no entanto, a taxa de absorção depende das condições da fase líquida, podendo ser formados precipitados de bicarbonato de potássio. Quando os autores avaliaram a absorção de CO_2 por misturas de K_2CO_3 e diferentes tipos de amina (etilenodiamina, dietilenotriamina, trietilenotetramina e tetraetilenopentamina) verificaram que a capacidade de absorção de CO_2 dos absorventes é alterada, por exemplo, com a variação de temperatura. Acredita-se que a absorção pode variar também com a concentração e o tipo de absorvente presente no meio.

O carbono inorgânico dissolvido (CID) no meio de cultivo é composto de CO_2 , bicarbonato (HCO_3^-) e carbonato (CO_3^{2-}), que são fontes de carbono para a microalga (TANG et al., 2011). Como pode se observar na Figura 9, houve aumento na concentração de HCO_3^- em todos os ensaios e redução do CO_3^{2-} . O ensaio DEA + 3,28 K_2CO_3 apresentou a maior concentração de bicarbonato, correspondendo a maior concentração de CID.

Em solução, o carbonato de potássio reage rapidamente com amina associada a carbamato e água para formar bicarbonato de potássio, que é menos solúvel e precipita. Essa reação serve para separar o CO_2 , dissolvido na solução aquosa, dos absorventes, na forma de bicarbonato precipitado (SOONG et al., 2012). No entanto, com o bicarbonato precipitado, a fonte de carbono no meio de cultivo se torna menos disponível, dificultando o consumo pela microalga.

Figura 9- Concentração das espécies de carbono (a) bicarbonato (HCO_3^-) e (b) carbonato (CO_3^{2-}) dissolvidas no meio (controle (□), DEA + 0,41 K_2CO_3 (▨), DEA + 3,28 K_2CO_3 (▩)).



Controle: sem absorventes químicos; DEA + 0,41 K_2CO_3 : 1,64 $mmol L^{-1}$ DEA + 0,41 $mmol L^{-1}$ K_2CO_3 ; DEA + 3,28 K_2CO_3 : 1,64 $mmol L^{-1}$ DEA + 3,28 $mmol L^{-1}$ K_2CO_3 .

Os parâmetros cinéticos de crescimento do ensaio DEA + 0,41 K₂CO₃ foram maiores que no ensaio DEA + 3,28 K₂CO₃ (Tabela 7). O ensaio DEA + 0,41 K₂CO₃ apresentou concentração celular máxima 2,10 g L⁻¹, sendo a produtividade máxima 174,2 mg L⁻¹ d⁻¹. No entanto, o ensaio DEA + 0,41 K₂CO₃ não apresentou diferença significativa em relação ao controle.

Os resultados de crescimento celular e produtividade dos ensaios com mistura dos absorventes são superiores aos encontrados com adição dos absorventes químicos separadamente. A maior concentração celular foi 2,04 g L⁻¹ com 1,64 mmol L⁻¹ de K₂CO₃, enquanto a maior produtividade foi 160,6 mg L⁻¹ d⁻¹ no cultivo com 1,64 mmol L⁻¹ de DEA. Porém, esse aumento também é verificado no ensaio controle das misturas, onde X_{máx} 2,03 g L⁻¹ e P_{máx} 171,4 mg L⁻¹ d⁻¹.

Tabela 7- Parâmetros cinéticos de crescimento e biofixação de CO₂ da microalga *Spirulina* sp. LEB 18 cultivada com mistura de absorventes químicos.

Parâmetro	Experimento		
	Controle	DEA + 0,41 K ₂ CO ₃	DEA + 3,28 K ₂ CO ₃
X _{máx} (g L ⁻¹)	2,03 ± 0,07 ^a	2,10 ± 0,10 ^a	1,74 ± 0,10 ^b
P _{máx} (g L ⁻¹ d ⁻¹)	171,4 ± 2,8 ^a	174,2 ± 3,2 ^a	153,8 ± 5,4 ^b
μ _{máx} (d ⁻¹)	0,30 ± ≤ 0,01 ^a	0,30 ± 0,02 ^a	0,27 ± ≤ 0,01 ^b
t _g (d)	2,3 ± 0,05 ^b	2,3 ± 0,13 ^b	2,6 ± 0,13 ^a
Δt (d)*	0-4	0-4	0-4
R ² **	0,97 ± ≤ 0,01	0,96 ± 0,02	0,97 ± ≤ 0,01
TB _{máx} (mg L ⁻¹ d ⁻¹)	314,3 ± 5,0 ^a	319,4 ± 5,9 ^a	282,0 ± 9,9 ^b
E _{máx} (% m m ⁻¹)	43,4 ± 0,9 ^a	43,7 ± 0,9 ^a	40,3 ± 1,2 ^b

Letras iguais na mesma linha indicam que não houve diferença estatística entre as médias ao nível de 95 % de confiança (p < 0,05). Controle: sem absorventes químicos; DEA + 0,41 K₂CO₃: 1,64 mmol L⁻¹ DEA + 0,41 mmol L⁻¹ K₂CO₃; DEA + 3,28 K₂CO₃: 1,64 mmol L⁻¹ DEA + 3,28 mmol L⁻¹ K₂CO₃. *Δt: tempo inicial-tempo final da fase exponencial de crescimento; **R²: Coeficiente de determinação da regressão linear aplicada à fase logarítmica de crescimento.

O tempo de geração (t_g) e a velocidade específica máxima de crescimento (μ_{máx}) foram bem semelhantes entre as condições estudadas. Vaz, Costa e Moraes (2016) com a mesma cepa de *Spirulina* cultivada com ar enriquecido de 10 % de CO₂ observaram μ_{máx} quase três vezes menor (0,11 d⁻¹). Essa diferença pode ocorrer pela forma de injeção do CO₂, visto que Rosa et al. (2016), encontraram resultados bem semelhantes de μ_{máx} (0,25 d⁻¹) e t_g (2,8 d) em

cultivo de *Spirulina* sp. LEB 18, com adição de 0,05 vvm de CO₂, nas mesmas condições do presente estudo.

No ensaio DEA + 0,41 K₂CO₃ a TB_{máx} (319,4 mg L⁻¹ d⁻¹) foi 13,3 % superior que no ensaio DEA + 3,28 K₂CO₃ (282 mg L⁻¹ d⁻¹). Os resultados de E_{máx} com absorventes químicos misturados (43,7 % m m⁻¹ em DEA + 0,41 K₂CO₃ e 40,3 % m m⁻¹ em DEA + 3,28 K₂CO₃) são superiores aos ensaios com DEA e K₂CO₃ adicionados separadamente (Tabela 3), onde o ensaio 1,64 mmol L⁻¹ de DEA apresentou o maior valor de E_{máx} (36 % m m⁻¹). Para Rosa et al. (2016) a maior E_{máx} obtida foi 29 % m m⁻¹, no cultivo de *Spirulina* sp. LEB 18 com 0,41 mmol L⁻¹ do absorvente MEA. No entanto, observa-se que o ensaio controle também apresentou elevada TB_{máx} e E_{máx} (314,3 mg L⁻¹ d⁻¹ e 43,4 % m m⁻¹, respectivamente), que pode ter ocorrido por adaptação do inoculo à concentração de CO₂ injetada, que levou a microalga à elevados resultados de biofixação.

A concentração de proteínas (58 % m m⁻¹), carboidratos (20-23 % m m⁻¹) e lipídios (11 % m m⁻¹) não apresentou grande variação entre as condições estudadas (Tabela 8). O conteúdo de carboidratos é superior aos resultados encontrados por Rosa et al. (2016) (9,5 ± 1,1 % m m⁻¹) e Moraes et al. (2016) (10,9 ± 0,5 % m m⁻¹) que cultivaram *Spirulina* sp. LEB 18 nas mesmas condições de cultivo do presente trabalho, sem adição dos absorventes de CO₂. A concentração de proteínas é bem inferior ao obtido pelos mesmos autores (Rosa et al. (2016) 78,4 % m m⁻¹ e Moraes et al. (2016) 72,9 % m m⁻¹). O conteúdo lipídico varia de 8 a 12 % m m⁻¹ entre os autores. Como essas respostas são semelhantes ao controle, acredita-se que seja devido a cepa, e não as condições de cultivo.

A concentração de carboidratos é maior que nos ensaios com absorventes químicos avaliados separadamente, onde o máximo valor obtido foi 18,6 % com 3,28 mmol L⁻¹ de K₂CO₃ (Tabela 4). A concentração de lipídios foi semelhante aos resultados com os absorventes separados, que variou entre 10 e 13 %.

A concentração de ficocianina, bem como o rendimento de ficocianina (Tabela 8) apresentaram resultados inferiores quando comparados aos cultivos com absorventes químicos separados (Tabela 6). Os resultados são similares aos de Moraes, Burkert e Kalil (2010), que encontraram CF de 6,5 mg mL⁻¹ e R_{fico} de 80,5 mg g⁻¹ em *Spirulina platensis* cultivada em meio Zarrouk, mostrando que a adição dos absorventes não alterou a produção desse pigmento. A concentração de clorofila não apresentou diferença entre os ensaios e os valores são bem próximos aos encontrados com os absorventes químicos separados, em média 20 % mg g⁻¹ (Tabela 6).

Tabela 8- Concentração de proteínas, carboidratos, lipídios, cinzas (massa seca), concentração de ficocianina (CF, mg mL⁻¹), rendimento de extração de ficocianina (R_{fico}, mg g⁻¹) e concentração de clorofila (C_{clorofila}, mg g⁻¹) de *Spirulina* sp. LEB 18.

Parâmetro	Experimento		
	Controle	DEA + 0,41 K ₂ CO ₃	DEA + 3,28 K ₂ CO ₃
Proteínas (% m m ⁻¹)	57,7 ± 2,7 ^a	58,8 ± 4,1 ^a	57,9 ± 1,7 ^a
Carboidratos (% m m ⁻¹)	23,4 ± 1,3 ^a	23,7 ± 1,8 ^a	19,9 ± 0,9 ^b
Lipídios (% m m ⁻¹)	11,4 ± 0,2 ^a	10,3 ± 0,2 ^b	10,8 ± 0,4 ^{a,b}
Cinzas (% m m ⁻¹)	6,1 ± 0,2 ^b	6,9 ± 0,2 ^a	6,8 ± 0,2 ^a
CF (mg mL ⁻¹)	5,0 ± 0,04 ^c	6,3 ± 0,20 ^b	7,6 ± 0,03 ^a
R _{fico} (mg g ⁻¹)	62,0 ± 0,40 ^c	77,9 ± 2,40 ^b	94,5 ± 0,03 ^a
C _{clorofila} (mg g ⁻¹)	21,6 ± 0,45 ^a	20,9 ± 0,97 ^a	21,8 ± 0,76 ^a

Letras iguais na mesma linha indicam que não houve diferença significativa entre as médias ao nível de 95 % de confiança (p<0,05). Controle: sem absorventes químicos; DEA + 0,41 K₂CO₃: 1,64 mmol L⁻¹ DEA + 0,41 mmol L⁻¹ K₂CO₃; DEA + 3,28 K₂CO₃: 1,64 mmol L⁻¹ DEA + 3,28 mmol L⁻¹ K₂CO₃.

4 CONCLUSÃO

A adição de absorventes químicos no cultivo de *Spirulina* sp. LEB 18 separadamente ou misturados pode ser utilizada como forma de alterar o crescimento, biofixação de CO₂ e composição da biomassa da microalga. A adição de 1,64 mmol L⁻¹ de dietanolamina aumentou 35 % a produtividade de biomassa e 27,6 % a eficiência de fixação de CO₂, além de aumentar o rendimento da extração de ficocianina em 62,5 % em relação ao cultivo com meio modificado, sem adição de CO₂. A biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 apresentou maior conteúdo lipídico (13,9 % m m⁻¹) com 0,41 mmol L⁻¹ de K₂CO₃ e de carboidratos (18,6 % m m⁻¹) com 3,28 mmol L⁻¹ do mesmo absorvente. A DEA e o K₂CO₃ misturados podem aumentar a disponibilidade de carbono no meio e a biofixação de CO₂. O ensaio DEA + 0,41 K₂CO₃ apresentou melhores resultados de crescimento (2,10 g L⁻¹) e produtividade de biomassa (174,2 mg L⁻¹ d⁻¹) que o ensaio DEA + 3,28 K₂CO₃ (1,74 g L⁻¹ e 153,8 mg L⁻¹ d⁻¹, respectivamente). No entanto, a maior concentração de carbono inorgânico dissolvido foi obtida no ensaio DEA + 3,28 K₂CO₃ (474,5 mg L⁻¹). A concentração de macromoléculas não foi influenciada pela adição das misturas dos absorventes. Dessa forma, a DEA pode ser utilizada como estratégia de cultivo de *Spirulina* sp. LEB 18 a fim de aumentar

a biofixação de CO₂ pela microalga. A concentração de 1,64 mmol L⁻¹ do absorvente seria adequada para essa finalidade. A biomassa produzida pode ser utilizada para a extração de biocompostos (ficocianina) ou aplicada na indústria alimentícia, pelo seu elevado teor proteico.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALAVA, D.; MELLO, P. C.; WAGENER, K. The relevance of the CO₂ partial pressure of sodium bicarbonate solutions for the mass cultivation of the microalga *Spirulina*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 8, p. 447-450, 1997.
- AL-ZUHAIR, S.; ALKETBI, S.; AL-MARZOUQI, M. Regenerating diethanolamine aqueous solution for CO₂ absorption using microalgae. **Industrial Biotechnology**, v. 12, p. 105-108, 2016.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 17th ed. Maryland: Horwitz, 2000.
- APHA. American Public Health Association. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 20th ed. Washington: APHA-AWWAPCF, 1998.
- BAILEY, J. E.; OLLIS, D. F. **Biochemical Engineering Fundamentals**. 2nd ed. p. 397-398. Singapore: McGraw-Hill, 1986.
- 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, p. 93-99, 2012.
- BENAVENTE-VALDÉS, J. R.; AGUILAR, C.; CONTRERAS-ESQUIVEL, J. C.; MÉNDEZ-ZAVALA, A.; MONTAÑEZ, J. Strategies to enhance the production of photosynthetic pigments and lipids in chlorophyceae species. **Biotechnology Reports**, v. 10, p. 117-125, 2016.
- BENNET, A.; BOGORAD, L. Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga. **The Journal of Cell Biology**, v.58, p. 419-435, 1973.
- BRUNE, D. E.; NOVAK, J. T. The use of carbonate equilibrium chemistry in quantifying algal carbon uptake kinetics. **European Journal Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 13, p. 71-76, 1981.
- CHEN, C.-Y.; KAO, P.-C.; TSAI, C.-J.; LEE, D.-J.; CHANG, J.-S. Engineering strategies for simultaneous enhancement of C-phycoyanin production and CO₂ fixation with *Spirulina platensis*. **Bioresource Technology**, v. 145, p. 307-312, 2013.
- CHI, Z.; O'FALLON, J. V.; CHEN, S. Bicarbonate produced from carbon capture for algae culture. **Trends in Biotechnology**, v. 29, p. 537-541, 2011.
- CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. **Biotechnology Advances**, v. 25, p. 294-306, 2007.

- 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.
- COSTA, J. A. V.; COLLA, L. M.; DUARTE FILHO, P.; KABKE, K.; WEBER, A. Modeling of *Spirulina platensis* growth in fresh water using response surface methodology. **World Journal Microbiology Biotechnology**, v.18, p. 603-607, 2002.
- DEAMICI, K. M.; COSTA, J. A. V.; SANTOS, L. O. Magnetic fields as triggers of microalga growth: evaluation of its effect on *Spirulina* sp. **Bioresource Technology**, v. 220, p. 62-67, 2016.
- DEAMICI, K. M.; SANTOS, L. O.; COSTA, J. A. V. Magnetic field action on outdoor and indoor cultures of *Spirulina*: evaluation of growth, medium consumption and protein profile. **Bioresource Technology**, v. 249, p. 168-174, 2018.
- DOUCHA, J.; LIVANSKÝ, 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, p. 811-826, 2006.
- DUARTE, J. H.; 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. **Analytical Chemistry**, v. 28, p. 350-356, 1956.
- FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, G. H. S. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 226, p. 497-509, 1957.
- GHOSH, U. K.; KENTISH, S. E.; STEVENS, G. W. Absorption of carbon dioxide into aqueous potassium carbonate promoted by boric acid. **Energy Procedia**, v. 1, p. 1075-1081, 2009.
- KIM, G.; CHOI, W.; LEE, C.-H.; LEE, K. Enhancement of dissolved inorganic carbon and carbon fixation by green alga *Scenedesmus* sp. in the presence of alkanolamine CO₂ absorbents. **Biochemical Engineering Journal**, v. 78, p. 18-23, 2013.
- KIM, Y. E.; CHOI, J. H.; NAM, S. C.; YOON, Y. W. Carbon dioxide absorption into aqueous blends of potassium carbonate and amine. **Asian Journal of Chemistry**, v. 24, p. 3386-3390, 2012.
- KUMAR, K.; DASGUPTA, C. N.; NAYAK, B.; LINDBLAD, P.; DAS, D. Development of suitable photobioreactors for CO₂ sequestration addressing global warming using green algae and cyanobacteria. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 2945-4953, 2011.

- LAM, M. K.; LEE, K. T.; MOHAMED, A. R. Current status and challenges on microalgae-based carbon capture. **International Journal of Greenhouse Gas Control**, v. 10, p. 456-469, 2012.
- LAVÍN, P. L.; LOURENÇO, S. O. An evaluation of the accumulation of intracellular inorganic nitrogen pools by marine microalgae in cultures. **Brazilian Journal of Oceanography**, v. 53, p. 55-68, 2005.
- LICHTENTHALER, H. K. **Plant Cell Membranes**. Elsevier, v. 148, 1987.
- LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 193, p. 265-275, 1951.
- LUIS, P. Use of monoethanolamine (MEA) for CO₂ capture in a global scenario: Consequences and alternatives. **Desalination**, v. 380, p. 93-99, 2016.
- MELDON, J. H.; MORALES-CABRERA, M. A. Analysis of carbon dioxide absorption in and stripping from aqueous monoethanolamine. **The Chemical Engineering Journal**, v. 171, p. 753-759, 2011.
- MORAES, C. C.; BURKERT, J. F. M.; KALIL, S. J. C-phycoerythrin extraction process for large-scale use. **Journal of Food Biochemistry**, v. 34, p. 133-148, 2010.
- MORAES, L.; ROSA, G. M.; CARDIAS, B. B.; SANTOS, L. O.; COSTA, J. A. V. Microalgal biotechnology for greenhouse gas control: Carbon dioxide fixation by *Spirulina* sp. at different diffusers. **Ecological Engineering**, v. 91, p. 426-431, 2016.
- 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, p. 1349-1352, 2007.
- MORAIS, M. G.; REICHERT, C. C.; DALCANTON, F.; DURANTE, A. J.; MARINS, L. F.; COSTA, J. A. V. Isolation and characterization of a new *Arthrospira* strain. **Verlag der Zeitschrift für Naturforschung**, v. 63, p. 144-150, 2008.
- OGBONDA, K. H.; AMINIGO, R. E.; ABU, G. O. Influence of temperature and pH on biomass production and protein biosynthesis in a putative *Spirulina* sp. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 2207-2211, 2007.
- RINKER, E. B.; ASHOUR, S. S.; SANDALL, O. C. Absorption of carbon dioxide into aqueous blends of diethanolamine and methyldiethanolamine. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 39, p. 4346-4356, 2000.
- ROSA, A. P. C.; CARVALHO, L. F.; GOLDBECK, L.; COSTA, J. A. V. Carbon dioxide fixation by microalgae cultivated in open bioreactors. **Energy Conversion and Management**, v. 52, p. 3071-3073, 2011.

ROSA, G. M. **Fixação química e biológica de CO₂ utilizadas no cultivo de *Spirulina***. 2014. 91 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos)- Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2014.

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.

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

SADEGHIZADEH, A.; FARHAD DAD, F.; MOGHADDASI, L.; RAHIMI, R. CO₂ capture from air by *Chlorella vulgaris* microalgae in an airlift photobioreactor. **Bioresource Technology**, v. 243, p. 441-447, 2017.

SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Biotechnologia industrial, Engenharia Bioquímica**. São Paulo: Editora Edgard Blücher LTDA, v. 2, 2001.

SHI, W.-Q.; LI, S.-D.; LI, G.-R.; WANG, W.-H.; CHEN, Q.-X.; LI, Y.-Q.; LING, X.-W. Investigation of main factors affecting the growth rate of *Spirulina*. **Optik-International Journal of Light and Electron Optics**, v. 127, p. 6688-6694, 2016.

SILVEIRA, S. T.; BURKERT, J. F. M.; COSTA, J. A. V.; KALIL, S. J. Optimization of phycocyanin extraction from *Spirulina platensis* using factorial design. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 1629-34, 2007.

SMITH, K.; XIAO, G.; MUMFORD, K.; GOUW, J.; INDRAWAN, I.; THANUMURTHY, N.; QUYN, D.; CUTHBERTSON, R.; RAYER, A.; NICHOLAS, N.; LEE, A.; SILVA, G.; KENTISH, S.; HARKIN, T.; QADER, A.; ANDERSON, C.; HOOPER, B.; STEVENS, G. Demonstration of a concentrated potassium carbonate process for CO₂ capture. **Energy Fuels**, v. 28, p. 299-306, 2014.

SONI, R. A.; SUDHAKAR, K.; RANA, R. S. *Spirulina* – From growth to nutritional product: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 69, p. 157-171, 2017.

SOONG, Y.; DILMORE, R.; HEDGES, S.; ALLEN, D. E. CO₂ capture via potassium carbonate/MEA solution. In: AICHE SPRING MEETING AND GLOBAL CONGRESS ON PROCESS SAFETY, 12, 2012, Houston-USA. **Anais AIChE Spring Meeting And Global Congress On Process Safety**. Houston-USA: 2012.

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, p. 3071-3076, 2012.

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

VAZ, B. S.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. 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, p. 418-429, 2016.

XIAO, S.; LIU, H.; GAO, H.; XIAO, M.; LUO, X.; IDEM, R.; TONTIWACHWUTHIKUL, P.; LIANG, Z. Kinetics and mechanism study of homogeneous reaction of CO₂ and blends of diethanolamine and monoethanolamine using the stopped-flow technique. **Chemical Engineering Journal**, v. 316, p. 592-600, 2017.

YEN, H.-W.; HU, I.-C.; CHEN, C.-Y.; HO, S.-H.; LEE, D.-J.; CHANG, J.-S. Microalgae-based biorefinery – From biofuels to natural products. **Bioresource Technology**, v. 135, p. 166-174, 2013.

ZARROUK, C. **Contribution à l'étude d'une cyanophycée. Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et photosynthèse de *Spirulina maxima* Geitler.** Ph.D. Thesis, University of Paris, 1966.

ZENG, X.; DANQUAH, M. K.; ZHANG, S.; ZHANG, X.; WU, M.; CHEN, X. D.; NG, I.-S.; JING, K.; LU, Y. Autotrophic cultivation of *Spirulina platensis* for CO₂ fixation and phycoerythrin production. **Chemical Engineering Journal**, v. 183, p. 192-197, 2012.

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

CAPÍTULO IV

CONCLUSÃO GERAL

A fixação biológica de CO₂ por microalgas associada à fixação química pode ser uma alternativa para reduzir as concentrações atmosféricas desse gás de efeito estufa. Além disso, a biomassa produzida pode ser aplicada, por exemplo, na produção de biocombustíveis, alimentos ou na indústria farmacêutica.

As concentrações dos absorventes químicos dietanolamina (DEA) e carbonato de potássio (K₂CO₃) selecionadas foram 0,41, 1,64 e 3,28 mmol L⁻¹, pois apresentaram os melhores resultados de crescimento da microalga *Spirulina* sp. LEB 18. A adição de 1,64 mmol L⁻¹ de DEA no cultivo de *Spirulina* sp. LEB 18 pode ser realizada com objetivo de aumentar a biofixação de CO₂ pela microalga, pois a produtividade de biomassa aumentou 35 % e a eficiência de fixação de CO₂ 27,6 %. Nessa mesma condição observou-se maior rendimento da extração de ficocianina (62,5 % maior que no cultivo sem absorvente químico), possibilitando que a biomassa seja aplicada na extração de pigmentos, por exemplo, para indústria alimentícia.

O cultivo de *Spirulina* sp. LEB 18 com 0,41 mmol L⁻¹ de K₂CO₃ apresentou maior conteúdo lipídico (13,9 %), podendo utilizar a biomassa na produção de biocombustíveis como biodiesel. Com adição de 3,28 mmol L⁻¹ de K₂CO₃ houve incremento de carboidratos (18,6 %), o que resulta no possível uso dessa biomassa para produção de bioetanol.

Entre os ensaios com adição da mistura dos absorventes químicos, DEA + 0,41 K₂CO₃ apresentou melhores resultados de crescimento e produtividade de biomassa e maior conteúdo de carboidratos (24 %). A mistura dos absorventes apresentou maiores resultados de crescimento e biofixação que com adição deles separadamente.

Os absorventes químicos podem ser adicionados separadamente ou combinados, em diferentes concentrações no cultivo de microalgas. Podem ser testadas outras concentrações desses absorventes, ou de outros tipos de absorventes químicos, a fim de alterar parâmetros de crescimento, produção e composição da biomassa, além da biofixação de CO₂.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- ❖ Adicionar o absorvente químico quando a concentração de biomassa duplicar;
- ❖ Testar outros tipos de absorventes químicos;
- ❖ Testar outras concentrações de absorventes químicos;
- ❖ Realizar outras associações de absorventes químicos de CO₂, variando o tipo e concentrações dos mesmos;
- ❖ Cultivar outras microalgas com esses absorventes;
- ❖ Testar se os absorventes são consumidos pela microalga.

CAPÍTULO V

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMCZYK, M.; LASEK, J.; SKAWINSKA, A. CO₂ Biofixation and growth kinetics of *Chlorella vulgaris* and *Nannochloropsis gaditana*. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 179, p. 1248-1261, 2016.
- AINAS, M.; HASNAOUI, S.; BOUARAB, R.; ABDI, N.; DROUCHE, N.; MAMERI, N. Hydrogen production with the cyanobacterium *Spirulina platensis*. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 42, p. 4902-4907, 2017.
- ALAVA, D.; MELLO, P. C.; WAGENER, K. The relevance of the CO₂ partial pressure of sodium bicarbonate solutions for the mass cultivation of the microalga *Spirulina*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 8, p. 447-450, 1997.
- ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. **Molecular Biology of the Cell**. 5th ed. USA: Taylor and Francis, 2008.
- AL-ZUHAIR, S.; ALKETBI, S.; AL-MARZOUQI, M. Regenerating diethanolamine aqueous solution for CO₂ absorption using microalgae. **Industrial Biotechnology**, v. 12, p. 105-108, 2016.
- 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.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 17th ed. Maryland: Horwitz, 2000.
- APHA. American Public Health Association. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 20th ed. Washington: APHA-AWWAWPCF, 1998.
- ARIAS, A. M.; MRES, P. L.; SCENNA, N. J. MUSSATI, S. F. Optimal design and sensitivity analysis of post-combustion CO₂ capture process by chemical absorption with amines. **Journal of Cleaner Production**, v. 115, p. 315-331, 2016.
- BADGER, M. R.; PRICE, G. D. CO₂ concentrating mechanisms in cyanobacteria: molecular components, their diversity and evolution. **Journal of Experimental Botany**, v. 54, p. 609-622, 2003.
- BAILEY, J. E.; OLLIS, D. F. **Biochemical Engineering Fundamentals**. 2nd ed. p. 397-398. Singapore: McGraw-Hill, 1986.
- 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, p. 93-99, 2012.
- BECKER, W. **Microalgae Biotechnology and Microbiology**. Cambridge University Press, 1994.

BENAVENTE-VALDÉS, J. R.; AGUILAR, C.; CONTRERAS-ESQUIVEL, J. C.; MÉNDEZ-ZAVALA, A.; MONTAÑEZ, J. Strategies to enhance the production of photosynthetic pigments and lipids in chlorophyceae species. **Biotechnology Reports**, v. 10, p. 117-125, 2016.

BENNET, A.; BOGORAD, L. Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga. **The Journal of Cell Biology**, v.58, p. 419-435, 1973.

BHAT, V. B.; MADYASTHA, K. M. C-Phycocyanin: A potent peroxy radical scavenger *in Vivo* and *in Vitro*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 275, p. 20-25, 2000.

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

BORGES, J. A.; ROSA, G. M.; MEZA, L. H. R.; HENRARD, A. A. SOUZA, M. R. A. Z.; COSTA, J. A. V. *Spirulina* sp. LEB 18 culture using effluent from the anaerobic digestion. **Brazilian Journal Chemical Engineering**, v. 30, p. 277-287, 2013.

BORHANI, T. N. G.; AZARPOUR, A.; AKBARI, V.; ALWI, S. R. W.; MANAN, Z. A. CO₂ capture with potassium carbonate solutions: A state-of-the-art review. **International Journal of Greenhouse Gas Control**, v. 41, p. 142-162, 2015.

BOUSSIBA, S.; RICHMOND, A. E. C-phycocyanin as a storage protein in the blue-green alga *Spirulina platensis*. **Archives of Microbiology**, v. 125, p. 143-147, 1980.

BRENNAN, L.; OWENDE, P. Biofuels from microalgae-A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, p. 557-577, 2010.

BROWN, M. R.; JEFFREY, S. W.; VOLKMAN, J. K.; DUNSTAN, G. A. Nutritional properties of microalgae for mariculture. **Aquaculture**, v. 151, p. 315-331, 1997.

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

CAMPBELL, M. K.; FARRELL, S. O. **Bioquímica**. Tradução da 5th ed. Thomson Learning Edições Ltda, v. 3, p. 717-741, 2006.

CHEN, C.-Y.; KAO, P.-C.; TSAI, C.-J.; LEE, D.-J.; CHANG, J.-S. Engineering strategies for simultaneous enhancement of C-phycocyanin production and CO₂ fixation with *Spirulina platensis*. **Bioresource Technology**, v. 145, p. 307-312, 2013.

CHEN, G.; ZHAO, L.; QI, Y. Enhancing the productivity of microalgae cultivated in wastewater toward biofuel production: A critical review. **Applied Energy**, v. 137, p. 282-291, 2015.

CHEN, H.-B.; WU, J.-Y.; WANG, C.-F.; FU, C.-C.; SHIEH, C.-J.; CHEN, C.-I.; WANG, C.-Y.; LIU, Y.-C. Modeling on chlorophyll *a* and phycocyanin production by *Spirulina platensis* under various light-emitting diodes. **Biochemical Engineering Journal**, v. 53, p. 52–56, 2010.

CHI, Z.; O'FALLON, J. V.; CHEN, S. Bicarbonate produced from carbon capture for algae culture. **Trends in Biotechnology**, v. 29, p. 537-541, 2011.

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

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.

COSTA, J. A. V.; COLLA, L. M.; DUARTE FILHO, P.; KABKE, K.; WEBER, A. Modeling of *Spirulina platensis* growth in fresh water using response surface methodology. **World Journal Microbiology Biotechnology**, v.18, p. 603-607, 2002.

DANCKWERTS, P. V.; MCNEIL, K. M. The absorption of carbon dioxide into aqueous amine solution and the effects of catalysis. **Transactions of the Institution of Chemical Engineers**, v. 45, p. 32-49, 1967. In: BOSCH, H.; VERSTEEG, G. F.; VAN SWAAIJ, W.P. M. Gas-liquid mass transfer with parallel reversible reactions-II. Absorption of CO₂ into amine-promoted carbonate solutions. **Chemical Engineering Science**, v. 44, p. 2735-2743, 1989.

DEAMICI, K. M.; CARDIAS, B. B.; COSTA, J. A. V.; SANTOS, L. O. Static magnetic fields in culture of *Chlorella fusca*: Bioeffects on growth and biomass composition. **Process Biochemistry**, v. 51, p. 912-916, 2016.

DEAMICI, K. M.; COSTA, J. A. V.; SANTOS, L. O. Magnetic fields as triggers of microalga growth: evaluation of its effect on *Spirulina* sp. **Bioresource Technology**, v. 220, p. 62-67, 2016.

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

DEVRIES, N. P. **CO₂ absorption into concentrated carbonate solutions with promoters at elevated temperatures.** Thesis (Master of Science in Agricultural and Biological Engineering), University of Illinois at Urbana-Champaign, Illinois, 2014.

DOUCHA, J.; LIVANSKÝ, 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, p. 811-826, 2006.

DUARTE, J. H.; COSTA, J. A. V. Blue light emitting diodes (LEDs) as an energy source in *Chlorella fusca* and *Synechococcus nidulans* cultures. **Bioresource Technology**, v. 247, p. 1242-1245, 2018.

- 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.; 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. **Inventory of U.S. greenhouse gas emissions and sinks: 1990-2015**. 2017.
- FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, G. H. S. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 226, p. 497-509, 1957.
- GHOSH, U. K.; KENTISH, S. E.; STEVENS, G. W. Absorption of carbon dioxide into aqueous potassium carbonate promoted by boric acid. **Energy Procedia**, v. 1, p. 1075-1081, 2009.
- GOEPPERT, A.; CZAUN, M.; PRAKASH, G. K. S.; OLAH, G. A. Air as the renewable carbon source of the future: an overview of CO₂ capture from the atmosphere. **Energy Environmental Science**, v. 5, p. 7833-7853, 2012.
- GUPTA, V.; RATHA, S. K.; SOOD, A.; CHAUDHARY, V.; PRASANNA, R. New insights into the biodiversity and applications of cyanobacteria (blue-green algae)-Prospects and challenges. **Algal Research**, v. 2, p. 79-97, 2013.
- HEMLATA; F. T. Screening of cyanobacteria for phycobiliproteins and effect of different environmental stress on its yield. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 83, p. 509-515, 2009.
- HENRIKSON, R. **Earth food Spirulina**. Laguna Beach, CA: Ronore Enterprises, 1989.
- HO, S.-H.; CHEN, C.-Y.; LEE, D. J.; CHANG, J. S. Perspectives on microalgal CO₂-emission mitigation systems - A review. **Biotechnology Advances**, v. 29, p. 189-198, 2011.
- HO, S.-H.; KONDO, A.; HASUNUMA, T.; CHANG, J.-S. Engineering strategies for improving the CO₂ fixation and carbohydrate productivity of *Scenedesmus obliquus* CNW-N used for bioethanol fermentation. **Bioresource Technology**, v. 143, p. 163-171, 2013.
- HUANG, Y.; ZHAO, S.; DING, Y.-D.; LIAO, Q.; HUANG, Y.; ZHU, X. Optimizing the gas distributor based on CO₂ bubble dynamic behaviors to improve microalgal biomass production in an air-lift photo-bioreactor. **Bioresource Technology**, v. 233, p. 84-91, 2017.
- 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. **Carbon Capture and Storage: The solution for deep emissions reductions**. 2015.

IEA. International Energy Agency. **CO₂ emissions from fuel combustion: Overview**. 2017.

IEA. International Energy Agency. **Key CO₂ Emissions Trends**. 2016.

ISLAM, M. S.; DHANAVATH, K. N.; KAO, N.; BHATTACHARJEE, P. K.; ALI, B. S.; YUSOFF, R. Carbon dioxide induced degradation of diethanolamine during absorption and desorption processes. **Chinese Journal of Chemical Engineering**, 2017, doi: 10.1016/j.cjche.2017.06.003.

JIANG, X.; GUAN, D. Determinants of global CO₂ emissions growth. **Applied Energy**, v. 184, p. 1132-1141, 2016.

JIN, H.; LIN, G.; HAN, W.; HONG, H. Prospect options of CO₂ capture technology suitable for China. **Energy**, v. 35, p. 2299-4506, 2010.

KASSIM, M. A.; MENG, T. K. Carbon dioxide (CO₂) biofixation by microalgae and its potential for biorefinery and biofuel production. **Science of the Total Environment**, v. 584-585, p. 1121-1129, 2017.

KIERZKOWSKA-PAWLAK, H.; CHACUK, A. Carbon dioxide removal from flue gases by absorption/desorption in aqueous diethanolamine solutions. **Journal of the Air & Waste Management Association**, v. 60, p. 925-931, 2010.

KIM, G.; CHOI, W.; LEE, C-H.; LEE, H. Enhancement of dissolved inorganic carbon and carbon fixation by green alga *Scenedesmus* sp. in the presence of alkanolamine CO₂ absorbents. **Biochemical Engineering Journal**, v. 78, p. 18-23, 2013.

KIM, Y. E.; CHOI, J. H.; NAM, S. C.; YOON, Y. W. Carbon dioxide absorption into aqueous blends of potassium carbonate and amine. **Asian Journal of Chemistry**, v. 24, p. 3386-3390, 2012.

KUMAR, K.; DASGUPTA, C. N.; NAYAK, B.; LINDBLAD, P.; DAS, D. Development of suitable photobioreactors for CO₂ sequestration addressing global warming using green algae and cyanobacteria. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 2945-4953, 2011.

LAM, M. K.; LEE, K. T.; MOHAMED, A. R. Current status and challenges on microalgae-based carbon capture. **International Journal of Greenhouse Gas Control**, v. 10, p. 456-469, 2012.

LAVÍN, P. L.; LOURENÇO, S. O. An evaluation of the accumulation of intracellular inorganic nitrogen pools by marine microalgae in cultures. **Brazilian Journal of Oceanography**, v. 53, p. 55-68, 2005.

LEE, A. S.; ESLICK, J. C.; MILLER, D. C.; KITCHIN, J. R. Comparisons of amine solvents for post-combustion CO₂ capture: a multi-objective analysis approach. **International Journal of Greenhouse Gas Control**, v. 18, p. 68-74, 2013.

LICHTENTHALER, H. K. **Plant Cell Membranes**. Elsevier, v. 148, 1987.

LOURENÇO, S. O. **Cultivo de Microalgas Marinhas - Princípios e Aplicações**. São Carlos: RiMa, 2006.

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

LUIS, P. Use of monoethanolamine (MEA) for CO₂ capture in a global scenario: Consequences and alternatives. **Desalination**, v. 380, p. 93-99, 2016.

MACINTYRE, H. L.; KANA, T. M.; ANNING, T.; GEIDER, R. J. Photoacclimation of photosynthesis irradiance response curves and photosynthetic pigments in microalgae and cyanobacteria. **Journal of Phycology**, v. 38, p. 17-38, 2002.

MANJUNATH, R.; GEETA, G. S. Optimization of carbon and magnesium source and their effect on growth and cell constituents of strains of *Spirulina platensis*. **Karnataka Journal of Agricultural Sciences**, v. 18, p. 1007-1012, 2005.

MARGARITES, A. C. F.; COSTA, J. A. V. Increment of carbohydrate concentration of *Chlorella minutissima* microalgae for bioethanol production. **International Journal of Engineering Research and Applications**, v. 4, p. 80-86, 2014.

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

MELDON, J. H.; MORALES-CABRERA, M. A. Analysis of carbon dioxide absorption in and stripping from aqueous monoethanolamine. **The Chemical Engineering Journal**, v. 171, p. 753-759, 2011.

MELIS, A. Photosystem-II damage and repair cycle in chloroplasts: what modulates the rate of photodamage in vivo? **Trends in Plant Science**, v. 4, p. 130-135, 1999.

MIYACHI, S.; IWASAKI, I.; SHIRAIWA, Y. Historical perspective on microalgal and cyanobacterial acclimation to low- and extremely high-CO₂ conditions. **Photosynthesis Research**, v. 77, p. 139-153, 2003.

MORAES, C. C.; BURKERT, J. F. M.; KALIL, S. J. C-phycoerythrin extraction process for large-scale use. **Journal of Food Biochemistry**, v. 34, p. 133-148, 2010.

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

- MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Biofixation of carbon dioxide by *Spirulina* sp. and *Scenedesmus obliquus* cultivated in a three-stage serial tubular photobioreactor. **Journal of Biotechnology**, v. 129, p. 439-445, 2007a.
- 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, p. 1349-1352, 2007b.
- MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Isolation and selection of microalgae from coal fired thermoelectric power plant for biofixation of carbon dioxide. **Energy Conversion and Management**, v. 48, p. 2169-2173, 2007c.
- MORAIS, M. G.; REICHERT, C. C.; DALCANTON, F.; DURANTE, A. J.; MARINS, L. F.; COSTA, J. A. V. Isolation and characterization of a new *Arthrospira* strain. **Verlag der Zeitschrift für Naturforschung**, v. 63, p. 144-150, 2008.
- OGBONDA, K. H.; AMINIGO, R. E.; ABU, G. O. Influence of temperature and pH on biomass production and protein biosynthesis in a putative *Spirulina* sp. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 2207-2211, 2007.
- ONO, E.; CUELLO, J. L. Design parameters of solar concentrating systems for CO₂-mitigating algal photobioreactors. **Energy**, v. 29, p. 1651-1657, 2004.
- ORES, J. C.; AMARANTE, M. C. A.; KALIL, S. J. Co-production of carbonic anhydrase and phycobiliproteins by *Spirulina* sp. and *Synechococcus nidulans*. **Bioresource Technology**, v. 219, p. 219-227, 2016.
- PAPADAKI, S.; KYRIAKOPOULOUA, K.; TZOVENISB, I.; KROKIDAA, M. Environmental impact of phycocyanin recovery from *Spirulina platensis* cyanobacterium. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 44, p. 217-223, 2017.
- PENG, L.; LAN, C. Q.; ZHANG, Z.; SARCH, C.; LAPORTE, M. Control of protozoa contamination and lipid accumulation in *Neochloris oleoabundans* culture: Effects of pH and dissolved inorganic carbon. **Bioresource Technology**, v. 197, p. 143-151, 2015.
- PHONGAMWONG, T.; CHAREONPANICH, M.; LIMTRAKUL, J. Role of chlorophyll in *Spirulina* on photocatalytic activity of CO₂ reduction under visible light over modified N-doped TiO₂ photocatalysts. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 168-169, p. 114-124, 2015.
- PILON, L.; BERBEROGLU, H.; KANDILIAN, R. Radiation transfer in photobiological carbon dioxide fixation and fuel production by microalgae. **Journal of Quantitative Spectroscopy & Radiative Transfer**, v. 112, p. 2639-2660, 2011.
- RADMANN, E. M.; REINEHR, C. O.; COSTA, J. A. V. Optimization of the repeated batch cultivation of microalga *Spirulina platensis* in open raceway ponds. **Aquaculture**, v. 265, p. 118-126, 2007.

REIS, A.; MENDES, A.; LOBO-FERNANDES, H.; EMPIS, J. A.; NOVAIS, J. M. Production, extraction and purification of phycobiliproteins from *Nostoc* sp. **Bioresource Technology**, v. 66, p. 181-187, 1998.

RICHMOND, A. **Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology**, Blackwell Science, 566 p., 2004.

RINKER, E. B.; ASHOUR, S. S.; SANDALL, O. C. Absorption of carbon dioxide into aqueous blends of diethanolamine and methyl-diethanolamine. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 39, p. 4346-4356, 2000.

ROSA, A. P. C.; CARVALHO, L. F.; GOLDBECK, L.; COSTA, J. A. V. Carbon dioxide fixation by microalgae cultivated in open bioreactors. **Energy Conversion and Management**, v. 52, p. 3071-3073, 2011.

ROSA, G. M. **Fixação química e biológica de CO₂ utilizadas no cultivo de *Spirulina***. 2014. 91 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos)- Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2014.

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.

ROYAL SOCIETY OF CHEMISTRY. 2014. Disponível em: <http://www.chemspider.com>. Acesso em 15 de set. 2016, 15:20:30.

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

SADEGHIZADEH, A.; FARHAD DAD, F.; MOGHADDASI, L.; RAHIMI, R. CO₂ capture from air by *Chlorella vulgaris* microalgae in an airlift photobioreactor. **Bioresource Technology**, v. 243, p. 441-447, 2017.

SANTOS, T. D.; FREITAS, B. C. B.; MOREIRA, J. B.; ZANFONATO, K.; COSTA, J. A. V. Development of powdered food with the addition of *Spirulina* for food supplementation of the elderly population. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 37, p. 216-220, 2016.

SARTORI, G.; SAVAGE, D. Sterically hindered amines for carbon dioxide removal from gases. **Industrial & Engineering Chemistry Fundamentals**, v. 22, p. 239-249, 1983.

SCHMATZ, D. A.; UEBEL, L. S.; KUNTZLER, S. G.; DORA, C. L.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. Scaffolds containing *Spirulina* sp. LEB 18 biomass: Development,

characterization and evaluation of *in vitro* biodegradation. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 15, p. 1-10, 2016.

SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Biotecnologia industrial: Engenharia Bioquímica**. São Paulo: Editora Edgard Blücher LTDA, v. 2, 2001.

SHI, W.-Q.; LI, S.-D.; LI, G.-R.; WANG, W.-H.; CHEN, Q.-X.; LI, Y.-Q.; LING, X.-W. Investigation of main factors affecting the growth rate of *Spirulina*. **Optik-International Journal of Light and Electron Optics**, v. 127, p. 6688-6694, 2016.

SHOKRKAR, H.; EBRAHIMI, S.; ZAMANI, M. Bioethanol production from acidic and enzymatic hydrolysates of mixed microalgae culture. **Fuel**, v. 200, p. 380-386, 2017.

SILVA, C. E. F.; BERTUCCO, A. Bioethanol from microalgae and cyanobacteria: A review and technological outlook. **Process Biochemistry**, v. 51, p. 1833-1842, 2016.

SILVEIRA, S. T.; BURKERT, J. F. M.; COSTA, J. A. V.; KALIL, S. J. Optimization of phycocyanin extraction from *Spirulina platensis* using factorial design. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 1629-34, 2007.

SMALL, D. P.; HÜNER, N. P. A.; WAN, W. Effect of static magnetic fields on the growth, photosynthesis and ultrastructure of *Chlorella kessleri* microalgae. **Bioelectromagnetics**, v. 33, p. 298-308, 2012.

SMITH, K.; XIAO, G.; MUMFORD, K.; GOUW, J.; INDRAWAN, I.; THANUMURTHY, N.; QUYN, D.; CUTHBERTSON, R.; RAYER, A.; NICHOLAS, N.; LEE, A.; SILVA, G.; KENTISH, S.; HARKIN, T.; QADER, A.; ANDERSON, C.; HOOPER, B.; STEVENS, G. Demonstration of a concentrated potassium carbonate process for CO₂ capture. **Energy Fuels**, v. 28, p. 299-306, 2014.

SONI, R. A.; SUDHAKAR, K.; RANA, R. S. *Spirulina* - From growth to nutrition product: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 69, p. 157-171, 2017.

SOONG, Y.; DILMORE, R.; HEDGES, S.; ALLEN, D. E. CO₂ capture via potassium carbonate/MEA solution. In: AICHE SPRING MEETING AND GLOBAL CONGRESS ON PROCESS SAFETY, 12, 2012, Houston-USA. **Anais AIChE Spring Meeting And Global Congress On Process Safety**. Houston-USA: 2012.

SPOLAORE, P.; JOANNIS-CASSAN, C.; DURAN, E.; ISAMBERT, A. Commercial applications of microalgae. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 101, p. 87-96, 2006.

SU, Y.; SONG, K.; ZHANG, P.; SU, Y.; CHENG, J.; CHEN, X. Progress of microalgae biofuel's commercialization. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 74, p. 402-411, 2017.

SUALI, E.; SARBATLY, R. Conversion of microalgae to biofuel. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, p. 4316-4342, 2012.

- SUMPRASIT, N.; WAGLE, N.; GLANPRACHA, N.; ANNACHHATRE, A. P. Biodiesel and biogas recovery from *Spirulina platensis*. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 119, p. 196-204, 2017.
- SUN, X.; CAO, Y.; XU, H.; LIU, Y.; SUN, J.; QIAO, D.; CAO, Y. Effect of nitrogen-starvation, light intensity and iron on triacylglyceride/carbohydrate production and fatty acid profile of *Neochloris oleoabundans* HK-129 by a two-stage process. **Bioresource Technology**, v. 155, p. 204-212, 2014a.
- SUN, Z.; ZHANG, D.; YAN, C.; CONGA, W.; LUC, Y. Promotion of microalgal biomass production and efficient use of CO₂ from flue gas by monoethanolamine. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 90, p. 730–738, 2014b.
- 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, p. 3071-3076, 2012.
- TEIMOURI, M.; AMIRKOLAIE, A. K.; YEGANEH, S. The effects of *Spirulina platensis* meal as a feed supplement on growth performance and pigmentation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 396-399, p. 14-19, 2013.
- 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.
- UEDA, R.; HIRAYAMA, S.; SUGATA, K.; NAKAYAMA, H. **Process for the production of ethanol from microalgae**. US Patent 5.578.472, 26 nov 1996.
- 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, p. 418-429, 2016.
- VONSHAK, A. ***Spirulina platensis* (Arthospira): Physiology, cell biology and biotechnology**. London: Taylor & Francis, 1997.
- WANG, M.; LAWAL, A.; STEPHENSON, P.; SIDDEERS, J.; RAMSHAW, C. Post-combustion CO₂ capture with chemical absorption: A state-of-the-art review. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 8, p. 1609-1624, 2011.
- WU, X.; YU, Y.; QIN, Z.; ZHANG, Z. The advances of post-combustion CO₂ capture with chemical solvents: review and guidelines. **Energy Procedia**, v. 63, p. 1339-1346, 2014.
- XIAO, S.; LIU, H.; GAO, H.; XIAO, M.; LUO, X.; IDEM, R.; TONTIWACHWUTHIKUL, P.; LIANG, Z. Kinetics and mechanism study of homogeneous reaction of CO₂ and blends of diethanolamine and monoethanolamine using the stopped-flow technique. **Chemical Engineering Journal**, v. 316, p. 592-600, 2017.

YEN, H.-W.; HU, I.-C.; CHEN, C.-Y.; HO, S.-H.; LEE, D.-J.; CHANG, J.-S. Microalgae-based biorefinery – From biofuels to natural products. **Bioresource Technology**, v. 135, p. 166-174, 2013.

ZARROUK, C. **Contribution à l'étude d'une cyanophycée. Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et photosynthèse de *Spirulina maxima* Geitler.** Ph.D. Thesis, University of Paris, 1966.

ZENG, X.; DANQUAH, M. K.; ZHANG, S.; ZHANG, X.; WU, M.; CHEN, X. D.; NG, I.-S.; JING, K.; LU, Y. Autotrophic cultivation of *Spirulina platensis* for CO₂ fixation and phycoerythrin production. **Chemical Engineering Journal**, v. 183, p. 192-197, 2012.

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

ZHAO, B.; TAO, W.; ZHONG, M.; SU, Y.; CUI, G. Process, performance and modeling of CO₂ capture by chemical absorption using high gravity: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 65, p. 44-56, 2016.

ZHAO, G.; CHEN, X.; WANG, L.; ZHOU, S.; FENG, H.; CHEN, W. N.; LAU, R. Ultrasound assisted extraction of carbohydrates from microalgae as feedstock for yeast fermentation. **Bioresource Technology**, v. 128, p. 337-344, 2013.

ZHENG, Q.; MARTIN, G. J. O.; KENTISH, S. E. Energy efficient transfer of carbon dioxide from flue gases to microalgal systems. **Energy & Environmental Science**, 2016, DOI: 10.1039/C5EE02005K.

ZHENG, Q.; MARTIN, G. J. O.; WU, Y.; KENTISH, S. E. The use of monoethanolamine and potassium glycinate solvents for CO₂ delivery to microalgae through a polymeric membrane system. **Biochemical Engineering Journal**, v. 128, p. 126-133, 2017.

APÊNDICES

Figura AP1- Ensaio em fotobiorreatores *erlenmeyers* com a microalga *Spirulina* sp, LEB 18 na presença dos absorventes carbonato de potássio e dietanolamina



Figura AP2- Ensaio com a microalga *Spirulina* em fotobiorreatores tubulares verticais com adição de carbonato de potássio e dietanolamina

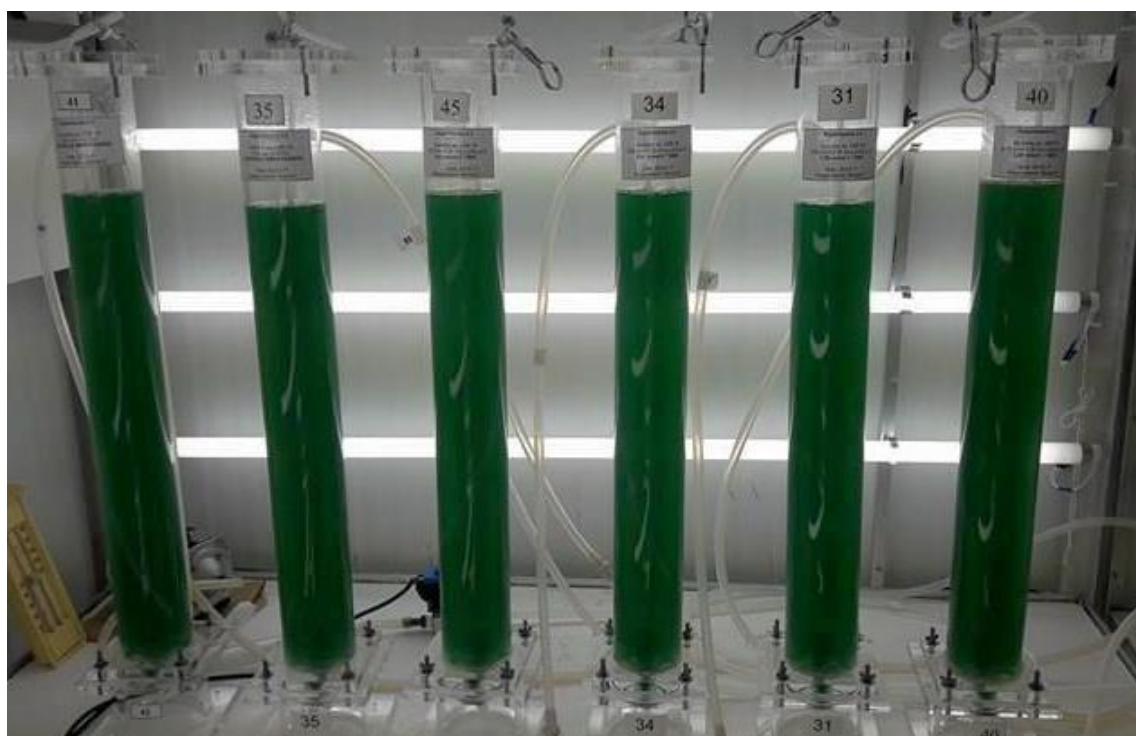


Figura AP3- Segundo dia de experimento onde verifica-se morte celular na duplicata com $4,92 \text{ mmol L}^{-1}$ de DEA (esquerda).

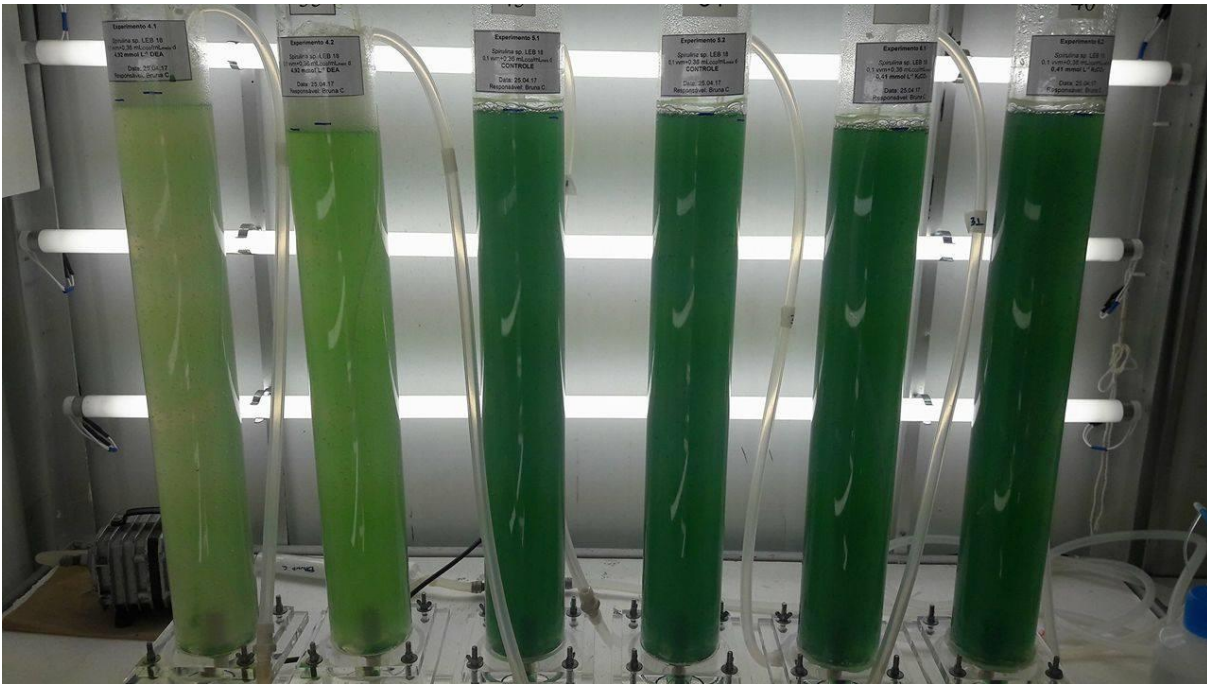
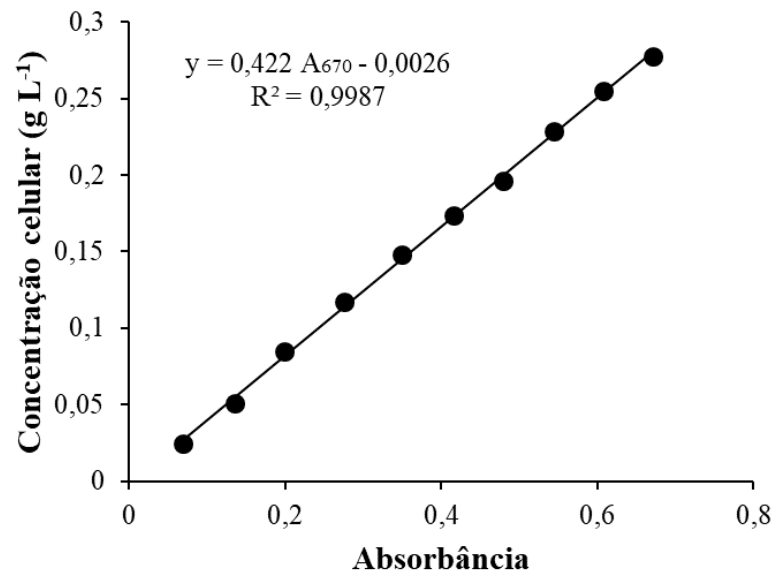


Figura AP4 - Curva padrão da microalga *Spirulina* sp. LEB 18



ANEXOS

Tabela A1- Composição química do meio de cultivo Zarrouk

Número	Nomenclatura	Fórmula química	Concentração
1	Bicarbonato de sódio	NaHCO ₃	16,8 g L ⁻¹
2	Fosfato de potássio dibásico	K ₂ HPO ₄	0,5 g L ⁻¹
3	Nitrato de sódio	NaNO ₃	2,5 g L ⁻¹
4	Sulfato de potássio	K ₂ SO ₄	1,0 g L ⁻¹
5	Cloreto de sódio	NaCl	1,0 g L ⁻¹
6	Sulfato de magnésio heptahidratado	MgSO ₄ .7H ₂ O	0,2 g L ⁻¹
7	Cloreto de cálcio	CaCl ₂	0,04 g L ⁻¹
8	Sulfato ferroso heptahidratado	FeSO ₄ .7H ₂ O	0,01 g L ⁻¹
9	EDTA dissódico	EDTA	0,08 g L ⁻¹
A5	Solução de micronutrientes	*	1,0 mL L ⁻¹
B6	Solução de metais	**	1,0 mL L ⁻¹

Fonte: Zarrouk (1966). *Solução A5 (g L⁻¹): H₃BO₃ (2,86), MnCl₂.4H₂O (1,81), ZnSO₄.7H₂O (0,222), NaMoO₄ (0,015), CuSO₄. 5H₂O (0,079). **Solução B6 (mg L⁻¹): NH₄VO₃ (23,0), K₂Cr₂(SO₄)₄.24H₂O (96,0), NiSO₄.7H₂O (48,0), Na₂WO₄.2H₂O (18,0), TiOSO₄.H₂SO₄.8H₂O (61,1), Co(NO₃)₂.6H₂O (44,0).