

CIANOBACTÉRIA *Arthrospira (Spirulina) platensis*: BIOTECNOLOGIA E APLICAÇÕES

BORBA, Vivian Ipaves de Almeida; FERREIRA-CAMARGO, Livia Seno.

vivipaves@hotmail.com

Centro de Pós-graduação, Pesquisa e Extensão Oswaldo Cruz

RESUMO: *Microalgas são microrganismos autótrofos e eucariontes que se desenvolvem geralmente em meio líquido e multiplicam-se rapidamente, liberando oxigênio a partir da fotossíntese e produzindo biomassa rica em compostos biologicamente ativos. A Arthrospira (Spirulina) platensis é uma cianobactéria (autótrofa e procarionte) de cor verde-azulada, encontrada em ambientes salinos e alcalinos, seu cultivo pode ocupar terras improdutivas e necessita de baixo consumo de água quando comparada com plantações de soja. A fonte de carbono, fonte de nitrogênio, luz, tipo de fotobiorreator, e modo de circulação de células são importantes parâmetros de cultivo. Os bioprodutos de origem microalgal e seus extratos de biomassa têm ganhado destaque no mercado mundial, tornando-se uma tecnologia promissora por meio da identificação de substâncias sintetizadas por esses microrganismos e a aplicabilidade destes. Neste trabalho, portanto, serão enfatizadas as aplicações biotecnológicas de microalgas, principalmente da cianobactéria Arthrospira (Spirulina), quanto a aplicações econômica, ecológica e nutricional na obtenção de compostos de interesse para as indústrias alimentícias, química, cosmética e farmacêutica, dentre outras.*

Palavras-chave: Microalgas. Cianobactéria. Spirulina. Arthrospira platensis. Biomassa

ABSTRACT: *Microalgae are autotrophic and eukaryotes that usually grow fast in liquid medium by releasing oxygen from photosynthesis and producing biomass rich in biologically active compounds. Spirulina is a blue-green cyanobacteria (autotrophic and prokaryote) found in saline and alkaline environments, its cultivation can occupy unproductive lands, and it needs low water consumption, when compared with soybean crops. The carbon source, nitrogen source, light, photobioreactor configuration, and cell circulation system are important cultivation parameters. Bioproducts and biomass from microalgae origin have gained prominence in the world market, becoming a promising technology through the identification of substances synthesized by these microorganisms and their applicability. In this study, therefore, the microalgae biotechnological applications, especially the cyanobacteria Arthrospira (Spirulina), will be emphasized, including economic, ecological and nutritional applications in obtaining compounds for the food, chemical, cosmetics and pharmaceutical industries, among others.*

Keywords: Microalgae. Cyanobacteri. Spirulina. Arthrospira platensis. Biomass

1. INTRODUÇÃO

Microalgas são um grupo de microrganismos eucariontes, dispostos em diversas formas de organização celular, fotoautótrofos, com presença de pigmentos. Estes microrganismos são capazes de se desenvolver nos meios mais adversos, se multiplicam rapidamente liberando oxigênio a partir da fotossíntese, e assim como demais microrganismos podem sofrer alterações em seu meio intracelular em resposta de variações externas. Finalmente, as microalgas apresentam a interessante característica comercial de produzir biomassa rica em compostos biologicamente ativos.

Conhecidas como bactérias fotossintetizantes, as cianobactérias são o que se considera o elo evolucionário entre as bactérias e as plantas verdes. Algas azul-esverdeadas, procarióticas, compreendem grande variedade de microrganismos com amplas características morfológicas, bioquímicas e fisiológicas.

Spirulina, agora reclassificada como *Arthrospira*, é uma cianobactéria autótrofa e procarionte, encontrada nos mais diferentes meios (ambientes salinos e alcalinos). Com cultivo simples e econômico, pode ocupar terras improdutivas, consumindo baixa quantidade de água, e através da fotossíntese convertendo nutrientes do meio material celular e liberando oxigênio. Dentre os importantes parâmetros e condições de cultivo estão: fonte de carbono, fonte de nitrogênio, fonte luminosa, agitação para circulação de células, configuração do fotobiorreator, temperatura ideal entre 30-35°C e pH básico.

Recentemente, o uso de microalgas está crescendo gradativamente, observando-se o aumento no interesse em pesquisas e processos biotecnológicos. Os bioprodutos de origem microalgal e seus extratos de biomassa tem ganhado destaque no mercado mundial, tornando-se uma tecnologia promissora por meio da identificação de substâncias sintetizadas por esses microrganismos e a aplicabilidade destes.

Neste trabalho, portanto, serão enfatizadas as aplicações biotecnológicas de microalgas, principalmente a cianobactéria *Spirulina*, quanto aplicações econômica, ecológica e nutricional na obtenção de compostos de interesse para as indústrias alimentícias, química, cosmética e farmacêutica, dentre outras. Por meio de revisão bibliográfica, o objetivo é exaltar a utilização da cianobactéria *Spirulina* nos mais diferentes setores, a fim de demonstrar e compreender o crescente interesse pela utilização de microalgas em processos biotecnológicos. O histórico e a importância das microalgas e cianobactérias também serão abordados ressaltando suas principais aplicações, através da identificação de sua composição química, com comparação e análise dos meios de cultura, a fim de apresentar os bioprodutos.

2. Microalgas

Microalgas são um grupo heterogêneo de microrganismos fotossintetizantes. Apresentam-se em diferentes formas de organização celular: unicelular, colonial ou filamentosa. Encontradas por todo o mundo, são microrganismos que vivem e crescem geralmente em meio líquido, multiplicam-se rapidamente e realizam fotossíntese oxigênica, liberando oxigênio e produzindo biomassa rica em compostos biologicamente ativos. Filogeneticamente, podem ser classificadas como células eucarióticas, como as microalgas que apresentam membrana celular, contendo o genoma distribuído entre os cromossomos e nucléolo; diferentemente das cianobactérias que também são microrganismos fotossintetizantes, entretanto são células procarióticas,

já que apresentam DNA desorganizado, livre no citoplasma com as membranas fotossintéticas (TOMASELLI, 2004; OLAIZOLA, 2003).

Aproximadamente metade do oxigênio lançado na atmosfera terrestre todos os dias vem do resultado da fotossíntese de microalgas, e o restante vem de plantas terrestres (FOX, 1996).

Algumas espécies de microalgas, como por exemplo, as espécies dos gêneros *Chlorella*, *Dunaliella salina*, *Haematococcus pluvialis* (*Chlorophyceae*) e *Arthrospira* (*Spirulina*) (*Cyanophyceae*) são cultivadas comercialmente, devido à aplicabilidade na indústria de alimentos e para a produção de aditivos naturais, tais como β -caroteno e astaxantina (GUEDES *et al.*, 2011; CHU *et al.*, 2010; AMBROSI *et al.*, 2008; SILVA, 2008; DERNER *et al.*, 2006; COLLA *et al.*, 2004).

Assim como nos demais microrganismos, as microalgas podem sofrer alterações em seu meio intracelular, como resposta a variações do meio exterior. A manipulação das condições de cultivo, além de influenciar os resultados de biossíntese, podem causar alterações nos componentes da biomassa de compostos que vão desde alimentos até fármacos, como pigmentos, proteínas, lipídios, entre outros (MADKOUR, 2012; BRENNAN; OWENDE, 2010; DERNER, 2006; SANTOS; MACEDO; ALEGRE, 2003).

As microalgas são produtoras de compostos como glicolípídios, fosfolipídios e lipídios neutros, classificados como biossurfactantes (MENDES; REIS; PALAVRA, 2006; BIGOGNO *et al.*, 2002; XUE *et al.*, 2002; BANAT; MAKKAR; CAMEOTRA, 2000). Dentre suas mais diversas utilizações, podemos destacar seu uso na alimentação humana como suplemento de alto valor nutricional, na alimentação animal, extração de compostos bioativos, produção de cosméticos, fonte de pigmentos, ácidos graxos, fonte de biocombustíveis, como forma de fixar CO₂ atmosférico, tratamento de águas residuais, uso como indicadores ambientais, entre outros (BATISTA *et al.*, 2013; KOTHARI *et al.*, 2013; MORAIS; RADMANN; COSTA, 2011; CARVALHO, 2010; RADMANN; COSTA, 2008; LOURENÇO, 2006).

Quanto à cadeia alimentar, as microalgas são muito importantes na aquicultura e principalmente na maricultura, por serem fonte essencial na alimentação de larvas de várias espécies de crustáceos, moluscos e peixes, pois sua biomassa é uma mistura de proteínas, carboidratos e gorduras (LAVENS; SORGELOOS, 1996).

Do ponto de vista biotecnológico, as microalgas constituem um grupo de microrganismos não muito estudado. Das dez mil espécies de microalgas que se acredita que existam, pouco mais de mil linhagens estão presentes em coleções ao redor do mundo, sendo que poucas foram investigadas por seu conteúdo químico e uma quantidade ainda menor tem sido cultivada em escala industrial, representando assim uma rica oportunidade para novas descobertas. Tratando-se de patentes no Brasil, o estado que mais detém dessa tecnologia é São Paulo, podendo-se notar uma falta de tradição quanto ao assunto, falta de desenvolvimento nos sistemas de inovação, poucos incentivos governamentais e do mercado brasileiro, que sejam capazes de possibilitar e promover o avanço e criação de um ambiente propício para impulsionar novas tecnologias (MENDONÇA; DRUZIAN; NUNES, 2012; OLAIZOLA, 2003; ZAHNER; FIEDLER, 1995).

3. Cianobactérias

As cianobactérias, conhecidas como algas azul-esverdeadas, são o elo evolucionário entre as bactérias e as plantas verdes e constituem um grupo considerado como bactérias fotossintetizantes. Estes organismos procariontes apresentam estrutura morfológica semelhante à das bactérias, e sistema fotossintetizante similar ao das algas, compreendendo, desta forma, uma grande diversidade de microrganismos com amplas características morfológicas, bioquímicas e fisiológicas. Estes microrganismos fotossintetizantes multiplicam-se rapidamente, necessitando apenas de nutrientes inorgânicos, água e luz para seu crescimento. Esta relativa facilidade de cultivo é o que torna algumas espécies fontes atrativas para obtenção desta biomassa (ASHBY; HOUMARD, 2006; CHRONAKIS *et al.*, 2000).

O grupo das cianobactérias apresenta biomassa de alto valor protéico, ácidos graxos poliinsaturados e pigmentos de alto valor comercial, aplicáveis nos mais diversos ramos, como na indústria alimentícia, farmacêutica e de cosméticos. Recentemente, vem ganhando destaque no tratamento de resíduos, efluentes e emissões industriais (ASHBY; HOUMARD, 2006).

3.1 *Arthrospira* (*Spirulina*)

Segundo Tomaselli (1997), a microalga *Spirulina* é uma cianobactéria filamentosa de cor verde-azulada, que forma tricomonas cilíndricas multicelulares, e se dispõem na forma espiralada. Apresenta parede celular constituída por mucopolissacarídeos, fato vantajoso para a preservação da integridade de componentes como vitaminas e ácidos graxos poliinsaturados, dispensando o uso de calor para disponibilizar nutrientes. (**Figura 1**).



Figura 1: Microalga *Spirulina* (aumento 40x)

Fonte: Laboratório de Engenharia Bioquímica – FURG

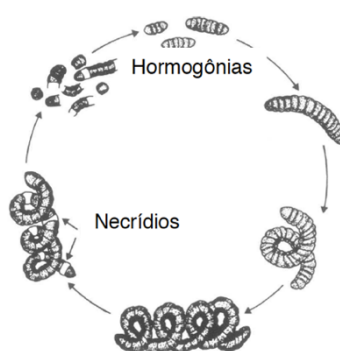
S. platensis, pertence à família *Cyanophyceae* e ordem *Oscillatoriales*, de acordo com a classificação do Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. A cianobactéria *Spirulina*, foi renomeada como *Arthrospira sp.*, por ser considerada um grupo distinto, entretanto, devido ao seu uso amplamente conhecido como alimento e suplemento dietético, os dois termos passaram a ser usados (PULZ; GROSS, 2004).

Assim como qualquer outra cianobactéria, dependendo das condições ambientais e adaptações eventualmente necessárias para sobrevivência, essa forma pode sofrer alterações (SINGH; MONTGOMERY, 2011). Wang e Zhao (2005) descobriram que a linearização da célula é uma variação de nível genético que pode ser induzida por fatores ambientais. Além disso, a forma linear, quando comparada com a helicoidal,

parece ser mais adaptável a situações de estresse ou alta intensidade luminosa (WANG *et al.*, 1997; JEEJI BAI, 1985).

O ciclo de vida da *Spirulina* (**Figura 2**), envolve a quebra dos tricomonas em pedaços que são resultado da lise celular de células especializadas (necrídeos) em intervalos de 4-6 células. Na fase seguinte, uma forma curta e desenrolada é denominada hormogônia, a qual apresenta mobilidade por deslizamento, comprovada pelo fato de testes terem demonstrado que as hormogônias plaqueadas em ágar migram para a região mais periférica depois de 2-3 dias (RIPPKA *et al.*, 1979). Finalmente, as células de cada hormogônia sofrem divisão celular para a formação de um tricomona espiral. O citoplasma de espécies de cepas maiores de *Spirulina* apresenta vacúolos de gases, grânulos e septos bem visíveis.

Figura 2: Ciclo de vida da *Spirulina*



Fonte: CIFERRI, 1983

3.1.1 Composição química

Spirulina representa uma das fontes mais ricas de proteínas, apresentando conteúdo superior ao de carnes e peixes (15-25%) e também ao da soja (35%). A maior parte da massa seca de *Spirulina* é formada por proteínas, aproximadamente 74%, variando de acordo com a espécie e condições de crescimento (COHEN, 1997). Entre as proteínas presentes, podem ser citadas ficocianinas e biliproteínas, que participam de reações bioquímicas da fotossíntese e servem como reservatórios de nitrogênio (CIFERRI, 1983).

Grande parte das proteínas da *Spirulina* contêm todos os aminoácidos essenciais (**Tabela 1**), que representam 47% do total das proteínas, como isoleucina, leucina, lisina, fenilalanina, treonina, triptofano, valina, e metionina, aminoácido ausente na maioria das cianobactérias e algas (DILLON; PHUC; DUBACQ, 1995).

A parede celular de *Spirulina* é constituída por mucopolissacarídeos, o que representa uma vantagem quanto a preservação da integridade de componentes como vitaminas e ácidos graxos poli-insaturados (TOMASELLI, 1997).

Na composição da *Spirulina* as vitaminas que podem ser encontradas em abundância são cianocobalamina (B12), pirodoxina (B6), riboflavina (B2), tiamina (B1), tocoferol (E), e fitonadiona (K), além do ácido pantotênico (B5). (BRANGER *et al.*, 2003).

Tabela 1: Composição de aminoácidos estritamente essenciais de *S. platensis* e *S. máxima*

Aminoácidos	<i>S. platensis</i>	<i>S. maxima</i>
	(mg AA . g PTN ⁻¹)	
Fenilalanina	53	49
Histidina	22	17
Isoleucina	67	60
Leucina	98	87
Lisina	48	41
Metionina	25	20
Treonina	62	49
Triptofano	3	12
Valina	71	63

Fonte: Dillon; Phuc, Dubacq, 1995.

Os ácidos graxos poliinsaturados presentes nesta cianobactéria são, principalmente, os ácidos essenciais alfa-linolênico e gama-linolênico (1% da massa seca), correspondentes a até 30% de todos os ácidos graxos presentes, além dos ácidos palmítico, linoleico, oleico (HIRANO *et al.*, 1990). (**Tabela 2**).

Tabela 2: Teor de alguns dos ácidos graxos poliinsaturados encontrados em *S. platensis*

Ácidos graxos	Teor
	(% em relação ao conteúdo lipídico)
Palmítico	34 – 42
Palmitoléico	9 – 11,5
Oléico	3 – 8
Linoléico	19 – 26
Gama-linolênico	16 – 25

Fonte: Piorreck; Baasch; Pohl, 1984; Hongsthong *et al.*, 2007.

Spirulina também apresenta quantidades apreciáveis de pigmentos, outros micronutrientes indispensáveis, fibras e minerais. Dentre os pigmentos destacam-se os carotenóides, principalmente, o β -caroteno que representa cerca de 80% dos carotenóides presentes em sua biomassa e a clorofila (RANGEL-YAGUI *et al.*, 2004; COHEN, 1997; DEOSTHALE; BAMJI, 1991). Os minerais presentes em maior quantidade na *Spirulina* são cálcio, ferro, fósforo, cobre, magnésio, manganês, potássio, boro, molibdênio, selênio e zinco (SEDYKH *et al.*, 2005; BRANGER *et al.*, 2003).

3.1.2 Condições de cultivo

Spirulina, reclassificada como *Arthrospira*, pode ser encontrada nos mais diferentes meios, mas principalmente ambientes alcalinos e salinos, e é possível cultivá-la em meio de cultivo líquido aproveitando o espaço de terras improdutivas. Esta cianobactéria consome baixa quantidade de água, realiza fotossíntese, convertendo nutrientes do meio material celular e liberando oxigênio (AMBROSI *et al.*, 2008; DERNER *et al.*, 2006; BERTOLIN *et al.*, 2005; COSTA *et al.*, 2003).

O cultivo destas cianobactérias depende da disponibilidade de luz e nutrientes, pH, densidade celular, temperatura e eventual contaminação por outros microrganismos. Pode sofrer variações de crescimento de acordo com o meio de cultivo utilizado e as condições do meio externo.

O meio de cultivo padrão para *S. platensis* é o Schlösser (MATSUDO, 2006; SCHLÖSSER *et al.*, 1982), que contém nitrato de sódio como fonte de nitrogênio (**Tabela 3**).

Tabela 3: Composição meio de cultivo Schlösser

Nutriente	Concentração (g.L ⁻¹)
NaHCO ₃	13,61g
Na ₂ CO ₃	4,03g
K ₂ HPO ₄	0,50g
NaNO ₃	2,50g
K ₂ SO ₄	1,00g
NaCl	1,00g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,20g
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,04g
Solução de metais	6mL.L ⁻¹
Na ₂ EDTA	750mg
FeCl ₃ .6H ₂ O	97mg
MnCl ₂ .4H ₂ O	41mg
ZnCl ₂	5mg
CoCl ₂ .6H ₂ O	2mg
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	4mg
Solução de micronutrientes	1mL.L ⁻¹
Na ₂ EDTA	50,0mg
H ₃ BO ₃	618,0mg
CuSO ₄ .5H ₂ O	19,6mg
ZnSO ₄ .7H ₂ O	44,0mg
CoCl ₂ .6H ₂ O	20,0mg
MnCl ₂ .4H ₂ O	12,6mg
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	12,6mg
Vitamina B ₁₂ (15µg/100mL H ₂ O)	1mL.L ⁻¹

Fonte: Adaptação MATSUDO, 2006.

O meio Zarrouk (**Tabela 4**), constituído principalmente por bicarbonato de sódio e nitrato de sódio, é muito utilizado como alternativa para este cultivo (MULITERNO *et al.*, 2005; ZARROUK, 1966).

Tabela 4: Composição do meio de cultivo Zarrouk

Nutriente	Concentração (g.L ⁻¹)
NaHCO ₃	16,8
K ₂ HPO ₄	0,50
NaNO ₃	2,50
K ₂ SO ₄	1,00
NaCl	1,00

MgSO ₄ .7H ₂ O	0,20
CaCl ₂	0,04
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,01
EDTA	0,08
Solução A5 (mg.L ⁻¹)	1 mL.L ⁻¹
H ₃ BO ₃	2,86
MnCl ₂ .4H ₂ O	1,81
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,222
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,079
NaMnO ₄	0,015
Solução B6 (mg.L ⁻¹)	1 mL.L ⁻¹
NH ₄ VO ₃	22,96
K ₂ Cr ₂ (SO ₄) ₄ .24H ₂ O	96
NiSO ₄ .76H ₂ O	47,85
Na ₂ WO ₄ .2H ₂ O	17,94
TiOSO ₄ .H ₂ SO ₄ .8H ₂ O	61,1
Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	43,98

Fonte: Zarrouk, 1966.

A composição do meio de cultivo é fundamental para a produção de biomassa com determinadas características desejadas, podendo afetar muitos fatores, como taxa de crescimento e a produção de biomassa. Fatores como a intensidade de luz, temperatura, pH, nutrientes e agitação do meio de cultivo, podem interferir, juntamente com a característica de cada espécie algal, na composição bioquímica final da biomassa (MIAO; WU, 2004).

Spirulina apresenta condições de crescimento variadas. Os cultivos de bancada geralmente são desenvolvidos com complementação nítrica, temperatura entre 30-35°C, intensidade luminosa de 20-30 klux, e valores de pH entre 8-11 (CIFERRI, 1983).

Dois principais nutrientes utilizados no cultivo de microrganismos fotossintetizantes são: nitrogênio e carbono. O CO₂ tem sido muito utilizado para o cultivo de microalgas e cianobactérias como fonte de carbono e controle do pH. O dióxido de carbono, quando disperso diretamente no meio, reduz o pH (durante a fotossíntese, para fixação do dióxido de carbono há acúmulo de OH⁻ na solução), sendo assim o melhor e mais conveniente método de controle de pH. É interessante ressaltar que os meios de cultivo com elevadas concentrações de sais de carbonato e bicarbonato, além de serem fontes de carbono, oferecem proporções adequadas para o cultivo de *A. platensis*, proporcionando um pH ótimo para seu crescimento (GROBBELAAR, 2004).

A assimilação do carbono é feita, principalmente, na forma de dióxido de carbono, resultando em maior produtividade de células e crescimento específico. Por transporte ativo o bicarbonato, intracelularmente, sofre ação da enzima anidrase-carbônica, sendo transformado em dióxido de carbono, que é incorporado ao Ciclo de Calvin (KAPLAN; REINHOLD, 1999).

O nitrogênio é o segundo nutriente mais importante depois do carbono, por ser constituinte de partes estruturais da célula, como proteínas, ácidos nucleicos e pigmentos fotossintetizantes (clorofilas e ficobilinas). Em *S. platensis* o conteúdo de nitrogênio equivale a 7% da massa seca (LOURENÇO, 2006).

Uma grande variedade de compostos orgânicos podem ser utilizados como fonte de nitrogênio, sendo as mais tradicionais: sais de nitrato, de sódio ou de potássio para *S. platensis*. Assimilado após passar pelas transformações de redução de nitrato em nitrito, pela enzima nitrato-redutase (por transporte ativo, com gasto de energia); e nitrito a amônia, pela enzima nitrito-redutase. A amônia é a fonte de nitrogênio preferencialmente utilizada pela *Spirulina* em seu metabolismo. Assim a utilização de uma fonte amoniacal (NH_4Cl), em junção com um nitrato (KNO_3), tem potencial de aumentar a produção da biomassa de *S. platensis*, pois associa uma fonte prontamente utilizável para geração de amônia e uma reserva na forma de nitrato (RODRIGUES, 2008; MATSUDO, 2006; CORNET; DUSSAP; GROS, 1998; SCHLOSSER, 1982; PAOLETTI; PUSHPARAJ; TOMASELLI, 1975; HATTORI; MYERS, 1966; ZARROUK, 1966).

O nitrogênio é importante para o metabolismo celular, porque contribui para a formação de proteínas. Quando limitado nas condições de cultivo, pode ocorrer conversão de proteínas a compostos de armazenamento de energia, como carboidratos e lipídios. Macedo e Alegre (2001), observaram aumento no conteúdo de lipídios quando uma menor concentração de nitrogênio foi utilizada no cultivo de *Spirulina máxima*. Colla *et al.* (2007), observaram que o aumento da concentração de nitrogênio e da temperatura levou a um aumento no teor lipídico e protéico, enquanto que a menor temperatura favoreceu o crescimento celular.

Outro nutriente é o fósforo, essencial nos processos metabólicos celulares. Participa da transferência de energia intracelular, síntese de ácidos nucleicos e reações especiais associadas à divisão celular, essenciais para o crescimento microalgal (KAPLAN *et al.*, 1999). Markou (2012), verificou que a redução de K_2HPO_4 no meio de cultivo causou aumento na concentração de carboidratos e lipídios, e redução na concentração de proteínas.

A temperatura tem grande importância, pois influencia na velocidade das reações químicas associadas aos processos metabólicos, o aumento da temperatura aumenta a velocidade de reação (SADAVA *et al.*, 2009). Nas microalgas, influencia no crescimento celular e na composição química. Segundo Colla *et al.* (2007), temperaturas entre 30-35°C são ideais para alta concentração celular e produtividade, acima de 35° teriam efeito positivo para produção de proteínas, lipídios e compostos fenólicos, porém com pouca produção de biomassa.

Para que os componentes do meio de cultura possam ser efetivamente absorvidos, mantendo os elementos químicos desejados disponíveis, é imprescindível o controle do pH. Para o cultivo e crescimento microalgal é necessário que ocorra o consumo de CO_2 no meio. No processo de fixação do dióxido de carbono no meio ocorre aumento do pH (LOURENÇO, 2006). O pH ótimo de crescimento de *S. platensis* é por volta de 9,5; em cultivos com pH acima de 11,0 não ocorre o crescimento da *Spirulina*, devido ao efeito da grande alcalinidade sobre os processos metabólicos, além da possibilidade da ocorrência de precipitação de carbonato, que segue por floculação ou sedimentação da microalga (BINAGHI *et al.*, 2003).

Quando se trata de microrganismos fotossintetizantes, sem dúvidas, a luz é um dos fatores mais importantes e que influencia um bom cultivo. A luz pode ser fornecida naturalmente através do uso de energia solar, com baixo custo; ou artificialmente com o uso de lâmpadas que resultam em maior controle de intensidade e melhor distribuição em diferentes pontos do fotobiorreator.

Quanto à intensidade luminosa, podem ocorrer dois fenômenos desfavoráveis ao crescimento. Na foto-inibição, ocorre inibição da fotossíntese pelo excesso de luz, causada por uma concentração excessiva de elétrons de alta energia na célula para ser consumida pelo Ciclo de Calvin. Estes elétrons de alta energia reagem com água e formam peróxido de hidrogênio, tóxico às células (CHOJNACKA; NOWORYTA, 2004). Já a foto-limitação ocorre devido a um efeito de sombreamento, que caracteriza limitação do crescimento pela falta de luz. Este efeito pode ser minimizado pela agitação do meio de cultura, entretanto é difícil de controlar quando o cultivo atinge concentrações mais elevadas, pois conforme ocorre o aumento da produção de novas células o efeito de sombreamento aumenta (MOHANTY; SRIVASTAVA; KRISHNA, 1997). Outro efeito que merece atenção é a foto-oxidação, onde a exposição prolongada a luz prejudica a obtenção de energia e sobrevivência, resultando na destruição dos pigmentos fotossintéticos e consequente lise celular (ALVES; MAGALHAES; BARJA, 2002).

É nos fotobiorreatores onde ocorre o crescimento de microrganismos fotossintetizantes. Originalmente, *Spirulina* cresce em lagos abertos, os quais representam o seu meio natural de crescimento. Os tanques abertos apresentam como vantagem o menor custo para construção e operação, porém essa forma de cultivo favorece a contaminação por outros microrganismos e dificulta o controle de fatores como temperatura e intensidade luminosa (TREDICI, 2004; RANGEL, 2000). Por apresentar maior custo de implantação, fotobiorreatores fechados quase não são utilizados, porém estudos mostram vantagens, como obtenção de elevadas concentrações de biomassa, baixos níveis de contaminação, alta eficiência na conversão do dióxido de carbono devido à baixa perda de gás, maior superfície exposta à luz e possibilidade de cultivo em pequenas áreas quando comparado aos tanques abertos (TORZILLO, 1997).

Outro fator importante no meio de cultivo para *Spirulina* é a agitação, que tem por finalidade impedir a formação de aglomerados celulares, o que garante a incidência luminosa suficiente às células; permite a captação de CO₂ da atmosfera; facilitar a transferência de O₂ da fase gasosa para o meio líquido; e diminuir os gradientes gasosos no meio, fatores que influenciam no crescimento celular. (JIMENEZ *et al.* 2003; GRIMA *et al.*, 1996).

Em geral, modificações no meio e deficiência de nutrientes, podem fazer com que o metabolismo da microalga se adapte a essa nova condição, modificando a composição química, alterando principalmente, proteínas, lipídeos e pigmentos (CAMPO; GONZÁLEZ; GUERRERO, 2007).

3.1.3 Aplicabilidade

Sugerem-se três precedentes sobre o início do uso de microalgas: tradição, desenvolvimento científico e tecnológico, e da chamada “tendência verde”. Na civilização Asteca, existem relatos do uso de microalgas como alimento, aproximadamente 400 anos atrás no México. Em 1521, Bernal Díaz del Castillo reportou que *S. maxima* foi extraída do Lago 23 Texcoco, e vendida para consumo humano seca em um mercado de Tenochtitlán, hoje, Cidade do México (SÁNCHEZ *et al.*, 2003).

O ramo do cultivo de microrganismos fotossintetizantes tem sido cada vez mais estudado e explorado devido às potenciais aplicações (**Tabela 5**) nos mais distintos setores (SUKAN, 2000). Algumas propriedades como o baixo custo de extração, secagem de biomassa, alta digestibilidade proteica, alto teor de proteínas, presença de vitaminas e pigmentos (clorofila a e ficocianina), quantidade significativa de aminoácidos essenciais e tolerância ao pH alcalino, são fatores que aumentam o interesse no setor biotecnológico e na produção (MORIST *et al.*, 2001).

Tabela 5: Aplicações potenciais das algas e cianobactérias produzidas comercialmente

Componentes	Aplicações
Proteínas e vitaminas	Alimentação humana e animal
Pigmentos: beta-caroteno, xantofilas e ficobilinas	Como corantes, em diagnóstico, cosméticos (tratamentos de pele) e reagents analíticos
Enzimas e substâncias com propriedades antibióticas	Fins terapêuticos
Ácido gama-linolênico	Estimulante da prostaglandina, regulação da síntese do colesterol
Hidrocarbonetos de cadeia longa e lipídios esterificados	Óleo combustível
Hidrogênio	Biogás

Fonte: Adaptação BECKER, 1994.

Beneman (1990) cita que em comparação com outros microrganismos, o destaque das microalgas se dá por serem capazes de utilizar tanto carbono inorgânico como orgânico, possuem alto teor proteico e são passíveis de manipulação genética. Apresentam tempo de geração curto, multiplicando-se rapidamente em pouco tempo quando comparado com as plantas que também são fotossintetizantes. Além de ocuparem pequenas áreas para seu cultivo e não afetarem drasticamente o meio ambiente, pois não precisam de aplicação de pesticidas.

Gradativamente, no mundo inteiro, o cultivo microalgal vem crescendo. Com as mais diversas aplicações da biomassa produzida, destinando-se à produção de proteína unicelular, lipídios, carotenóides, clorofila, enzimas, ésteres, antibióticos, hidrocarbonetos e vitaminas (PULZ e GROSS, 2004; RICHMOND, 2004; BECKER, 1994; RICHMOND, 1988; DURAND-CHASTEL, 1980).

Lourenço (2006) destaca que o cultivo microalgal têm se diversificado com o avanço do conhecimento de técnicas de cultivo e aplicações comerciais da biomassa gerada. As microalgas têm sido utilizadas na alimentação humana como suplemento alimentar de alto valor nutricional, na alimentação animal, para a extração de compostos bioativos, produção de cosméticos, produção de biocombustíveis, fixação de CO₂ atmosférico, tratamento de águas residuais, uso como indicadores ambientais, entre outros (BATISTA *et al.*, 2013; KOTHARI *et al.*, 2013; MORAIS; RADMANN; COSTA, 2011; CARVALHO, 2010; RADMANN; COSTA, 2008; LOURENÇO, 2006). Com o aumento da procura por produtos naturais, o cultivo de microalgas, principalmente *Spirulina*, e seus compostos de biomassa, têm se tornado promissores,

possibilitando o avanço de novas pesquisas, que visam benefícios ainda desconhecidos (BATISTA *et al.*, 2013; KOTHARI *et al.*, 2013; RICHMOND, 2004).

Problemas mundiais relacionados à fome, diminuição da área de terras cultiváveis e procura por novas matérias-primas para a indústria, levaram à busca por fontes alternativas de proteínas (**Tabela 6**). A produção de proteínas a partir de microrganismos (*single cell protein* – SCP), é uma das alternativas estudadas, visto que, microalgas, cianobactérias, fungos e bactérias são as principais fontes de proteína microbiana, que é submetida a processos de lavagem, extração da proteína e purificação, gerando grandes quantidades de proteínas por área útil em função do tempo, não promovendo danos ambientais. O gênero *Spirulina*, é o mais empregado como alimento em comunidades tribais ao redor do mundo (SPOLAORE *et al.*, 2006; SINGH, 1998; REED; NAGODAWITHANA, 1995; FAUST, 1987).

Tabela 6: Comparação entre a composição de alimentos usuais e a biomassa de *Spirulina maxima* (% massa seca)

Amostra	Proteínas	Lipídios
Carne	43	34
Leite	26	28
Arroz	8	2
Soja	37	20
<i>Spirulina maxima</i>	60-71	6-7

Fonte: Adaptação de BECKER, 1994.

O cultivo de cianobactérias, também é satisfatório para obtenção de pigmentos, como clorofila e carotenóides, e ácidos graxos poliinsaturados (gama-linolênico). Outro foco de pesquisa industrial, quanto o uso de microrganismos unicelulares, é a produção de óleo (*single cell oil* – SCO) (DERNER *et al.*, 2006).

A cianobactéria *Arthrospira* é muito estudada e utilizada para os mais diversos fins (**Tabela 7**), principalmente devido à sua composição de 30-70% proteínas; 13-25% de carboidratos; 6-15% de lipídios, 6-9% de minerais (especialmente ferro), além de ser uma fonte rica de vitaminas, como vitamina B12 e provitamina A (beta-caroteno), aminoácidos essenciais, e ácidos graxos essenciais (MADKOUR; KAMIL; NASR, 2012; COLLA *et al.*, 2007; SASSON, 1997; HENRIKSON, 1994). Segundo Pulz e Gross (2004), grandes indústrias de países como China, Índia e Estados Unidos, realizam estudos com *Spirulina platensis*, devido à presença de compostos intracelulares de interesse comercial, como, alto teor de proteínas, ácidos graxos e pigmentos.

Tabela 7: Aplicações industriais das diferentes cepas de *Arthrospira* e seus potenciais produtos de importância biotecnológica

Indústria	Cepas de <i>Arthrospira</i>	Potenciais Produtos
	<i>Arthrospira sp.</i>	Vitamina B ₁₂

Produtos Farmacêuticos	<i>A. platensis</i> <i>A. maxima</i>	Carotenóides Tocoferóis Ácido gama-linolênico
	<i>A. platensis</i>	Selênio Antioxidantes enzimáticos Cálculos de cálcio Polissacarídeos Ficocianina
	<i>A. maxima</i>	Ácidos fenólicos
Suplementos alimentares	<i>A. platensis</i> <i>A. maxima</i>	Suplemento alimentar
Aqüicultura e alimentação animal	<i>A. platensis</i> <i>A. maxima</i>	Aditivo alimentar
Alimentos	<i>A. platensis</i>	Ficocianina
Biocombustíveis	<i>A. platensis</i> <i>A. maxima</i>	H ₂
	<i>A. maxima</i>	Biodiesel

Fonte: Adaptação KLANCHUI *et al.*, 2012.

Algumas particularidades de *S. platensis*, que incentivam a produção e estudo desta espécie de cianobactéria são: alta digestibilidade protéica, baixo custo de extração de componentes e secagem da biomassa, tolerância a ambientes alcalinos e o fato de ser filamentosa, formando tramas que facilitam a recuperação da biomassa por simples filtragem. As espécies do gênero *Spirulina* (*Arthrospira*), em especial *S. platensis*, são de grande interesse comercial, e o seu potencial econômico está se tornando amplamente reconhecido. (MORIST *et al.*, 2001; HENRIKSON, 1989).

Por não apresentar riscos de toxicidade e patogenicidade (*Generally Recognized as Safe* – GRAS), a *Spirulina* também tem sido estudada devido ao seu grande potencial para produção de bioativos, podendo ser utilizada por indústrias de alimentos, farmacêutica e médica, sem risco à saúde (FDA, 2002; MENDONÇA; DRUZIAN; NUNES, 2012).

Propriedades nutricionais observadas *in vivo* e *in vitro*, relacionadas a microalga *Spirulina plantesis* vêm sendo relacionadas com possíveis propriedades terapêuticas que

auxiliariam no tratamento dos mais diversos problemas de saúde. Estudo têm evidenciado efeitos terapêuticos, incluindo prevenção de certos tipos de cânceres, proteção contra diabetes e obesidade e atividade antioxidante, fato que levou ao emprego desta em produtos farmacêuticos, alimentícios, mas principalmente à comercialização como alimento funcional, nutracêutico, ou suplemento alimentar, principalmente devido à sua composição com elevado conteúdo de proteínas, ácido gamalinolênico, vitaminas e minerais, que melhoram a qualidade nutricional das preparações (ANITHA; CHANDRALEKH, 2010; CHU *et al.*, 2010; AMBROSI *et al.*, 2008; ABDEL-BAKY *et al.*, 2007; WANG *et al.*, 2007; COLLA *et al.*, 2007; HERRERO *et al.*, 2005; COLLA *et al.*, 2004; HIRAHASHI, 2002; ESTRADA *et al.*, 2001; MIRANDA *et al.*, 1998).

Vários estudos foram feitos acerca de utilizações diversas da cianobactéria *Spirulina*, não restritos a alimentação. Chronakis *et al.* (2000), destacaram o uso como agentes emulsificantes e gelatinizantes das proteínas de *S. platensis* com estabilizantes de emulsões e espumas, por resultarem em reduzida tensão superficial ar/água.

Samon e Leduy (1982), já relatavam o uso da biomassa de *Spirulina* na produção de biocombustível por digestão anaeróbica (biogás).

Nos últimos anos verifica-se o crescente interesse pela utilização de microalgas em estudos e processos biotecnológicos, devido à aplicabilidade econômica, ecológica e nutricional, que podem ter aplicabilidade comercial na nutrição, saúde humana e animal, biorremediação de águas residuais, produção de energia e obtenção de compostos de interesse para as indústrias dos mais variados ramos (CHU *et al.*, 2010; AMBROSI *et al.*, 2008; SILVA, 2008; WANG *et al.*, 2007; DAO-LUN; ZU-CHENG, 2006; DERNER *et al.*, 2006; COSTA *et al.*, 2003).

De La Nouë e De Pauw (1988), já demonstravam a biotecnologia de microalgas quanto a versatilidade nos setores de biorremediação. Podendo atuar no tratamento de efluentes, biorremediando metais pesados, nitrogênio e fósforo que podem causar eutrofização quando descartados diretamente no leito de rios. Estudos mais recentes citam que quanto à recuperação do meio ambiente, a *Spirulina* tem poder de assimilação de dióxido de carbono por sua biomassa, o que possibilita o tratamento de emissões industriais (FERREIRA *et al.*, 2012)

Mosulishvili *et al.* (2002), estabeleceram que a biomassa de *Spirulina*, quando incorporada a selênio e iodo, não causa alterações de suas propriedades naturais, e que com o uso de reagentes de alto grau de pureza e cultivo em condições controladas permitem a produção de drogas farmacêuticas.

O tratamento de efluentes industriais, por cianobactérias, em particular as espécies de *Spirulina*, é bem explorado, graças à assimilação de nutrientes pela cianobactéria, e os mecanismos de absorção e adsorção de metais pesados (CHEN; PAN, 2005; CHOJNACKA; CHOJNACKI; GÓRECKA, 2004).

Spolaore *et al.* (2006), relatam que produtos cosméticos, como antirrugas, loções e protetores solares, à base de *Spirulina* e *Chlorella*, podem ser encontrados no mercado mundial.

Barzegari *et al.* (2014), baseado nas características da *Spirulina* (*Arthrospira*), microrganismo procariótico fotossintetizante, que tolera altas temperaturas e tem estabilidade ao calor, realizou um estudo que propunha o uso desta como vacina comestível baseada em plantas (PEV). Introduzidas buscando viabilidade econômica

possível, as vacinas comestíveis baseadas em plantas (PEVs) são revolucionárias, e buscam satisfazer a vacinação em áreas remotas, através da preparação, armazenamento, distribuição e acesso do maior número de doses de vacina em um curto período de tempo. Considerando que a *Spirulina*, quando comparada com outras plantas e microrganismos, apresenta uma fácil manipulação genética, grande produção de biomassa, simples purificação e fácil armazenamento, e levando em conta os mais diversos estudos e comprovações de promoção de saúde, e avanços biotecnológicos, esta cianobactéria, segundo os autores, se apresenta como potencial sistema biofatorial alternativo para as plantas, bem-sucedido e de maneira muito mais econômica em direção à produção de vacinas comestíveis.

Morais *et al.* (2015), buscaram biofuncionalidade para nanofibras a partir exclusivamente da cianobactéria *Arthrospira*. Os autores descobriram que as nanofibras provenientes dos copolímeros poli-hidroxibutirato (PHB) de *Arthrospira*, adicionadas de sua biomassa, apresentaram propriedades altamente favoráveis, sendo iguais ou superiores às comercialmente disponíveis, podendo ser utilizadas em aplicações industriais e biotecnológicas, como por exemplo na engenharia de tecidos, através de nanofibras biodegradáveis em escala técnica.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos achados bibliográficos pode-se concluir, que as microalgas e cianobactérias são fontes potenciais de estudos e inovações. *Spirulina* (renomeada *Arthrospira*), por apresentar simultaneamente características bacterianas e de plantas tem chamado cada vez mais atenção para pesquisas e aplicações biotecnológicas.

É visto que muito desse interesse para estudos e inovações se deve ao fato da vantajosa presença de nutrientes específicos, não encontrados em outras plantas ou microalgas. Alguns dos principais fatores que tornam essa cianobactéria um eficiente bioestruturador de rica variedade de produtos biotecnológicos são: o alto teor de proteínas, com a presença de todos os aminoácidos essenciais, a torna um promissor promotor, permitindo a fácil manipulação molecular; o grande teor lipídico, ácidos graxos essenciais e poli-insaturados (principalmente gama-linolênico); uma grande variedade de vitaminas (principalmente B12) e grande espectro de carotenóides (principalmente β caroteno).

Todos seus componentes associados ao fácil e econômico cultivo, com uma taxa rápida de crescimento, baixa necessidade de insumos e poucas limitações de recursos agrícolas, tornam o cultivo e a produção de *Spirulina* interessante e vantajoso para os diferentes tipos de pesquisa e desenvolvimento, sendo cada vez mais usada nos mais diversos ramos, trazendo avanços para a ciência, medicinais, nutricionais, ecológicos e econômicos.

É possível observar nos mais diversos artigos o crescente uso das mais diferentes cepas de microalgas, principalmente para as chamadas “fábricas de células verdes/sustentáveis”. Acredito que em conexão com o desenvolvimento e procura por um bioprocessamento sustentável, e a chamada tendência verde, a biologia da *Spirulina* provavelmente será cada vez mais aplicada na biotecnologia, devido a sua ampla engenharia metabólica, levando principalmente a uma melhoria dos processos de produção industrial e no desenvolvimento de novos produtos e compostos valiosos e de

alto valor comercial, principalmente quando se tratar da indústria alimentícia e de suplementos, biocombustíveis e indústria cosmética.

5. REFERÊNCIAS

ABDEL-BAKY, H. H.; EL BAZ, F. K.; EL-BAROTY, G. S. Enhancement of antioxidant production in *Spirulina plantensis* under oxidative stress. **American-Eurasian Journal of Scientific Research**, v. 2, n. 2, p. 170-179, 2007.

ALVES, P.L.C.A.; MAGALHÃES, A.C.N.; BARJA, P.R. The phenomenon of photoinhibition of photosynthesis and its importance in reforestation. **The Botanical Review**, v. 68, p. 193-208, 2002.

AMBROSI, M. A.; REINEHR, C. O.; BERTOLIN, T. E.; COSTA, J. A. V.; COLLA, L. M. Propriedades de saúde da microalga *Spirulina*. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 29, n. 2, p. 115-123, 2008.

ANNAPURNA, V.V.; DEOSTHALE, Y.G.; BAMJI, M.S. *Spirulina* as a source of vitamin A. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 41, n. 2, p. 125-134, Apr. 1991.

ANITHA, L.; CHANDRALEKH, K. Effect of supplementation of *Spirulina* in blood glucose, Glycosylated Hemoglobin and Lipid Profile of Male NonInsulin Dependent Diabetics. **Asian Journal Experimental Biological Science**, v. 1, p. 36-46, 2010.

ASHBY, M.K.; HOUMARD; J. Cyanobacterial two-component proteins: structure, diversity, distribution, and evolution. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 70, n. 2, p. 472-509, June 2006.

BANAT, I. N.; MAKKAR, R. S.; CAMEOTRA, S. S. Potential commercial applications of microbial surfactants. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 53, p. 495-508, 2000.

BATISTA, A. P.; GOUVEIA, L.; BANDARRA, N. M.; FRANCO, J. M.; RAYMUNDO, A. Comparison of microalgal biomass profiles as novel functional ingredient for food products. **Algal Research**. v. 2, p. 164-173, 2013.

BARZEGARI, A. *et al.* The search for a promising cell factory system for production of edible vaccine spirulina as a robust alternate to plants. **Human vaccines & immunotherapeutics**, Iran, v. 10, n. 8, p. 2487-2502, ago. 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmc4896766/>>. Acesso em: 24 out. 2017.

BECKER, E. W. *Microalgae: biotechnology and microbiology*. Cambridge: Cambridge University Press, p. 301, 1994.

BENEMAN, J. R. Microalgae products and production: an overview. **Journal of Industrial Microbiology**, v.31, n.5, p.247-256,1990.

BIGOGNO, C.; KHOZIN-GOLDBERG, I.; BOUSSIBA, S.; VONSHAK, A.; COHEN, Z. Lipid and fatty acid composition of the green oleaginous alga *Parietochloris incisa*, the richest plant source of arachidonic acid. **Phytochemistry**, v. 60, p. 497–503, 2002.

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.

- BRANGER, B.; CADUDAL, J. L.; DELOBEL, M.; OUOBA, H.; YAMEOGO, P.; OUEDRAOGO, D.; GUERIN, D.; VALEA, A.; ZOMBRE, C.; ANCEL, P. *Spirulina* as a food supplement in case of infant malnutrition in Burkina-Faso. **Archives de pédiatrie**, v. 10, p. 424-431, 2003.
- BRENNAM, L.; OWENDE P. Biofuels from microalgae. A review of technologies 63 for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. **Renew Sustain Energ Rev**, v. 14, p. 557–577, 2010.
- CAMPO, J. A. D.; GONZÁLEZ, M. G.; GUERRERO, M. G. Outdoor cultivation of microalgae for carotenoid production: current state and perspectives. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.74, p.1163-1174, 2007.
- CARVALHO, L. F. **Desenvolvimento de novos alimentos para praticantes de atividade física, adicionados ou não de *Spirulina***. 99f. Dissertação. Mestrado em Engenharia e Ciências de Alimentos. Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, Brasil, 2010.
- CIFERRI, O. *Spirulina*, the Edible Microorganism, **Microbiological Reviews**, v. 47, p. 551-578, 1983.
- CHEN, H.; PAN, S. Bioremediation potencial os *Spirulina*: toxicity and biosorption studies of lead. **Journal of Zhejiang University SCIENCE**, v. 6B, n. 3, p. 171-174, Mar. 2005.
- CHOJNACKA, K.; NOWORYTA, A. Evaluation of *Spirulina sp.* Growth in photoautotrophic, heterotrophic and mixotrophic cultures. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 34, p. 461-465, 2004.
- CHOJNACKA, K.; MARQUEZ-ROCHA, F. J. Kinetic and stoichiometric relationships of the energy and carbon metabolism in the culture of microalgae. *Biotechnology*, n.3, v.1, p.21-34, 2004
- CHRONAKIS, I.S.; GALATANU, A.N.; NYLANDER, T.; LINDMAN, B. The behavior of protein preparations from blue-green algae (*Spirulina platensis* strain Pacifica) at the air/water interface. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 173, n. 1, p. 181-192, Nov. 2000.
- CHU, W.-L.; LIM, Y.-W.; RADHAKRISHNAN, A. K.; LIM, P.-E. Protective effect of aqueous extract from *Spirulina platensis* against cell death induced by free radicals. **BCM Complementary and Alternative Medicine**, v. 10, n. 53, p.1472-6882, 2010.
- COHEN, Z. The chemical of *Spirulina*. In: VONSHANK, A., ed. *Spirulina plantesis (Arthrospira)*: physiology, cell-biology and biotechnology. London: Taylor and Francis, p. 175-204, 1997.
- COLLA, L. M.; BERTOLIN, T. E.; COSTA, J. A. V. Fatty acids profile of *Spirulina platensis* grown under different temperatures and nitrogen concentrations. **Z. Naturforsch**, n. 59, 55-59, 2004.
- COLLA, L. M.; REINEHR, C. O.; REICHERT, C.; COSTA, J. A. V. Production of biomass and nutraceutical compounds by *Spirulina platensis* under different temperature and nitrogen regimes. **Bioresource Technology**, n. 98, p. 1489–1493, 2007.

CORNET, J. F.; DUSSAP, C. G.; GROS, J. B. Kinetics and energetics of photosynthetic microorganisms in photobioreactors. Application to *Spirulina* growth. **Advances in Biochemical Engineering Biotechnology**, v. 59, p. 155-223, 1998.

COSTA, J. A. V.; COLLA, L. M.; DUARTE FILHO, P. *Spirulina platensis* Growth in Open Raceway Ponds Using Fresh Water Supplemented with Carbon, Nitrogen and Metal Ions. **Z. Naturforsch**, n. 58, p. 76-80, 2003.

DAO-LUN, F.; ZU-CHENG, W. Culture of *Spirulina platensis* in human urine for biomass production and O₂ evolution. **Journal of Zhejiang University Science B**, v. 7, n. 1, p. 34-37, 2006.

DE LA NOÛE, J.; DE PAUW, N. The potential of microalgal biotechnology: a review of production and uses of microalgae. **Biotechnology Advances**, v.6, p.725-770, 1988.

DERNER, R. B.; OHSE, S.; VILLELA, M.; CARVALHO, S. M. DE; FETT, R. Microalgas, produtos e aplicações. **Ciência Rural**, v. 36, n.6, p. 1959-1967, 2006.

DILLON, J. C.; PHUN, A. P.; DUBACQ, J. P. Nutritional value of the algae *Spirulina*. **World Review of Nutrition and Dietetics**, v. 77, p. 32-46, 1995.

DURAND-CHASTEL, H. Production and use of *Spirulina* in Mexico. In: SHELEF, G.; SOEDER, C.J., eds. **Algae biomass: production and use**. Amsterdam: Elsevier; New York: North Holland Biochemical Press, p. 51-64, 1980.

ESTRADA, J. E. P.; BESCÓS, P. B.; FRESNO, A. M. V. del. Antioxidant activity of different fractions of *Spirulina platensis* protean extract. **II Farmaco**, n. 56, p. 497-500, 2001.

FAUST, U. Production of microbial biomass. In: PRAVE, P.; FAUST, U.; SITTIG, W.; SUKATSCH, D. A. **Fundamentals of biotechnology**. Weinheim: VCH Publishers, 1987.

FDA - Food and Drug Administration - U.S. Department of health and human services. Disponível em: <http://www.fda.gov/Food/FoodIngredientsPackaging/GenerallyRecognizedasSafeGRAS/default.htm>. Acesso em 24/10/2017.

FOX, D.R. **SPIRULINA: Production & Potential**, Edisud, France, pp.232, 1996.

GRIMA, E.M.; SEVILLA, J.M.F.; PEREZ, J.A.S.; CAMACHO, F.G. A study on simultaneous photolimitation and photoinhibition in dense microalgal cultures taking into account incident and averaged irradiances. **Journal of Biotechnology**, v. 45, p. 59-69, 1996.

GROBBELAAR, J.U. **Algal nutrition: mineral nutrition**. In: RICHMOND A, editor. **Handbook of Microalgal culture: Biotechnology and Applied Phycology**. Oxford: Blackwell Science. p. 97-115. 2004

GUEDES, A. C.; AMARO, H. M.; MALCATA, F. X. Microalgae as sources of carotenoids. **Marine Drugs**, n. 9, p. 625-644, 2011.

HATTORI, A. MYERS, J. Reduction of nitrate and nitrite by subcellular preparations of *Anabaena cylindrica*: I. Reduction of nitrite to ammonia. **Plant Physiology**, v. 41, n. 6, p. 1031-1036, June 1966.

HENRIKSON, R. *Microalga Spirulina – Superalimento del futuro*. Barcelona Ediciones S.A. Urano, ISBN 84-7953-047-2, 1994.

- HENRIKSON, R. Earth food Spirulina. California: Ronore Enterprises, p. 180, 1989.
- HIRAHASHI, T.; MATSUMOTO, M.; HAZEKI, K.; SAEKI, Y.; UI, M.; SEYA, T. Activation of the human innate system by *Spirulina*: augmentation of interferon production and NK cytotoxicity by oral administration of hot water extract of *Spirulina platensis*. **International Immunopharmacology**, v. 2, p. 423 – 434, 2002.
- HIRANO, M. Gamma-linolenic acid production by microalgae. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 24/25, p. 183-191, 1990.
- HONGSTHONG, A.; SIRIJUNTARUT, M.; PROMMEENATE, P.; THAMMATHORN, S.; BUNNA, B.; CHEEVADHANARAK, S.; TANTICHAROEN, M. Revealing differentially expressed proteins in two morphological forms of *Spirulina platensis* by proteomic analysis. **Molecular Biotechnology**, v. 36, n. 2, p. 123-130, June 2007.
- JEEJI BAI, N. Competitive exclusion or morphological transformation? A case study with *Spirulina fusiformis*. **Archives of Hydrobiology**, 71(suppl), Algology Study 38/39, p.191-199, 1985.
- JIMÉNEZ C.; BELÉN R. C.; LABELLA D.; et al. X.. The Feasibility of industrial production of Spirulina (Arthrospira) in Southern Spain. *Aquaculture*, v.217, p.179–190, 2003.
- KLANCHUI, A. et al. Systems biology and metabolic engineering of arthrospira cell factories. **Computational and structural biotechnology journal**, [S.L.], v. 3, n. 4, out. 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.5936/csbj.201210015>>. Acesso em: 24 out. 2017.
- KAPLAN, A.; REINHOLD, L. CO₂ concentrating mechanisms in photosynthetic microorganisms. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular, v. 50, p. 539-570, 1999.
- KOTHARI, R.; PRASAD, R.; KUMAR, V.; SINGH, D. P. Production of biodiesel from microalgae Chlamydomonas polypyrenoideum grown on dairy industry wastewater. **Bioresource Technology**. v. 144, p. 499-503, 2013.
- LAVENS, P.; SORGELOOS, P. Manual on the production and use of life food for aquaculture. FAO Fisc Tech. Pap., v.361, p.7-42, 1996.
- LEDUY, A.; SAMSON, R. Testing of an ammonia ion selective electrode for ammonia nitrogen measurement in the methanogenic sludge. **Biotechnology Letters**. v. 4, p. 303-306, 1982.
- LOURENÇO S. O. **Cultivo de microalgas marinhas: Princípios e aplicações**. São Carlos: Rima. 606p, 2006.
- MACEDO, R.V.T; ALEGRE, R.M. Influência do teor de nitrogênio no cultivo de Spirulina máxima em dois níveis de temperatura. Parte II: Produção de lipídios. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v. 21, n.2, 2001.
- MADKOUR, F. F.; KAMIL, A. E.; NASR, H. S. Production and nutritive value of *Spirulina platensis* in reduced cost media. **Egyptian Journal of Aquatic Research**, v. 38, p. 51-57, 2012.

MARKOU, G. Alteration of the biomass composition of *Arthrospira (Spirulina) platensis* under various amounts of limited phosphorus. **Bioresource Technology**, v, 116, p. 533–535, 2012.

MATSUDO, M.C. **Cultivo de *Spirulina* por processo descontínuo alimentado repetitivo utilizando uréia como fonte de nitrogênio**. 2006. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Fermentações) - Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2006.

MENDES, R. L.; REIS, A. D.; PALAVRA, A. F. Supercritical CO₂ extraction of α -linolenic acid and other lipids from *Arthrospira (Spirulina) maxima*: Comparison with organic solvent extraction. **Food Chemistry**, v. 99, p. 57–63, 2006.

MENDONÇA, T. A.; DRUZIAN, J. I.; NUNES, I. L. Prospecção Tecnológica da Utilização da *Spirulina platensis*. **Cadernos de Prospecção**, v. 5, p. 44-52, 2012.

MIAO, X.; WU, Q. High yield bio-oil production from fast pyrolysis by metabolic controlling of *Chlorella protothecoides*. **Journal of Biotechnology**, v. 110, p. 85-93, 2004.

MIRANDA, M.S.; CINTRA, R.G.; BARROS, S.B.M.; MANCINI-FILHO, J. Antioxidant activity of the microalga *Spirulina maxima*. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, n° 31, 1998.

MOHANTY, P.; SRIVASTAVA, M.; KRISHNA, K. B. **The photosynthetic apparatus of *Spirulina*: electron transport and energy transfer**. In: VONSHAK, A. *Spirulina platensis (Arthrospira) Physiology, cell-biology and biotechnology*. London: Taylor & Francis, 1997.

MORAIS, M. G. *et al.* Biofunctionalized nanofibers using arthrospira (spirulina) biomass and biopolymer. **Biomed research international**, Brasil, v. 2015, n. 967814, p. 1-8, set. 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1155/2015/967814>>. Acesso em: 24 out. 2017.

MORAIS, M. G.; RADMANN, E. M.; COSTA, J. A. V. Biofixation of CO₂ from synthetic combustion gas using cultivated microalgae in three-stage serial tubular photobioreactors. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 66, p. 313-318, 2011.

MORIST, A.; MONTESINOS, J.L.; CUSIDÓ, J.A.; GÒDIA, F. Recovery and treatment of *Spirulina platensis* cells cultured in a continuous photobioreactor to be used as food. **Process Biochemistry**. v. 37, p. 535-547, 2001.

MOSULISHVILI, L.M.; KIRKESALI, E.I.; BELOKOBYSKY, A.I.; KHIZANISHVILI, A.I.; FRONTASYEVA, M.V.; PAVLOV, S.S.; GUNDORINA, S.F. Experimental substantiation of the possibility of developing selenium and iodine containing pharmaceuticals based on blue-green algae *Spirulina platensis*. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 30, n. 1, p. 87-97, Aug. 2002.

MULITERNO, A.; MOSELE, P. C.; COSTA, J. A. V.; HEMKEMEIER, M.; BERTOLIN, T. E.; COLLA, L. M. Mixotrophic growth of *Spirulina platensis* in fed-batch mode. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, p. 1132-1138, 2005.

OLAIZOLA, M. Commercial development of microalgal biotechnology: from the test tube to the marketplace. **Biomolecular Engineering**, v.20, p.459-466, 2003.

- PAOLETTI, C. PUSHPARAJ, B., TOMASELLI, L. Ricerche sulla nutrizione minerale di *Spirulina platensis*. In: Atti Cong. Naz. Soc. Ital. Microbiol., 17°, Padova, 1975.
- PIORRECK, M., BAASCH, K.H., POHL, P., Biomass production, total protein, chlorophylls, lipids and fatty acids of freshwater green and blue-green algae under different nitrogen regimes. *Phytochemistry*, v.23 (2), p.207–216,1984.
- PULZ, O.; GROSS, W. Valuable products from biotechnology of microalgae. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.65, n.6, p.635-648, 2004.
- RADMANN, E. M.; COSTA, J. A. V. Conteúdo lipídico e composição de ácidos graxos de microalgas expostas aos gases CO₂, SO₂ e NO. **Química Nova**, v. 31, p. 1609-1612, 2008.
- RANGEL, C.O. *Influência da luz e uréia no crescimento e conteúdo de clorofila da biomassa de Spirulina platensis*. São Paulo, 2000. 132p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo, São Paulo.
- REED, G.; NAGODAWITHANA, T.W. (Ed.). **Enzymes, biomass, food and feed**. 2nd ed. (Biotechnology, Vol. 9). Weinheim: VHC, 1995. 804 p.
- RICHMOND, A. **Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology**. Oxford, UK: Blackwell Science Ltd. 577p., 2004.
- RICHMOND, A. *Spirulina*. In: BOROWITZKA, M.A.; BOROWITZA, L.J., ends. **Microalgal Biotechnology**. Cambridge: Cambridge University Press, 1988. p. 85-119.
- RODRIGUES M. S. *Avaliação do cultivo de Spirulina platensis utilizando simultaneamente nitrato de potássio e cloreto de amônio como fontes de nitrogênio*. 2008. Dissertação de mestrado. Universidade de São Paulo, São Paulo.
- RIPPKA, R.; DERUELLES, J.; WATERBURY, J.B.; HERDMAN, M.; STANIER, R.Y. Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. **Journal of General Microbiology**, v. 111, p.1-61, 1979.
- SADAVA, D.; HILLIS, D.; HELLER, C. e BERENBAUM, M. **Life: The Science of Biology**, 8ª edição, W. H. FREEMAN, 2009. Citado por: RUSSO, D. A. M. T. Estudo do crescimento da microalga *Chlorella vulgaris* numa água residual tratada, sob diferentes condições de fotoperíodo e temperatura. 111f. Dissertação (Mestrado em Energia e Bioenergia). Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 2011.
- SÁNCHEZ, M., BERNAL-CASTILLO, J., ROZO, C. et al. *Spirulina (Arthrospira): an edible microorganism. A review*. *Univ. Scientiarum*, v.8, p. 7-24, 2003.
- SANTOS, V.L.da.S.S.; FERNANDES, M. do. C. de. A.; MOREIRA, V.F.; CASTILHO, A.M.C.; CARVALHO, J.F. **Efeitos do biofertilizante Agrobio e de diferentes substratos na produção de mudas de alface para cultivo orgânico**. In: Congresso Brasileiro de Agroecologia, Porto Alegre. Anais. Porto Alegre: EMATER: RS-ASCAR, 2003.
- SASSON, A. **Micro Biotechnologies: Recent Developments and Prospects for Developing Countries**. BIOTEC Publication 1/2542. Place de Fontenoy, Paris. France. United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization UNESCO, p; 11-31, 1997.

SCHLÖSSER, U.G. Sammlung von Algenkulturen. **Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft**. v. 95, p. 181-276, 1982.

SEDYKH, E.M.; LYABUSHEVA, O.; TAMBIEV, A.; BANNYKH, L. Determination of the elemental composition of cyanobacteria cells and cell fractions by atomic emission and atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 60, n. 1, p. 29-33, Jan. 2005

SILVA, L. A. **Estudo do processo biotecnológico de produção, extração e recuperação do pigmento ficocianina da *Spirulina platensis***. 2008. 87f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Programa de Pós-Graduação em Processos Biotecnológicos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2008.

SINGH, B. D. *Biotechnology*. New Delhi: Kalyani Publishers, 1998. p. 498-510.

SINGH, S.P; MONTGOMERY, B.L. Determining cell shape: adaptive regulation of cyanobacteria cellular differentiation and morphology. **Trends in microbiology**, v. 19, n. 6, p. 278-285, 2011.

SPOLAORE, P.; CASSAN, C. J.; DURAN, E.; et al. Commercial applications of microalgae. *J. Biosci. Bioeng.*, v. 101, No. 2, p. 87-96, 2006.

SUKAN, F.V. Cyanobacterial biotechnology (book review). **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 25, n. 4, p. 377-380, Apr. 2000.

TREDICI, M.R. **Mass Production of Microalgae: Photobioreactors**. In: RICHMOND A, editor. *Handbook of Microalgal culture: Biotechnology and Applied Phycology*. Oxford: Blackwell Science, p. 178-214, 2004.

TOMASELLI, I. Morphology, ultrastructure and taxonomy of *Arthrospira (Spirulina)*. In: VONSHAK, A. *Spirulina platensis (Arthrospira) Physiology, cell-biology and biotechnology*. London: Taylor & Francis. ISBN 0-7484-0674-3, 1997.

TOMASELLI, L. The microalgal cell. in: RICHMOND, A., editor. **Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology**. Oxford: Blackwell Science. P 3-19. 2004.

TORZILLO, G. **Tubular bioreactors**. I: Vonshak A, editor. *Spirulina platensis (Arthrospira): physiology, cell-biology and biotechnology*. London: Taylor and Francis, p. 101-115, 1997.

WHANG, Z.P.; CHEN, S.M.; JIA, X.M.; CUI, H.R.; XU, B.J. The effect of environmental factors and g-rays on the morphology and growth of *Spirulina platensis*. **Journal of Zhejiang Agricultural University**, v. 23, p. 36-40, 1997.

WHANG, Z.P.; ZHAO, Y. Morphological reversion of *Spirulina (Arthrospira) platensis (Cyanophyta)*: from linear to helical. **Journal of Phycology**, v. 41, p. 622-628, 2005.

WANG, L.; PAN, B.; SHENG, J.; XU, J.; HU, Q. Antioxidant activity of *Spirulina platensis* extracts by supercritical carbon dioxide extraction. **Food Chemistry**, n. 105, 36-41, 2007.

XUE, C.; HU, Y.; SAITO, H.; ZHANG, Z.; LI, Z.; CAI, Y.; OU, C.; LIN, H.; IMBS, A. B. Molecular species composition of glycolipids from *Spirulina platensis*. **Food Chemistry**, v. 77, p. 9-13, 2002.

ZAHNER, H.; FIEDLER, H. P. The need for new antibiotics: possible ways forward. In: HUNTER, P. A.; DARBY, G. K.; RUSSELL, N. J. Fifty years of antimicrobials: past perspectives and future trends. Cambridge: University Press, p.67-84, 1995.

ZARROUK., C. *Contribution a` l'e'tude d'une cyanophyce'e. Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthese de Spirulina maxima (Setch. et Gardner) Geitler.* 1966. PhD thesis. University of Paris, Paris, France.