



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

Camila Nader

**Efeito de diferentes condições de cultivo na produção de compostos orgânicos voláteis
pelas microalgas *Arthrospira platensis* e *Chlorella* sp.**

Florianópolis

2020

Camila Nader

**Efeito de diferentes condições de cultivo na produção de compostos orgânicos voláteis
pelas microalgas *Arthrospira platensis* e *Chlorella* sp.**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de Mestre em Aquicultura.

Orientador: Prof. Roberto Bianchini Derner, Dr.
Coorientador: Biol. Rafael Garcia Lopes, Dr.

Florianópolis

2020

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Nader, Camila

Efeito de diferentes condições de cultivo na produção de compostos orgânicos voláteis pelas microalgas *Arthrospira platensis* e *Chlorella* sp. / Camila Nader ; orientador, Roberto Bianchini Derner, coorientador, Rafael Garcia Lopes, 2020.

54 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós Graduação em Aquicultura, Florianópolis, 2020.

Inclui referências.

1. Aquicultura. 2. Irradiância. 3. Microalgas. 4. Compostos orgânicos voláteis. 5. Fases de crescimento. I. Derner, Roberto Bianchini. II. Lopes, Rafael Garcia. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós Graduação em Aquicultura. IV. Título.

Camila Nader

**Efeito de diferentes condições de cultivo na produção de compostos orgânicos voláteis
pela microalga *Arthrospira platensis* e *Chlorella* sp.**

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca examinadora
composta pelos seguintes membros:

Prof.(a) Roberto Bianchini Derner, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Leonardo Rubi Rörig, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina

Profa. Maria Cecília Miotto, Dra.
Centro Universitário Leonardo da Vinci

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado
adequado para obtenção do título de Mestre em Aquicultura.

Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Aquicultura

Prof. Roberto Bianchini Derner, Dr.
Orientador

Florianópolis, 2020.

Dedico esse trabalho à minha família e à todos que torcem por mim!

AGRADECIMENTOS

Agradeço pela vida e pela natureza. Agradeço à minha família, Saliba, Sandra, Marina e Izabele, por todo apoio, suporte e amor incondicional. Agradeço também a todos que contribuem e torcem por minhas conquistas!

Ao meu orientador, Roberto Bianchini Derner, pela oportunidade, confiança e todos os ensinamentos desde o início até o fim dessa jornada! Também ao meu coorientador Rafael Lopes pelas ajudas, paciência e ensinamentos!

A Equipe do Laboratório de Cultivo de Algas (LCA) por toda parceria e cumplicidade ao longo dessa caminhada. Meus sinceros agradecimentos a Yure, Herculano, Julia, Juliana, João, Jaimet e Marília, que estiveram sempre ao meu lado e contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho. Um agradecimento especial ao Herculano por toda ajuda e ensinamentos desde o início até o fim do experimento: montagem, execução e análises, sua participação foi primordial, muito obrigada. Outro agradecimento especial ao Yure, que prontamente sempre esteve disposto a me ajudar, de todas as maneiras possíveis, fosse para ler a dissertação, opinar, corrigir, contribuir, ou apenas para me acalmar! Sua ajuda foi indispensável e também serei eternamente grata!

Ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura pela oportunidade e contribuições. Ao Laboratório de Métodos de Extração e Separação (LAMES), em especial ao professor Nelson Roberto Antoniosi Filho e ao Emmanuel Bezerra D'Alessandro pela infraestrutura e parceria na realização de análises.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior Brasil - (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

As microalgas sintetizam uma ampla gama de biomoléculas, dentre essas os compostos orgânicos voláteis (COVs). Os COVs são considerados metabólitos secundários e apresentam funções alelopáticas nos ecossistemas, e diversas aplicações nas indústrias alimentícia, farmacêutica e de cosméticos têm sido propostas. A síntese de COVs pode variar de acordo com a composição química das microalgas, logo, sua síntese pode ser afetada por diversos fatores, dentre eles, luz e fase de crescimento. Nesse sentido, o objetivo desse trabalho foi determinar os efeitos de diferentes irradiâncias e de fases da curva de crescimento no perfil de COVs nas biomassas de *Arthrospira platensis* e *Chlorella* sp. Para isso, foram desenvolvidas culturas experimentais destas microalgas sob as irradiâncias de 200 e 1.000 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, e as biomassas foram separadas quando as culturas se encontravam em fase exponencial e estacionária de cultivo. O perfil de COVs foi obtido por meio de análises realizadas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) e a um *headspace*. Foram encontrados 12 exemplares de COVs nas biomassas de *A. platensis* e 34 nas biomassas de *Chlorella* sp., sendo que variações foram observadas em relação à síntese e à quantidade de COVs em cada condição de cultivo. Dos compostos encontrados, somente cinco foram comuns para as duas espécies. Em relação a *A. platensis*, a classe com maior representatividade no perfil de COVs foi a dos hidrocarbonetos, e o composto octadecano, que apresenta potencial aplicação na indústria alimentícia, apresentou maiores valores sob 1.000 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ na fase estacionária de crescimento. Por outro lado, nas biomassas de *Chlorella* sp., maiores valores foram encontrados de um constituinte da classe dos éteres sob irradiância de 200 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e na fase exponencial de cultivo, bem como uma variedade de compostos nitrogenados. Em ambas as microalgas foi relatada a presença de uma variedade de terpenoides, sendo que *Chlorella* sp. apresentou como diferença a presença do composto safranal. Em conclusão, os resultados obtidos confirmam que tanto a luz, quanto a fase de crescimento, influenciaram o perfil de COVs das duas espécies de microalgas, já que diferenças quantitativas e qualitativas foram observadas nas condições de cultivo avaliadas.

Palavras-chave: Aquicultura. Irradiância. Microalgas. Compostos orgânicos voláteis. Fases de crescimento.

ABSTRACT

Microalgae synthesize a wide range of biomolecules, among them, volatile organic compounds (VOCs). These are considered secondary metabolites and have allelopathic functions in ecosystems, also, many applications in the food, pharmaceutical and cosmetics industries have been proposed. The synthesis of VOCs can vary according to the chemical composition of the microalgae, therefore, their synthesis can be affected by several factors, such as, light and growth phase. In this sense, the objective of this work was to determine the influence of different irradiances and growth phases on the VOCs profile of *Arthrospira platensis* and *Chlorella* sp. For this, experimental cultures of these microalgae were developed in irradiances of 200 and 1,000 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, and the biomasses were separated in the exponential and stationary growth phases. The VOCs profile of each biomass was obtained through analyzes performed by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) and a headspace. Twelve VOCs were found in the biomasses of *A. platensis* and 34 in the biomasses of *Chlorella* sp., with variations being observed in relation to the synthesis and quantity of VOCs in each cultivation condition. Among the compounds found, only five were common for both species. Regarding *A. platensis* biomasses, hydrocarbons was the class with the greatest representation, and octadecane, which may present some applications in the food industry, was the predominant compound, with higher values under 1,000 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ in the stationary growth phase. On the other hand, in *Chlorella* sp., a compound that belongs to the ethers class had the highest values under 200 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ in the exponential phase of cultivation, as well as a variety of nitrogenous compounds. In both microalgae, the presence of a variety of terpenoids was reported, and *Chlorella* sp. presented one difference, the presence of safranal. In conclusion, the results obtained confirm that both the irradiance and growth phase influenced the VOCs profile of *A. platensis* and *Chlorella* sp, since quantitative and qualitative differences were observed in the cultivation conditions evaluated.

Keywords: Aquaculture. Irradiance. Microalgae. Volatile organic compounds. Growth phases.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Microfotografia da célula de <i>Arthrospira platensis</i> . Barra: 20 μm	12
Figura 2 - Micrografia das células de <i>Chlorella</i> sp. Barra: 10 μm	13
Figura 3 - Esquema das possíveis rotas bioquímicas de formação dos COVs.....	14
Figura 4 - Delineamento experimental aplicado para ambas as espécies: culturas submetidas à duas irradiâncias (200 e 1.000 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e separadas em duas fases de cultivo (exponencial e estacionária).	22
Figura 5- Curvas de crescimento de <i>Arthrospira platensis</i> cultivada em duas irradiâncias (200 e 1.000 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Os valores são expressos como a média \pm desvio padrão ($n=3$).	25
Figura 6 - Curvas de crescimento de <i>Chlorella</i> sp. cultivada em duas irradiâncias (200 e 1.000 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Os valores são expressos como a média \pm desvio padrão ($n=3$).	25
Figura 7 - Concentrações de ficocianina (PC), aloficocianina (APC) e ficoeritrina (mg g^{-1}) em células de <i>A. platensis</i> cultivadas em 200 e 1.000 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Os valores são expressos como a média \pm desvio padrão ($n=3$).....	27
Figura 8 - Concentrações de clorofila <i>a</i> (<i>Ca</i>), clorofila <i>b</i> (<i>Cb</i>) e carotenoides totais (<i>Ct</i>) (mg g^{-1}) em células de <i>Chlorella</i> sp. cultivadas em 200 e 1000 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Os valores são expressos como a média \pm desvio padrão ($n=3$).....	27
Figura 9 - Diagrama de ordenação da Análise de Principais Componentes (PCA) categorizada pela irradiância (A), 1.000 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e 200 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, e pela fase de crescimento (B), onde EXP corresponde à fase exponencial e EST estacionária para <i>Arthrospira platensis</i> e <i>Chlorella</i> sp.....	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Perfil de compostos orgânicos voláteis (% total de COVs) presentes nas biomassas de <i>A. platensis</i>	30
Tabela 2 - Perfil de compostos orgânicos voláteis (% total de COVs) presentes em <i>Chlorella</i> sp.	31
Tabela 2 - Perfil de compostos orgânicos voláteis (% total de COVs) presentes em <i>Chlorella</i> sp.	32

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
1.1	COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS (COVs)	13
1.2	OBJETIVOS.....	17
1.2.1	Objetivo Geral	17
1.2.2	Objetivos Específicos.....	18
2	ARTIGO CIENTÍFICO	19
2.1	INTRODUÇÃO.....	19
2.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	21
2.2.1	Material biológico e condições experimentais.....	21
2.2.2	Determinação da biomassa	21
2.2.3	Delineamento experimental.....	22
2.2.4	Determinação do teor de pigmentos	22
2.2.5	Determinação dos compostos orgânicos voláteis	23
2.2.6	Análise estatística	24
2.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
2.3.1	Biomassa.....	24
2.3.2	Teor de pigmentos	26
2.3.3	Compostos orgânicos voláteis.....	29
2.3.4	Comparações por análise multivariada.....	36
2.4	CONCLUSÃO.....	38
2.5	AGRADECIMENTOS	38
2.6	REFERÊNCIAS	38
	REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO.....	45

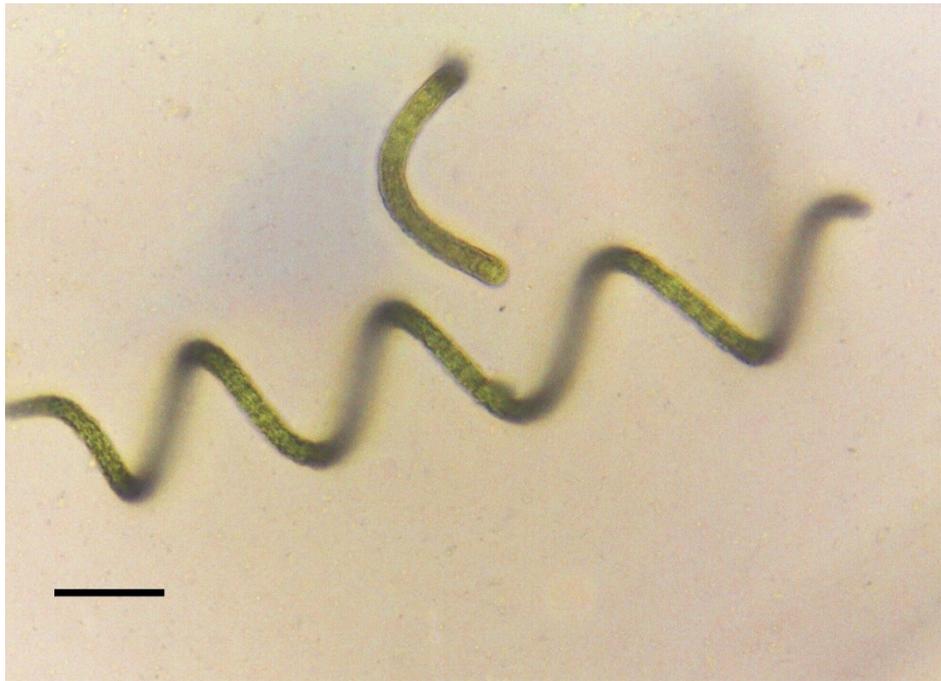
1 INTRODUÇÃO

O grupo das algas é composto por organismos diversos, tendo seus primeiros registros na era Proterozoica, por volta de três bilhões de anos atrás (LEE, 2008). As microalgas estão presentes neste grupo e podem ser encontradas em diversos ambientes, incluindo aquáticos e terrestres, e em uma diversidade de condições ambientais (MATA *et al.*, 2010). São em sua maioria fotoautotróficas obrigatórias, as quais, através da fotossíntese, convertem energia luminosa em energia química, que é empregada na assimilação e redução de CO₂ para a síntese de compostos como carboidratos e de biomassa (BARSANTI *et al.*, 2008).

As microalgas são a base de muitas cadeias tróficas aquáticas e estão envolvidas na ciclagem de nutrientes e na transferência de energia nestes ecossistemas, realizando grande parte da fotossíntese global e contribuindo para maior parte da produtividade primária total. (MURDOCK; WETZEL, 2009). Esses micro-organismos sintetizam uma ampla gama de bioprodutos, incluindo carboidratos, lipídios, proteínas, compostos voláteis e vitaminas, muitos destes com propriedades bioativas (antioxidantes, por exemplo) (BRENNAN; OWENDE, 2010). Por conta disto, as microalgas têm sido empregadas em diversas aplicações biotecnológicas como: nutrição humana; produção de compostos bioativos e na nutrição animal, como ocorre amplamente na aquicultura onde as microalgas desempenham papéis imprescindíveis na criação de moluscos e em fases larvais de crustáceos e peixes (BROWN *et al.*, 1997; KIRK; BEHRENS, 1999; MULLER-FEUGA, 2000; GROBBELAAR, 2004; DERNER *et al.*, 2006; GARRIDO-CARDENAS *et al.*, 2018). Ainda, são usadas como bioindicadoras de qualidade de água, no tratamento de efluentes líquidos e gasosos e também como biofertilizantes (RIZWAN *et al.*, 2018).

Arthrospira platensis (Figura 1), previamente conhecida como *Spirulina platensis* ou simplesmente Spirulina, é uma microalga procariótica, filamentosa, e que tem sido extensivamente estudada em diferentes áreas como na medicina e na indústria alimentícia (BEHESHTIPOUR *et al.*, 2012). Essa espécie demonstra alto potencial biotecnológico, uma vez que sua biomassa pode conter alto teor de proteínas, minerais e vitaminas (SWITZER, 1980), além de pigmentos como a ficocianina, aloficocianina e menores quantidades de ficoeritrina (WALTER *et al.*, 2011; AJAYAN *et al.*, 2012). Em 1981, a comercialização de Spirulina como alimento ou suplemento alimentar foi aprovada pela FDA (Food Drug Administration), o que garantiu ainda mais visibilidade para essa microalga (COSTA; MORAIS, 2013).

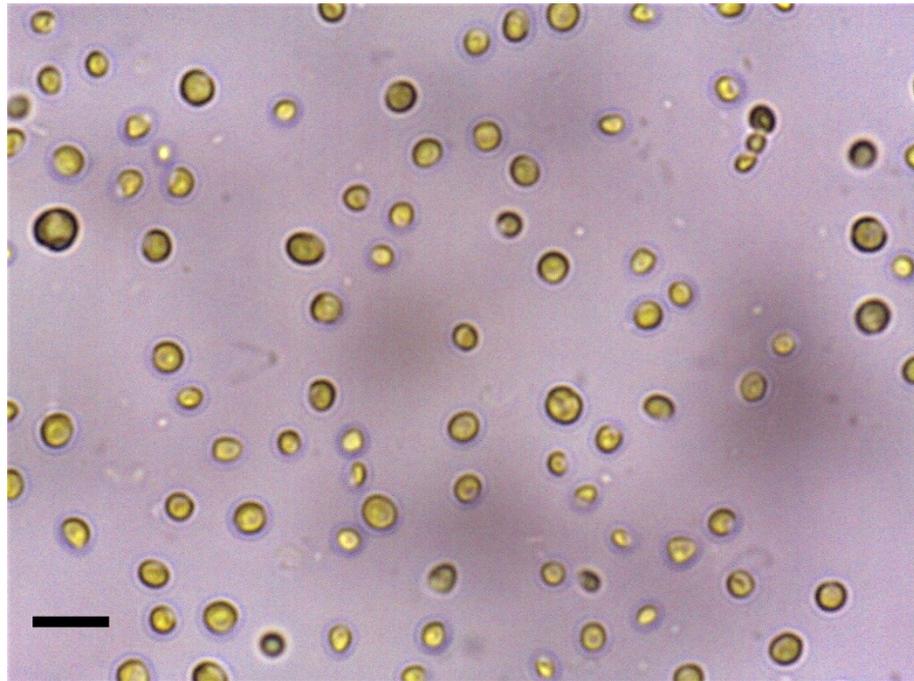
Figura 1 - Microfotografia da célula de *Arthrospira platensis*. Barra: 20 μm .



Fonte - Elaborada pela autora (2020).

Outras microalgas com grande aplicação biotecnológica são as diversas espécies do gênero *Chlorella* (Figura 2), que são clorofíceas, unicelulares e podem acumular em sua biomassa grandes quantidades de vitaminas, minerais e proteínas (VIJAYAVEL *et al.*, 2007). Microalgas desse gênero produzem uma variedade de pigmentos, que estão relacionados com a capacidade antioxidante desses organismos, sendo principais os carotenoides e clorofilas - particularmente luteína e clorofilas *a* e *b* (CHA *et al.*, 2010). Além disso, sob condições de estresse (p. ex., luz), apresentam a capacidade de sintetizar grandes quantidades de lipídios neutros, revelando um potencial para o uso como matéria-prima para a produção de biodiesel (LIU; HU, 2013).

Figura 2 - Micrografia das células de *Chlorella* sp. Barra: 10 μ m.



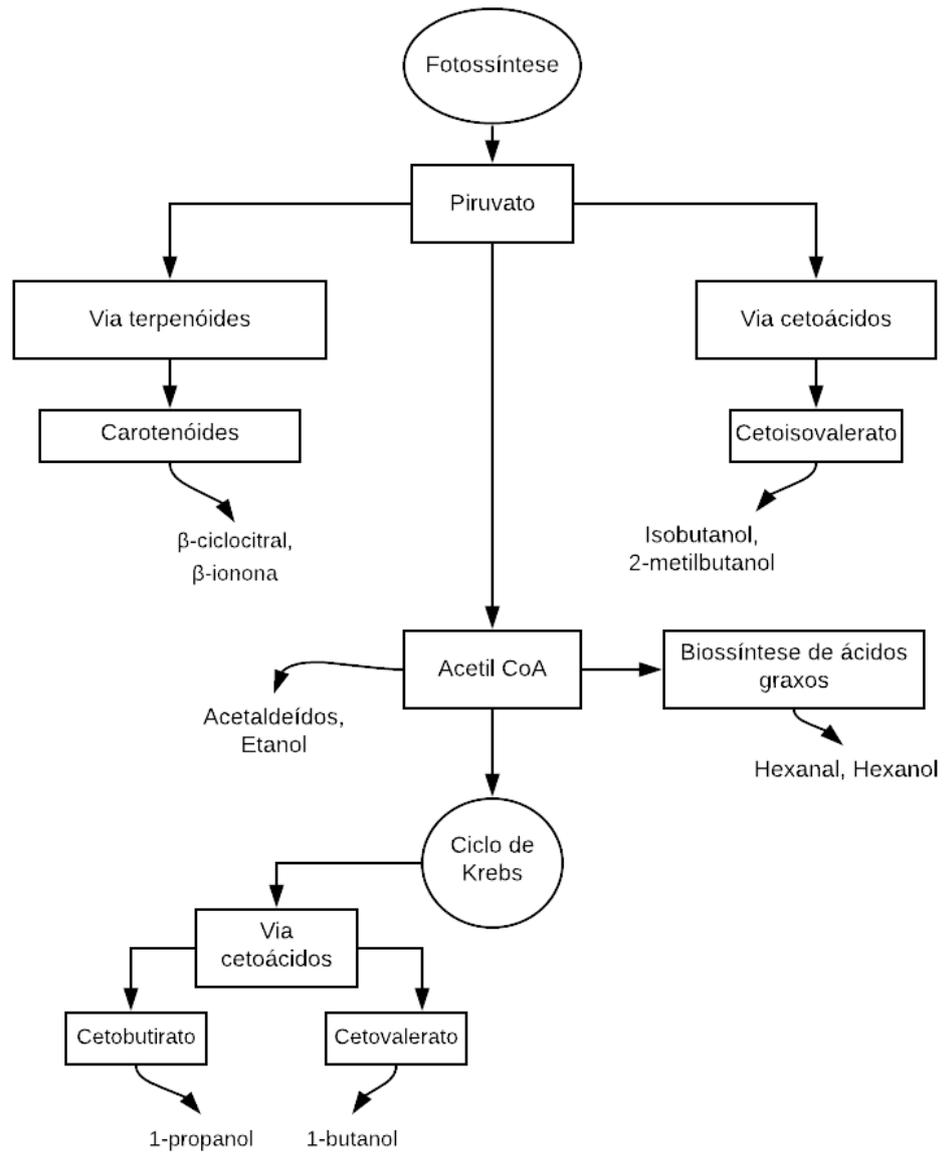
Fonte - Elaborada pela autora (2020).

1.1 COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS (COVs)

Dentre os compostos produzidos pelas microalgas estão os compostos orgânicos voláteis (COVs), metabólitos secundários que apresentam baixa a moderada hidrofília e baixo peso molecular. Esses compostos apresentam alta pressão de vapor em temperatura ambiente e, devido aos seus baixos pontos de ebulição, podem facilmente se transformar da fase líquida para a fase gasosa ou da fase sólida para a fase gasosa (sublimação) (ACHYUTHAN *et al.*, 2017). Devido a suas características, os COVs podem ser dissolvidos em água e também dissipados na fase gasosa na interface ar-água (FINK, 2007). Diversas classes de COVs são produzidas por microalgas, dentre estas: terpenos, compostos sulfurados, hidrocarbonetos, álcoois, aldeídos, ácidos carboxílicos, ácidos graxos, cetonas e ésteres (WATSON, 2003; SANTOS *et al.*, 2016).

A ocorrência de compostos orgânicos voláteis em microalgas é consequência do seu metabolismo, e diversas vias de biossíntese estão envolvidas na formação desses, podendo ser formados pela ação de enzimas ou por reações de degradação (Figura 3) (PINHEIRO *et al.*, 2019). Independentemente do modo nutricional, os COVs são formados a partir do piruvato, podendo seguir a via de síntese dos terpenoides, bem como a dos 2-cetoácidos (SANTOS *et al.*, 2016a).

Figura 3 - Esquema das possíveis rotas bioquímicas de formação dos COVs.



Fonte: Elaborada pela autora (2020).

A composição química das microalgas, e, conseqüentemente, a síntese dos COVs, pode ser afetada por diversos fatores como luz, temperatura, fase de crescimento, espécie e concentração de nutrientes (CHRISMADHA; BOROWITZKA, 1994; NELSON; COX, 2004; BONSANG *et al.*, 2010; SHAW; GANTT; MESKHIDZE, 2010; HU, 2013; ZUO *et al.*, 2012a, b; XU *et al.*, 2017; YE *et al.*, 2018). Esses fatores, quando fogem às condições ótimas para crescimento das microalgas, podem atuar gerando estresse aos organismos. Isso, por sua vez, pode acarretar em alterações no padrão metabólico e no desenvolvimento de estratégias, como a produção de metabólitos secundários (p. ex., os COVs), na tentativa de manter as taxas de crescimento e sobrevivência (HU, 2004; MARKOU; NERANTZIS, 2013). Nos cultivos, essa característica de adaptabilidade das microalgas permite que as condições impostas (p. ex.

estresse luminoso) possam ser utilizadas como ferramentas para produção de metabólitos de interesse (PALIWAL *et al.*, 2017).

Alguns estudos já reportaram a influência da luz (SHAW *et al.*, 2003; BONSANG *et al.*, 2015; MESKHIDZE *et al.*, 2015) e da fase de crescimento (MILNE *et al.*, 1995) na produção de COVs por microalgas. As cianobactérias, as diatomáceas e as algas verdes podem liberar terpenos (isopreno) de acordo com as condições de luz (SHAW *et al.*, 2003; WATSON, 2003; FINK, 2007; SMITH; BOYER; ZIMBA, 2008) e esse é também o fator primário para a produção de geosmina e 2-metilisoborneol (2-MIB) (SAADOUN *et al.*, 2001; ZHANG *et al.*, 2009; LI *et al.*, 2012b;). Isoprenos pertencem a classe dos terpenoides, são sintetizados por meio da via metileritritol-4-fosfato (MEP) (ROHMER *et al.*, 1993) e sua emissão pode ser atenuada pela luz. Isso, pois a disponibilidade de cofatores energéticos e intermediários de carbono aumenta a disponibilidade de dimetilalil pirofosfato (DMAPP), precursor imediato do isopreno e de monoterpenos no MEP (RASULOV *et al.*, 2009; NIINEMETS; SUN, 2015).

Similarmente, os COVs derivados de carotenoides e de ácidos graxos são produtos de degradação de componentes da membrana, logo, a exposição de microalgas à elevadas irradiâncias pode levar ao aumento da produção desses compostos (WALSH; JONES; DUNSTAN, 1998). Groene (1995) relatou que as limitações nutricionais, a fase de crescimento e a exposição à luz influenciam fortemente o conteúdo de dimetil-sulfônico-propionato (DMSP) em microalgas. Ainda, em um estudo realizado por Mincer e Alcher (2016), a produção de metanol por dinoflagelados e cianobactérias foi máxima durante o início da fase estacionária de crescimento. Por outro lado, Scarrat e Moore (1999) observaram que os níveis de clorofórmio foram máximos durante a fase exponencial de crescimento de *Porphyridium purpureum*. Alguns estudos já relataram também que as microalgas *Microcystis flos-aquae* e *M. aeruginosa* (típicas formadoras de florações de algas nocivas) cultivadas em meios de cultura com diferentes formas e quantidades de fósforo e nitrogênio, liberaram diferentes teores e classes de COVs (XU *et al.*, 2017; YE, 2018; ZUO *et al.*, 2018a; ZUO, 2018b;).

No atual cenário global em que maiores índices de poluição são observados, a eutrofização de corpos aquáticos tem se tornado um fenômeno recorrente. Como consequência, um aumento de problemas relacionados ao odor da água devido à floração de diversos microorganismos tem sido observado. O 2-MIB e a geosmina, já citados anteriormente e produzidos por diversas espécies de microalgas, são os compostos causadores de odor de terra e lama mais conhecidos (PAERL, 1988; HAYES; BURCH, 1989; YOO, 1995; STEFFENSEN, 2008; BLÁHA *et al.*, 2009). Esses compostos podem afetar a qualidade do abastecimento de água para população, a pesca e também a aquicultura, como no caso de *off flavor* na carne de animais

aquáticos (WATSON, 2004; MILOVANOVIC *et al.*, 2015). Logo, a compreensão da influência de fatores ambientais na produção de COVs pode contribuir com monitoramento de corpos d'água, auxiliando na instituição de medidas corretivas, bem como na redução de eventuais prejuízos (ACHYUTHAN *et al.*, 2017; REESE, 2019).

Em microalgas, os COVs podem ser produzidos como mecanismo de detoxificação, como por exemplo na conversão do selênio (Se) em Se-COV, que pode apresentar efeito benéfico no crescimento e desenvolvimento desses organismos (produção de selenoproteínas) (OBATA *et al.*, 2004). Além disso, esses compostos podem desempenhar papel de proteção contra a herbivoria, uma vez que as microalgas são os principais produtores primários nos ecossistemas aquáticos, servindo como alimento de herbívoros (por exemplo, aos moluscos filtradores e aos crustáceos omnívoros) (JÜTTNER, 2001; JÜTTNER, 2005; FINK, 2007).

Muitos dos COVs sintetizados por microalgas possuem intensas propriedades olfativas, motivo pelo qual apresentam potencial aplicação comercial para as indústrias de bebidas, alimentos e perfumes, já que contribuem tanto para o sabor, quanto para o aroma (ROWAN, 2011). Vale ressaltar que a preferência por compostos derivados de fontes naturais já permitiu a descoberta de uma variedade de odores produzidos por microrganismos como as microalgas, o que continuamente leva à exploração dessa linha de pesquisa (BERGER, 2009). Em ostras, por exemplo, Pennarun (2003) relatou que a dieta microalgal modificou o perfil de ácidos graxos e aldeídos do organismo (dos quais grande parte dos COVs derivam), logo, a incorporação de biomassa de microalgas nos cultivos tem a capacidade de influenciar também as propriedades odoríferas e sápidas. Diversos compostos voláteis pertencentes à classe dos terpenoides, como a β -ionona e o β -ciclocitral, são utilizados como aromatizantes, e já foram encontrados no perfil de compostos voláteis de *Arthrospira platensis* (MILOVANOVIC *et al.*, 2015) e de *Chlorella* sp. (ABDEL-BAKY *et al.*, 2002; VAN DURME *et al.*, 2013). Além disso, esses compostos despertam interesse também na indústria farmacêutica, uma vez que estudos reportam a existência de compostos voláteis com atividades antioxidante, anticâncer e antimicrobiana (MBATI *et al.*, 1994; OZDEMIR *et al.*, 2004; MISHRA; SHREE, 2007; GENOVESE *et al.*, 2009; BRUNO *et al.*, 2015).

Em plantas superiores, a emissão de COVs pode atuar inibindo o crescimento de outras espécies competitivas, como por exemplo ervas daninhas (ARIMURA *et al.*, 2010; PUIG *et al.*, 2018). Similarmente, compostos como geosmina, 2-MIB, β -ionona, β -ciclocitral, alguns álcoois, ácidos graxos e aldeídos de cadeia linear já foram apontados por apresentarem propriedades inibitórias do crescimento de outros organismos, o que reforça a ideia de que possam agir como compostos alelopáticos na comunidade fitoplantônica (IKAWA; SASNER;

HANEY; 2001). O fenômeno alelopatia, por sua vez, é descrito como o efeito direto ou indireto (na maioria das vezes negativo) de uma espécie sobre outra através da produção e liberação de compostos químicos no ambiente (RICE, 1984; LAMPERT; SOMMER, 1987). Weir *et al.* (2004), Baldwin *et al.* (2006), Kessler *et al.* (2006) demonstraram que COVs produzidos em condições de estresse atuam na transferência de mensagens para outras células com objetivo de defesa e garantia de seu próprio crescimento. Adicionalmente, determinados COVs sintetizados por *C. vulgaris* já foram descritos por apresentarem efeitos inibitórios na atividade da α -amilase e no crescimento de grãos de cevada (ABDEL-BAKY *et al.*, 2002), o que indica que esses compostos produzidos por microalgas também podem ter efeitos alelopáticos nas plantas superiores.

Ademais, considerando que projeções estimam que a produção de alimento terá que aumentar ao longo dos próximos anos (FAO, 2017) e que constantemente a indústria de fertilizantes enfrenta um esgotamento de recursos e problemas relacionados à segurança alimentar e poluição ambiental (PEÑUELAS *et al.*, 2013; CONLEY *et al.*, 2009), o uso de fontes naturais (p. ex., microalgas) surge como uma interessante alternativa no manejo do estresse, das pragas e no aumento da produtividade na agricultura.

Sendo assim, considerando que *Arthrospira platensis* e *Chlorella* sp. são as microalgas mais cultivadas no mundo, demonstram alto potencial biotecnológico e, além disso, já possuem um setor produtivo e mercado bem estabelecidos, explorar novos bioprodutos a partir das mesmas pode propiciar novos mercados e interesses (Switzer, 1980; Vijayavel *et al.* 2007; Cha *et al.* 2010; Walter *et al.* 2011; Ajayan *et al.* 2012). Desse modo, e tendo em vista as possíveis aplicações biotecnológicas dos compostos orgânicos voláteis, esse trabalho teve como objetivo o conhecimento dos efeitos de diferentes irradiâncias e de fases da curva de crescimento na síntese de COVs em culturas das microalgas *A. platensis* e *Chlorella* sp.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

Determinar a influência de diferentes irradiâncias e de fases da curva de crescimento no perfil de compostos orgânicos voláteis presentes nas biomassas obtidas de culturas de *Arthrospira platensis* e *Chlorella* sp.

1.2.2 Objetivos Específicos

Determinar o efeito de diferentes irradiâncias no perfil de COVs presentes nas biomassas de *Arthrospira platensis* e de *Chlorella* sp.;

Determinar o efeito da fase da curva de crescimento no perfil de COVs presentes nas biomassas de *Arthrospira platensis* e de *Chlorella* sp.;

2 ARTIGO CIENTÍFICO

Artigo a ser submetido à Revista Journal of Applied Phycology (ISSN: 0921-8971, Qualis: A2, Área: Zootecnia e Recursos Pesqueiros).

Efeito de diferentes condições de cultivo na produção de compostos orgânicos voláteis pelas microalgas *Arthrospira platensis* e *Chlorella* sp.

Camila Nader^{1*}, Herculano Cella¹, Rafael Garcia Lopes¹, Carlos Yure B. Oliveira², Emmanuel Bezerra D'Alessandro³, Nelson Roberto Antoniosi Filho³ & Roberto Bianchini Derner¹

¹Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Aquicultura, Laboratório de Cultivo de Algas, Florianópolis, Brasil

²Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Pesca e Aquicultura, Laboratório de Produção de Alimento Vivo, Recife, PE, Brasil

³Universidade Federal de Goiás, Departamento de Química, Laboratório de Métodos de Extração e Separação, Goiânia, Brasil

*Autor correspondente: camilanader1@gmail.com

2.1 INTRODUÇÃO

Os compostos orgânicos voláteis (COVs) produzidos por microalgas são metabólitos secundários pertencentes às mais diversas classes como: terpenos, compostos sulfurados, hidrocarbonetos, álcoois, aldeídos, ácidos carboxílicos, cetonas e ésteres (Watson, 2003; Santos et al. 2016). Esses compostos apresentam baixa a moderada hidrofília, baixo peso molecular, podem ser dissolvidos em água e dissipados na fase gasosa na interface ar-água (Fink 2007). Além disso, apresentam alta pressão de vapor em temperatura ambiente e, devido ao seu baixo ponto de ebulição, podem facilmente se transformar da fase líquida para a fase gasosa ou da fase sólida para a fase gasosa (Achyuthan et al. 2017).

A ocorrência de COVs em microalgas é consequência do seu metabolismo, e diversas vias de biossíntese estão envolvidas na formação desses, podendo ser formados, por exemplo, por ação de enzimas ou por reações de degradação (Pinheiro et al. 2019). Independentemente do metabolismo nutricional, os COVs são formados a partir do piruvato, podendo seguir a via de síntese de terpenoides, bem como dos 2-cetoácidos (Santos et al. 2016a).

A composição química das microalgas, e, conseqüentemente, a síntese dos COVs, podem ser afetadas por diversos fatores como luz, temperatura, fase de crescimento, espécie e concentração de nutrientes (Chrismadha e Borowitzka, 1994; Nelson e Cox, 2004; Bonsang et al. 2010; Shaw et al. 2010; Hu, 2013; Zuo et al. 2012a, b; Xu et al. 2017; Ye et al. 2018). Logo, a imposição de diferentes condições de cultivo, que muitas vezes geram estresse ao organismo, podem levar à produção de metabólitos secundários (p. ex. os COVs) como estratégia de sobrevivência e tentativa de preservar as taxas de crescimento (Hu, 2004; Markou e Nerantzis, 2013). Essa característica de adaptabilidade das microalgas permite que as condições impostas possam ser utilizadas como ferramentas para produção de metabólitos de interesse (Paliwal et al. 2017).

Muitos dos COVs sintetizados por microalgas possuem intensas propriedades olfativas, motivo pelo qual são explorados comercialmente para indústrias de bebidas, alimentos e perfumes, já que contribuem tanto para o sabor, quanto para o aroma (Rowan, 2011). Em ostras, por exemplo, Pennarun (2003) relatou que a dieta microalgal modificou o perfil de ácidos graxos e aldeídos do organismo (dos quais grande parte dos COVs derivam), logo, a incorporação de biomassa de microalgas nos cultivos tem a capacidade de influenciar também as propriedades odoríferas e sápidas. É interessante ressaltar que, a preferência por compostos derivados de fontes naturais já rendeu a descoberta de uma variedade de odores produzidos por microrganismos como as microalgas, e continuamente força a exploração dessa linha de pesquisa (Berger, 2009). Adicionalmente, esses compostos despertam também, interesse na indústria farmacêutica, uma vez que estudos já reportaram COVs com atividades antioxidante, anticâncer e antimicrobiana (Mbatl et al. 1994; Ozdemir et al. 2004; Mishra e Shree, 2007; Genovese et al. 2009; Bruno et al. 2015).

Uma vez que as microalgas são os principais produtores primários nos ecossistemas aquáticos, servindo como alimento para herbívoros (moluscos filtradores e crustáceos omnívoros, por exemplo), à síntese dos COVs pode ser atribuído o papel de proteção contra a herbivoria (Jüttner, 2001; Jüttner, 2005; Fink, 2007). Esses compostos também podem apresentar propriedades inibitórias de outros organismos, o que reforça a ideia de que possam agir como compostos alelopáticos na comunidade fitoplantônica (Ikawa et al. 2001).

Similarmente, dado que estudos já relataram indícios de atividade alelopática de COVs produzidos por microalgas em plantas superiores (Abdel-Baky et al. 2002), e que constantemente a indústria de fertilizantes enfrenta um esgotamento de recursos e problemas relacionados à segurança alimentar e poluição ambiental (Peñuelas et al. 2013; Conley et al.

2009), o uso de fontes naturais (p. ex., microalgas) surge como uma potencial alternativa no manejo do estresse, das pragas e no aumento da produtividade na agricultura.

Sendo assim, considerando que *Arthrospira platensis* e *Chlorella* sp. são as microalgas mais cultivadas no mundo, demonstram alto potencial biotecnológico e, além disso, já possuem um setor produtivo e mercado bem estabelecidos, explorar novos bioprodutos a partir das mesmas pode propiciar novos mercados e interesses (Switzer, 1980; Vijayavel et al. 2007; Cha et al. 2010; Walter et al. 2011; Ajayan et al. 2012). Desse modo, e tendo em vista as possíveis aplicações biotecnológicas dos compostos orgânicos voláteis, esse trabalho teve como objetivo o conhecimento dos efeitos de diferentes irradiâncias e de fases da curva de crescimento na síntese de COVs em culturas das microalgas *A. platensis* e *Chlorella* sp.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Material biológico e condições experimentais

Para esse estudo foram desenvolvidas culturas experimentais de *Arthrospira platensis* (cepa ATCC 29408) e de *Chlorella* sp. (cepa isolada de uma lagoa de tratamento de efluentes, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil) ambas disponíveis no Laboratório de Cultivo de Algas (LCA) da Universidade Federal de Santa Catarina.

As culturas experimentais foram desenvolvidas em frascos tipo Schott de borossilicato de 2 L contendo meio LCA-AD (Oliveira et al. 2020), sendo que ao meio de cultura de *A. platensis* foram adicionados bicarbonato de sódio (10 g L^{-1}) e carbonato de sódio (5 g L^{-1}). As culturas foram mantidas em temperatura de $24 \text{ }^{\circ}\text{C}$, com agitação constante através do borbulhamento de ar atmosférico enriquecido com 0,2% de CO_2 (v/v) e em fotoperíodo contínuo (24:0).

2.2.2 Determinação da biomassa

A biomassa (peso seco) foi estimada indiretamente com o auxílio de um Turbidímetro (HI 93703, Hanna, 890 nm) pela aplicação das equações 1 e 2, respectivamente, para as microalgas *A. platensis* ($R^2 = 0,9905$) e *Chlorella* sp. ($R^2 = 0,9916$):

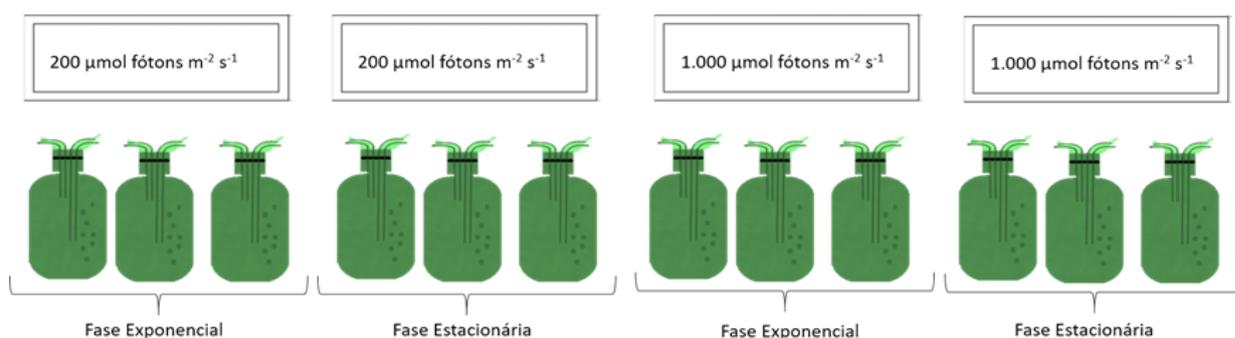
$$\text{Biomassa (g L}^{-1}\text{)} = \text{ABS}_{890} * 0,0019 + 0,0196 \quad (1)$$

$$\text{Biomassa (g L}^{-1}\text{)} = \text{ABS}_{890} * 0,0008 + 0,0795 \quad (2)$$

2.2.3 Delineamento experimental

Duas variáveis independentes foram utilizadas para determinar o efeito das condições de cultivo na síntese de COVs por *A. platensis* e *Chlorella* sp.: (1) irradiância e (2) fase da curva de crescimento (Figura 4). Em relação à irradiância, os valores aplicados de 200 e 1.000 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, foram previamente determinados por conta dos resultados das Curvas de Fotoss\u00edntese versus Irradi\u00e2ncia (P_{XI}) realizadas para ambas as esp\u00e9cies, sendo que os valores indicaram uma irradi\u00e2ncia na qual a produ\u00e7\u00e3o de oxig\u00eanio dissolvido n\u00e3o estivesse saturada e uma quando j\u00e1 se encontrava em satura\u00e7\u00e3o. Para a curva P_{XI} foi empregado um painel de LED (75 W) e as irradi\u00e2ncias foram determinadas com aux\u00edlio de um Quant\u00f4metro (LI-250A, LICOR). Em rela\u00e7\u00e3o \u00e0 fase da curva de crescimento, com os dados de curvas de crescimento realizadas previamente, as biomassas foram coletadas quando as culturas se encontravam nas fases exponencial e estacion\u00e1ria.

Figura 4 - Delineamento experimental aplicado para ambas as esp\u00e9cies: culturas submetidas \u00e0 duas irradi\u00e2ncias (200 e 1.000 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e separadas em duas fases de cultivo (exponencial e estacion\u00e1ria).



Fonte: Elaborada pela autora (2020).

2.2.4 Determina\u00e7\u00e3o do teor de pigmentos

Para a determina\u00e7\u00e3o do teor de pigmentos da biomassa de *Arthrospira platensis* e de *Chlorella* sp., amostras de 15 mL foram coletadas de cada unidade experimental e filtradas em microfiltros de fibra de vidro com porosidade de 0,45 μm e congeladas a $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ para posterior an\u00e1lise. Os pigmentos de *Chlorella* sp., clorofila *a* e carotenoides totais, foram extra\u00eddos com acetona 90% e armazenados a $5 \text{ }^\circ\text{C}$ por 24 h para completa extra\u00e7\u00e3o. A quantifica\u00e7\u00e3o foi realizada utilizando um espectrofot\u00f4metro (Genesys 10 vis, Thermo) nos comprimentos de onda 480, 647 e 664 nm, de acordo com as seguintes equa\u00e7\u00f5es (Jeffrey e Humphrey 1975):

$$C_a = 11,93 \times A_{664} - 1,93 \times A_{647} \quad (3)$$

Onde: C_a representa a concentração de clorofila a (mg L^{-1}), A_{664} e A_{647} as absorvâncias de 664 e 647nm, respectivamente.

$$C_t = A_{480} - 0,0012 \times C_a \times 0,0047 \times C_b \quad (4)$$

Onde: C_t representa a concentração de carotenoides totais (mg L^{-1}) e A_{480} a absorvância de 480 nm.

Da biomassa de *A. platensis*, os pigmentos ficocianina (PC), aloficocianina (APC) e ficoeritrina (PE) foram extraídos de acordo com Bennett e Bogorad (1973), sendo realizada apenas uma alteração em relação ao tempo e temperatura de congelamento das células após sonicação, que foi de 1 h em -80 °C. Todas as concentrações dos pigmentos foram normalizadas como mg g^{-1} de biomassa seca.

2.2.5 Determinação dos compostos orgânicos voláteis

Para as análises da identificação e quantificação dos COVs, amostras (2 L) das culturas de cada condição de cultivo foram centrifugadas a $2.950 \times g$, por 10 min no caso de *A. platensis* e a $15.157 \times g$, por 15 min, no caso de *Chlorella* sp. A biomassa sedimentada (separada) foi coletada, congelada e mantida a -80 °C, e posteriormente liofilizada em um liofilizador (70040, Labconco, EUA).

Para a identificação dos compostos orgânicos voláteis foram dispostas alíquotas de 200 mg de biomassa seca em vials para cromatografia de 20 mL. As análises foram realizadas em um cromatógrafo a gás (Agilent 7890B) acoplado ao espectrômetro de massas triplo quadrupolo (Agilent 7000D) e também a um *headspace*. Gás Hélio foi utilizado como gás de arraste com velocidade constante de $32,405 \text{ cm s}^{-1}$ e a temperatura do injetor foi de 300 °C no modo *splitless*. Foi utilizada a coluna HP-5MS (30 m x 0.25 mm x 0.25 μm) e o forno foi operado inicialmente a uma temperatura de 40 °C por 3 min, com taxa de aquecimento de 5 °C min^{-1} até 230 °C e permanência de 2 min nessa temperatura, seguida de um aumento de 10 °C min^{-1} até 300 °C, totalizando 50 min de análise. A temperatura da interface e fonte de íons foi mantida em 300 °C e o espectrômetro de massas foi mantido em modo *scan* com faixa massa/carga (m/z) de 20 a 400. O agitador e a seringa do *headspace* foram mantidos em temperatura de 140 °C e 145 °C, respectivamente, durante 15 min de extração, com o agitador em rotação até 750 rpm.

O índice de retenção (IR) para todos os compostos foi determinado de acordo com o método de Kovats, usando padrões de n-alcenos (C6-40) Sigma-Aldrich LRAB9318. A identificação dos compostos foi feita pela comparação do IR calculado com o sugerido pela biblioteca de espectro de massas NIST.

2.2.6 Análise estatística

Para todas as figuras e tabelas os dados foram apresentados como média \pm desvio padrão ($n = 3$) das três réplicas independentes. Os dados quantitativos dos COVs foram testados quanto à homogeneidade de variâncias (teste de Levene) e à normalidade (teste de Shapiro-Wilk). Como essas premissas foram atendidas, foi aplicado o teste paramétrico t de Student (GraphPad Prism 7), com 5% de significância. As comparações múltiplas usando esse teste foram realizadas entre as diferentes irradiâncias (200 e 1000 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e as fases da curva de crescimento (exponencial e estacion\u00e1ria). Foram realizadas an\u00e1lises de componentes principais (PCA) em *software* R Studio [®] para determinar poss\u00edveis padr\u00f5es na presen\u00e7a de COVs em fun\u00e7\u00e3o da irradi\u00e2ncia e da fase de crescimento, usando uma correla\u00e7\u00e3o para produzir uma matriz de produtos cruzados.

2.3 RESULTADOS E DISCUSS\u00c3O

2.3.1 Biomassa

Nas Figuras 5 e 6 s\u00e3o apresentadas as curvas de crescimento em biomassa de *A. platensis* e *Chlorella* sp. submetidas as irradi\u00e2ncias de 200 e 1.000 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$. \u00c9 poss\u00edvel observar nestas figuras que as culturas de *A. platensis* foram iniciadas com biomassa de 0,9 g L⁻¹ e de *Chlorella* sp. 0,6 g L⁻¹, sendo que para ambas as esp\u00e9cies o emprego da irradi\u00e2ncia de 1.000 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ permitiu que as culturas alcan\u00e7assem maiores valores de biomassa. Em *A. platensis*, a maior irradi\u00e2ncia resultou em uma biomassa m\u00e1xima de 4,12 g L⁻¹ em nove dias de cultivo, enquanto as culturas submetidas a menor irradi\u00e2ncia alcan\u00e7aram 3,82 g L⁻¹ em 12 dias de cultivo. Para *Chlorella* sp., a biomassa m\u00e1xima alcan\u00e7ada em 1.000 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ocorreu no 16\u00b0 dia, 6,04 g L⁻¹, quase duas vezes maior que em irradi\u00e2ncia de 200 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 3,18 g L⁻¹ em 15 dias. Conforme as curvas, as culturas de *A. platensis* se encontravam em fase exponencial de crescimento no 6\u00b0 dia, e em fase estacion\u00e1ria no 9\u00b0 (1.000 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e 12\u00b0 (200 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) dias. Ou seja, \u00e9 poss\u00edvel inferir que,

provavelmente, a maior irradiância levou a uma maior atividade fotossintética, resultando em maior consumo de nutrientes e a um início antecipado da fase estacionária. Já em *Chlorella* sp. as culturas entraram em fase exponencial no 9º dia e em fase estacionária no 17º dia, para ambas as irradiâncias.

Figura 5- Curvas de crescimento de *Arthrospira platensis* cultivada em duas irradiâncias (200 e 1.000 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Os valores são expressos como a média \pm desvio padrão ($n=3$).

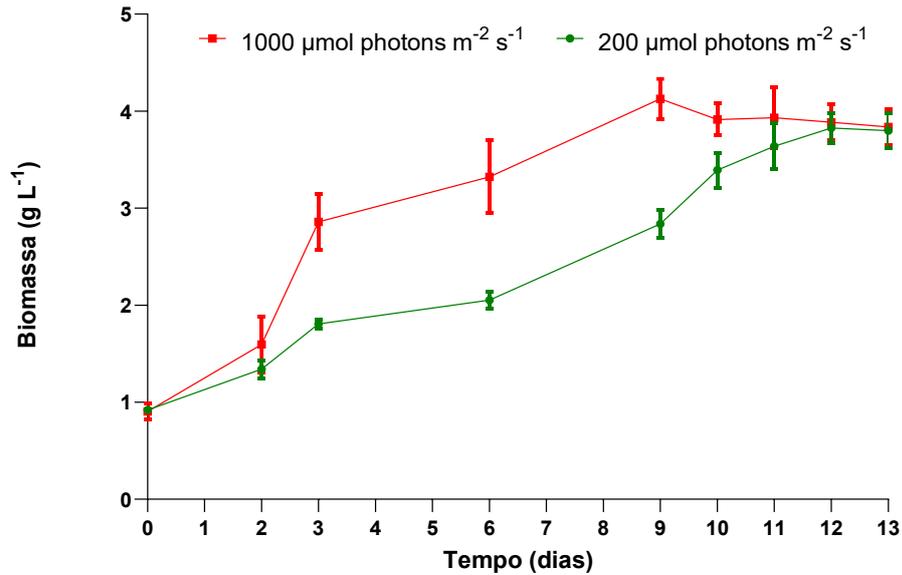
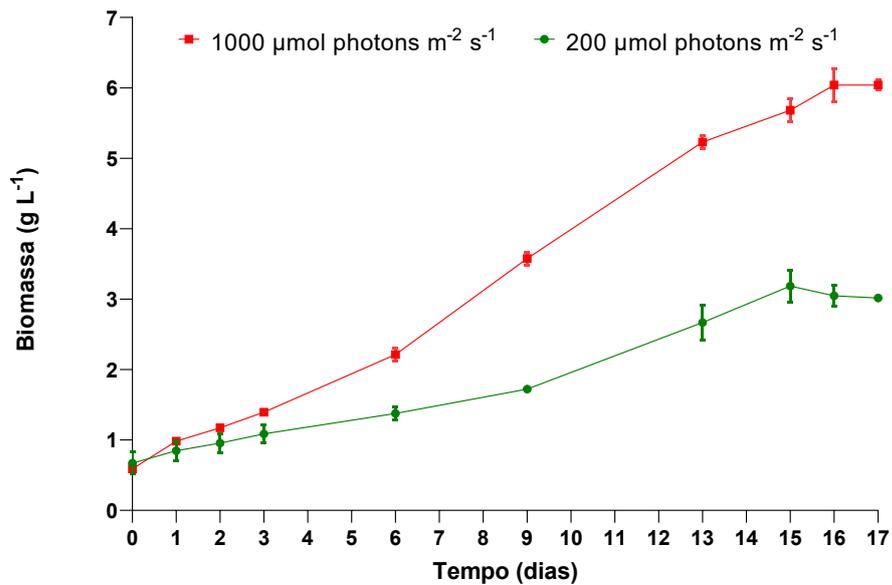


Figura 6 - Curvas de crescimento de *Chlorella* sp. cultivada em duas irradiâncias (200 e 1.000 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Os valores são expressos como a média \pm desvio padrão ($n=3$).



De acordo com Wagner et al. (2006), o aumento da irradiância leva a uma maior atividade fotossintética e a uma maior concentração de biomassa na cultura, uma vez que há

maior fixação de carbono e maior síntese de moléculas essenciais para o crescimento, fato que foi observado nesse estudo. No entanto, vale ressaltar que isso ocorre até o momento em que a intensidade da luz se torna limitante. Em cianobactérias, segundo Laczkó (1985) e Laczkó e Kaiseva (1987), a alta intensidade de luz que resulta em uma alta atividade fotossintética pode ser atribuída ao alto estado de agregação de complexos de pigmento-proteína, resultando em maior transferência de energia para o fotossistema II.

Novriadi e Proano (2018) observaram que culturas de *Chlorella vulgaris* submetidas à irradiância, de $796 \mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ apresentaram maior biomassa quando comparadas ao outro tratamento, de $129 \mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, durante o mesmo intervalo de tempo. Esse mesmo comportamento foi encontrado por Metsoviti et al. (2019), que afirmaram que o crescimento dessa mesma microalga foi estritamente dependente da intensidade da luz, o que corrobora com os achados desse estudo.

Além disso, cabe ressaltar que diferentes características fisiológicas estão presentes nas distintas fases de crescimento (dias de separação das amostras). Segundo Lee et al. (2015), na fase exponencial as células crescem e se dividem em função exponencial do tempo, e é também quando a intensidade da luz e os nutrientes não exercem tanta influência no crescimento das microalgas. Ainda, segundo os mesmos autores, na fase estacionária, a taxa de crescimento tende a chegar a zero, uma vez que há o esgotamento dos nutrientes do meio de cultura. Nesta fase, os produtos de armazenamento de carbono, como amido e lipídio neutro, costumam ser acumulados.

2.3.2 Teor de pigmentos

Com o intuito de confirmar que as microalgas se encontravam em condições fisiológicas diferentes ao serem submetidas às duas irradiâncias, os teores de pigmentos de ambas as espécies foram quantificados. Em *A. platensis* foram verificadas as quantidades de ficobiliproteínas, já que os espectros de ação da fotossíntese mostram que a maior parte da energia luminosa canalizada para o fotossistema II é absorvida pelas ficobiliproteínas, sendo baixas as contribuições dos carotenóides e clorofilas (Haxo e Blinks, 1950; Fork e Ames, 1969; Lemasson et al. 1973; Campbell et al. 1998). Na Figura 7 são apresentadas as concentrações de ficocianina (PC), aloficocianina (APC) e ficoeritrina (PE) nas células de *A. platensis*, e na Figura 8, as concentrações das clorofilas *a*, *b* e de carotenoides totais nas células de *Chlorella* sp.

Figura 7 - Concentrações de ficocianina (PC), aloficocianina (APC) e ficoeritrina (mg g^{-1}) em células de *A. platensis* cultivadas em 200 e 1.000 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Os valores s\u00e3o expressos como a m\u00e9dia \pm desvio padr\u00e3o ($n=3$).

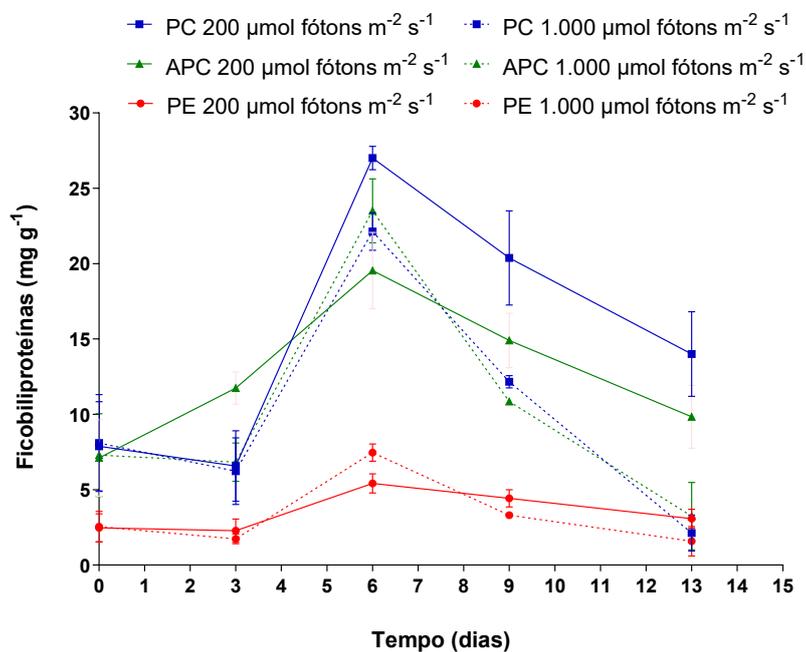
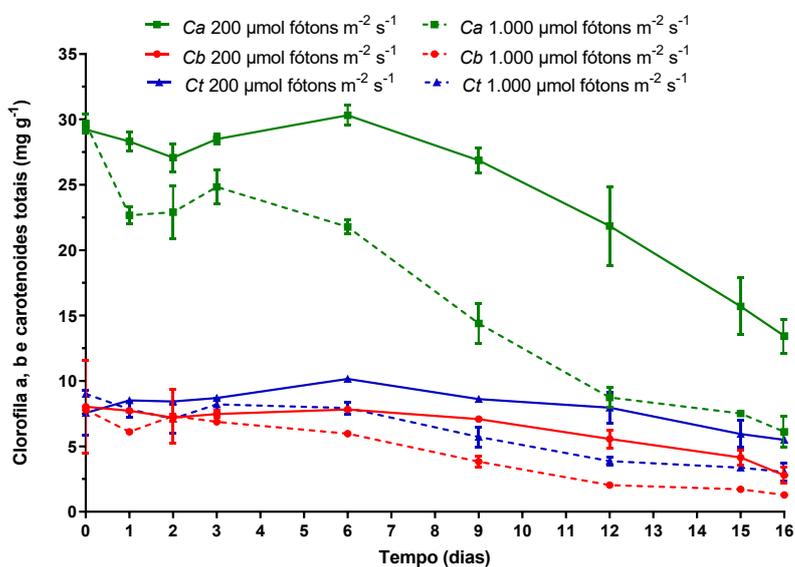


Figura 8 - Concentrações de clorofila *a* (*Ca*), clorofila *b* (*Cb*) e carotenoides totais (*Ct*) (mg g^{-1}) em células de *Chlorella sp.* cultivadas em 200 e 1000 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Os valores s\u00e3o expressos como a m\u00e9dia \pm desvio padr\u00e3o ($n=3$).



Em rela\u00e7\u00e3o aos pigmentos de *A. platensis*, maiores concentra\u00e7\u00f5es foram observadas no 6\u00b0 dia de cultivo, em 200 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para PC, o que est\u00e1 em concord\u00e2ncia com Shyam e Sane (1989) e 1.000 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para APC e PE. Ap\u00f3s o sexto dia, um decr\u00e9scimo na concentra\u00e7\u00e3o de pigmentos foi observado, sendo esse mais acentuado sob 1.000 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, o que corrobora com os achados de Akimoto et al (2012), que observaram menores teores de pigmentos em culturas sujeitas a elevadas irradi\u00e2ncias.

Hattori e Fujita (1959), Bennett e Bogorad (1973) e Tandeau de Marsac (1991) relataram que os tamanhos e composição dos ficobilissomos das cianobactérias podem ser alterados conforme as condições de crescimento. Nesse sentido, Shyam e Sane (1989) também mencionaram que, para evitar a redução da atividade fotossintética e do conteúdo de pigmentos com o objetivo de mitigar o risco de dano foto oxidativo, os valores de ficocianina e outros pigmentos podem mudar sob diferentes condições de luz. No presente estudo, o total de ficobiliproteínas (soma dos pigmentos previamente citados) foi maior sob $200 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Resultados semelhantes foram encontrados por Rizzo et al. (2015) em um experimento que avaliou a produ\u00e7\u00e3o de ficobiliprote\u00ednas em diferentes intensidades e qualidades de luz, e foram de acordo com Mur e Elema, (1983) e Grossman et al. (1993) que afirmam que h\u00e1 maior produ\u00e7\u00e3o desses pigmentos por cianobact\u00e9rias em menores intensidades de luz. Al\u00e9m disso, as baixas irradi\u00e2ncias ampliam a faixa geral de absor\u00e7\u00e3o de luz de maneira que o equil\u00edbrio da distribui\u00e7\u00e3o de energia luminosa entre os dois fotossistemas seja mantido, otimizando a utiliza\u00e7\u00e3o de energia luminosa (Wyman e Fay, 1986).

J\u00e1 nas culturas da microalga *Chlorella* sp., maiores teores de clorofilas *a*, *b* e carotenoides totais foram encontrados quando essa esp\u00e9cie foi submetida a menor irradi\u00e2ncia ($200 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Isso pode estar relacionado com a necessidade de expans\u00e3o do aparato fotossint\u00e9tico para a otimiza\u00e7\u00e3o da capta\u00e7\u00e3o de luz, ou seja, a depend\u00eancia da quantidade de luz na concentra\u00e7\u00e3o de pigmentos est\u00e1 relacionada com a fun\u00e7\u00e3o da c\u00e9lula de aprimorar a captura de luz sob regimes de pouca ilumina\u00e7\u00e3o. De modo contr\u00e1rio, em situa\u00e7\u00f5es em que haja excesso de luz, ocorre a necessidade de dissipa\u00e7\u00e3o energia (Nikolaou et al. 2016). Resultados semelhantes em rela\u00e7\u00e3o \u00e0 concentra\u00e7\u00e3o de clorofila *a* foram encontrados por Seyfabadi et al. (2011) em um estudo que avaliou os efeitos de quatro diferentes irradi\u00e2ncias na concentra\u00e7\u00e3o de pigmentos e no crescimento de *Chlorella vulgaris*, e que relatou que na menor irradi\u00e2ncia analisada, houve a maior concentra\u00e7\u00e3o de pigmentos.

Ademais, tend\u00eancias similares na varia\u00e7\u00e3o dos pigmentos foram observadas para ambas as irradi\u00e2ncias - foi poss\u00edvel verificar uma redu\u00e7\u00e3o gradual nos teores a partir do 6\u00b0 dia de cultivo. Ainda, vale ressaltar que a diminui\u00e7\u00e3o mais acentuada da concentra\u00e7\u00e3o de pigmentos nas microalgas submetidas \u00e0 irradi\u00e2ncia de $1000 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ a partir desse dia pode estar relacionada ao estresse causado pelo excesso de energia luminosa absorvida, que pode acelerar a foto inibi\u00e7\u00e3o (Takahashi e Badger, 2011).

Tendo em vista os resultados obtidos, \u00e9 poss\u00edvel afirmar que as duas microalgas se encontravam em estados fisiol\u00f3gicos diferentes em cada irradi\u00e2ncia utilizada durante o experimento, o que comprova a efic\u00e1cia das intensidades de luz empregadas.

2.3.3 Compostos orgânicos voláteis

Nas Tabelas 1 e 2 são apresentados o perfil de COVs e os respectivos odores verificados nas biomassas de *A. platensis* e *Chlorella* sp. Ao total, foram encontrados 12 COVs nas biomassas de *A. platensis* e 34 nas biomassas de *Chlorella* sp. e, destes, somente cinco compostos: β -ciclocitral, β -ionona, 4-hidroxi-4-metil-ciclohexanona, dihidroactinidiolide e acetato de ciclooctanol, foram reportados em comum para as duas microalgas.

Em relação a *A. platensis*, os compostos encontrados em grande parte das condições de cultivo foram os mesmos, com exceção do ácido butanoico, que foi detectado apenas na fase exponencial sob maior irradiância, e do hexanal, que não foi observado nessa condição. Por outro lado, nas biomassas de *Chlorella* sp., maiores diferenças foram observadas. O composto 1,5-dimetil-1,5-ciclooctadieno foi observado apenas na fase estacionária, já o acetato de isofitol, apenas em fase exponencial. Um constituinte das diazinas, o 5-cloro-4,6-difenil-pirimidinona foi relatado apenas na irradiância de $200 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, enquanto que o ácido octadecan\u00f3ico butil \u00e9ster somente em $1.000 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

Os odores que compuseram as biomassas de *A. platensis* foram alcanos para os hidrocarbonetos; grama, sebo e gordura para alde\u00eddos; e menta, algas, violeta, flor e framboesa para os terpenoides. Na condi\u00e7\u00e3o em que houve a produ\u00e7\u00e3o do \u00e1cido carbox\u00edlico, odor ran\u00e7oso e doce foi o correspondente ao composto. Para *Chlorella* sp., os odores presentes na biomassa foram de alcanos para hidrocarbonetos; am\u00eandoa, a\u00e7\u00facar queimado e doce para alde\u00eddos; feij\u00e3o verde e manteiga para os furanos; ervas, doce, menta, algas, violetas, flores e framboesa para os terpenoides; cacau, castanha assada e carne assada para diazinas; e azedo para \u00e1cidos org\u00e2nicos.

A classe com maior representatividade no perfil de COVs de *A. platensis* foi a dos hidrocarbonetos. O composto octadecano apresentou os maiores valores e diferen\u00e7a estat\u00edstica significativa ($p < 0,05$) entre fases sob irradi\u00e2ncia de $1000 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, com maior porcentagem na fase estacion\u00e1ria de crescimento. O segundo maior constituinte do perfil dessa microalga, o pentadecano, apresentou valores significativamente maiores ($p < 0,05$) em fase exponencial de crescimento, tamb\u00e9m sob a maior irradi\u00e2ncia. O composto dihidroactinidiolide apresentou diferen\u00e7as significativas ($p < 0,05$) entre todas as condi\u00e7\u00f5es de cultivo, e o maior valor foi observado na fase exponencial sob $200 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

Tabela 1 - Perfil de compostos orgânicos voláteis (% total de COVs) presentes nas biomassas de *A. platensis*.

COMPOSTOS	Exponencial		Estacionária		Descrição de odores ^a
	200 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$	1.000 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$	200 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$	1.000 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$	
HIDROCARBONETOS					
Pentadecano	11,8 \pm 2,71	15,53 \pm 2,44**	9,07 \pm 1,42	8,27 \pm 0,67	alcano
Octadecano	56,97 \pm 8,37	57,27 \pm 2,65	65,50 \pm 6,21	70,64 \pm 1,15**	alcano
7-metil-Pentadecano	2,30 \pm 0,78	1,07 \pm 0,06	1,23 \pm 0,11	1,80 \pm 0,84	alcano
8-Heptadeceno	1,77 \pm 0,40	2,40 \pm 0,06	3,40 \pm 1,65	2,62 \pm 1,56	alceno
ÉSTER					
Acetato de ciclooctanol	3,37 \pm 0,58 a	2,00 \pm 0,56 b	2,17 \pm 0,44	1,91 \pm 0,71	
ALDEÍDOS					
Hexanal	1,95 \pm 0,45	nd	1,02 \pm 0,07	0,91 \pm 0,22	grama, gordura
2-Isopropilideno-5-metilhex-4-enal	2,57 \pm 0,95	1,80 \pm 0,17**	1,46 \pm 0,18 A	0,63 \pm 0,15 B	
CETONAS					
4-hidroxi-4-metil-Ciclohexanona	4,63 \pm 1,19	3,10 \pm 0,26**	2,39 \pm 1,11	2,16 \pm 0,37	
ÁCIDO CARBOXILICO					
Ácido butanóico	nd	9,60 \pm 1,50	nd	nd	rançoso, doce
TERPENOIDES					
β -Ciclocitral	1,57 \pm 0,55	1,27 \pm 0,12	1,03 \pm 0,45	1,05 \pm 0,19	menta
β -Ionona	8,07 \pm 1,56	6,17 \pm 0,29	4,45 \pm 2,24	6,24 \pm 0,29	algas, violeta, flor, framboesa
BENZOFURANO					
Dihidroactinidiolide	4,20 \pm 0,72 a*	2,47 \pm 0,35 b	2,22 \pm 0,57 B	3,78 \pm 0,38 A**	

Dados representam a média \pm desvio padrão de três réplicas independentes para cada condição. *a* de acordo com Acre e Arn (2004). *nd* não detectado. Letras minúsculas: diferença significativa ($p < 0,05$) entre 200 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e 1000 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ na fase exponencial de crescimento. Letras maiúsculas: diferença significativa ($p < 0,05$) entre 200 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e 1000 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ na fase estacionária de crescimento. * diferença significativa ($p < 0,05$) entre fase exponencial e estacionária de crescimento (200 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$). ** diferença significativa ($p < 0,05$) entre fase exponencial e estacionária de crescimento (1000 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Tabela 2 - Perfil de compostos orgânicos voláteis (% total de COVs) presentes em *Chlorella* sp.

COMPOSTOS	Exponencial		Estacionária		Descrição de odores ^a
	200 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$	1.000 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$	200 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$	1.000 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$	
HIDROCARBONETOS					
2,3-dimetil-Nonadecano	0,82 \pm 0,21 a	0,34 \pm 0,02 b**	0,20 \pm 0,06	0,24 \pm 0,05	alcano
2,6,10,14-tetrametil-Hexadecano	4,28 \pm 0,01 *	4,86 \pm 1,16	2,41 \pm 0,63	3,46 \pm 0,39	alcano
Hexadecano	0,97 \pm 0,06	0,53 \pm 0,30	0,66 \pm 0,24	0,54 \pm 0,17	alcano
1,5-dimetil-1,5-Ciclooctadieno	nd	nd	0,67 \pm 0,24	1,30 \pm 0,41	alcano
ALDEÍDOS					
Benzaldeído	3,65 \pm 0,19 *	3,15 \pm 0,96	1,52 \pm 0,30 B	2,56 \pm 0,06 A	amêndoa, açúcar queimado doce
4-etil-Benzaldeído	0,81 \pm 0,34	0,73 \pm 0,34	0,32 \pm 0,04	0,38 \pm 0,20	
cis-9-Hexadecenal	0,76 \pm 0,23	0,50 \pm 0,05	0,44 \pm 0,18	0,29 \pm 0,14	
ALCOÓIS					
1-Octen-3-ol	0,72 \pm 0,04 *	0,98 \pm 0,34	0,29 \pm 0,16	0,27 \pm 0,16	
Pentadecanol	0,75 \pm 0,05 b	1,76 \pm 0,12 a**	0,41 \pm 0,11	0,27 \pm 0,10	
E-2-Octadecadecen-1-ol	nd	3,86 \pm 0,63	4,97 \pm 0,54	nd	
Z,E-2,13-Octadecadien-1-ol	nd	nd	nd	7,61 \pm 0,21	
FURANO					
2-pentil-Furano	1,37 \pm 0,29 *	1,90 \pm 0,65	1,06 \pm 0,29	1,30 \pm 0,41	feijão verde, manteiga
CETONAS					
4-hidroxi-4-metil-Ciclohexanona	2,10 \pm 0,04 a	0,84 \pm 0,07 b	1,37 \pm 0,38	1,30 \pm 0,05 **	
Isoforona	2,51 \pm 0,89	2,45 \pm 0,14	2,63 \pm 0,26	2,43 \pm 0,19	
1-(1,4-dimetil-3-ciclohexen-1-il)-Etanona	1,20 \pm 0,15 b*	1,81 \pm 0,20 a**	0,87 \pm 0,15 A	0,52 \pm 0,11 B	
1-(4-metilfenil)-Etanona	0,78 \pm 0,14 *	0,63 \pm 0,19 **	0,33 \pm 0,07	0,32 \pm 0,14	
TERPENOIDES					
Safranal	0,96 \pm 0,35	1,47 \pm 0,36 **	0,66 \pm 0,29	0,92 \pm 0,21	ervas, doce
β -ciclocitral	1,10 \pm 0,35	0,55 \pm 0,01	0,32 \pm 0,12	0,25 \pm 0,13	menta algas, violeta, flor, framboesa
β -Ionona	4,63 \pm 0,37 a	2,99 \pm 0,90 b	3,49 \pm 0,88 A	1,84 \pm 0,25 B	
ÉSTERES					
Ácido octadecanóico, Butil ester	nd	1,87 \pm 0,40	nd	2,30 \pm 0,28	
Acetato de ciclooctanol	2,22 \pm 0,65 a	0,62 \pm 0,08 b	1,12 \pm 0,12	0,70 \pm 0,31	
Acetato de isofitol	1,86 \pm 0,48 b	5,52 \pm 1,75 a	nd	nd	
NAFTALENO					
1,2-dihidro-1,5,8-trimetil-Naftaleno	0,31 \pm 0,03 b	1,90 \pm 0,10 a**	0,34 \pm 0,06	0,28 \pm 0,09	
BENZOFURANO					
Dihidroactinidiolide	1,78 \pm 0,37	1,09 \pm 0,48	1,32 \pm 0,08 A	0,72 \pm 0,05 B	
PIRIDINA					
Piridoxina	3,54 \pm 1,09	1,85 \pm 0,14	4,83 \pm 0,87 A	1,73 \pm 0,26 B	
DIAZINAS					
5-cloro-4,6-difenil-Pirimidinona	2,57 \pm 0,45	nd	4,71 \pm 0,16 *	nd	
2,5-dimetil-Pirazina	8,12 \pm 0,22 *	6,43 \pm 1,42 **	1,03 \pm 0,10 B	2,02 \pm 0,07 A	cacau, castanha assada, carne assada

Tabela 3 - Perfil de compostos orgânicos voláteis (% total de COVs) presentes em *Chlorella* sp.

(continua)

ÉTER					
octadecil vinil Éter	10,05 ± 1,92	nd	20,10 ± 4,44 *	21,46 ± 0,93	
BENZENÓIDES					
3-octilundecil- Benzeno	0,28 ± 0,02 b	1,78 ± 0,06 a	1,54 ± 0,35 B*	2,84 ± 0,02 A**	
2,5-bis-1,1-dimetiletil- Fenol	3,22 ± 0,88 a	1,18 ± 0,68 b	3,92 ± 0,64 A	1,69 ± 0,19 B	
ÁCIDO ORGÂNICO					
Ácido-2-Butenodióico	7,06 ± 0,86 a	0,52 ± 0,12 b	19,11 ± 3,05 A	1,24 ± 0,15 B**	
Ácido láctico	nd	3,53 ± 0,90	nd	nd	
Ácido acético	1,35 ± 0,48	1,39 ± 0,33	3,60 ± 0,63 *	2,43 ± 0,53	azedo
SILOXANO					
1,3,5,7,9-Pentaetil-1,9-dibutoxipentasiloxano	0,53 ± 0,27	0,70 ± 0,03	1,06 ± 0,21 *	1,09 ± 0,22	

Dados representam a média ± desvio padrão de três réplicas independentes para cada condição. *a* de acordo com Acree e Arn (2004). *nd* não detectado. Letras minúsculas: diferença significativa ($p < 0,05$) entre 200 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e 1000 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ na fase exponencial de crescimento. Letras maiúsculas: diferença significativa ($p < 0,05$) entre 200 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e 1000 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ na fase estacionária de crescimento. * diferença significativa ($p < 0,05$) entre fase exponencial e estacionária de crescimento (200 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$). ** diferença significativa ($p < 0,05$) entre fase exponencial e estacionária de crescimento (1000 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Nas biomassas de *Chlorella* sp., os maiores valores encontrados foram de octadecil vinil éter, um constituinte da classe dos éteres, sendo que uma porcentagem significativamente maior ($p < 0,05$) foi observada na fase estacionária sob irradiância de 200 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$. O ácido-2-butenodióico também contribuiu com grande parte da composição de voláteis da biomassa, com diferenças significativas ($p < 0,05$) tanto para luz, quanto para fase de crescimento, sendo os maiores teores encontrados na fase estacionária de crescimento sob a irradiância de 200 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Vale ressaltar que na biomassa de *Chlorella* também foi constatada uma variedade de compostos nitrogenados, como a piridoxina, a 2,5-dimetil-pirazina e a 5-cloro-4,6-difenil-pirimidinona. As pirazinas (p. ex., 2,5-dimetil-pirazina) são importantes contribuintes para o sabor de vários alimentos assados e torrados. Além disso, são constituintes comuns dos alimentos e, acredita-se que surgem principalmente de uma condensação induzida pelo calor entre aminoácidos e açúcares (Adams et al. 2002).

Os terpenoides β -ciclocitral e β -ionona, caracterizados por baixos limiares de odor (assim como aldeídos), foram encontrados tanto na biomassa de *A. platensis*, quanto em *Chlorella* sp., sendo que essa ainda apresentou em sua composição outro norisoprenoide, o safranal. Em *Chlorella* sp., diferenças significativas ($p < 0,05$) de safranal foram observadas entre as fases, com maiores teores na fase exponencial sob a irradiância de 1.000 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, enquanto que a β -ionona apresentou diferenças relativas à luz, com maiores valores ($p < 0,05$) nas maiores irradiâncias. Da mesma forma observada em *A. platensis*, em *Chlorella* sp. o composto dihidroactinidiolide apresentou valor significativamente maior ($p < 0,05$) sob irradiância de 200 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Embora estudos afirmem que grande parte das microalgas de água doce apresentem em seu perfil de COVs componentes que geram *off-flavor* (p. ex., geosmina e 2-MIB) (Steinke et al. 2002; Watson et al. 2000), esses não foram detectados nas amostras de biomassa das culturas neste estudo.

Tendo em vista os resultados apresentados, é possível afirmar que, tanto a irradiância, como a fase de crescimento, geraram efeitos significativos em relação à produção de diversos compostos. No presente estudo pôde ser observado que de maneira geral, e com apenas algumas exceções, as maiores quantidades de COVs foram obtidas na biomassa durante a fase exponencial, o que está em concordância com Milne et al. (1995), que relataram que variadas monoculturas de microalgas emitem maiores níveis de compostos (em exemplo, o isopreno) durante a fase exponencial de crescimento, diminuindo na fase estacionária. Da mesma forma, Zhou et al. (2016) observaram esse comportamento relativo a quantidade de pentadecano em *Nitzschia closterium*, *Platymonas helgolandica* e *Nannochloropsis* sp., o que pôde ser observado para esse composto também em *A. platensis* nesse estudo.

Aguero et al. (2003) detectaram o hidrocarboneto pentadecano, derivado da descarboxilação do ácido palmítico (Schneider, 1970), no perfil de compostos voláteis de *A. platensis* e, similarmente, nesse estudo foi verificada a presença de pentadecano e 7-metil-pentadecano. Diversos autores descreveram atividade anticâncer, antioxidante e antimicrobiana em extratos dessa microalga que apresentavam em seu perfil de COVs esse composto (Ozdemir et al. 2004), bem como, em extratos de plantas (Mishra e Shree, 2007; Genovese et al 2009). Além disso, Mbatii et al. (1994) e Bruno et al. (2015) reportaram que um derivado de pentadecano inibiu a progressão de Leishmaniose, doença causada por um protozoário, fato interessante tendo em vista que as infecções (muitas delas bacterianas) podem causar grandes mortalidades dos organismos em diversos setores, inclusive na aquicultura (Kandhasamy e Arunachalam, 2008). Vale ressaltar que a busca por compostos de origem natural que apresentem propriedades antimicrobianas tem aumentado, particularmente devido ao aumento de taxas de infecções causadas por micro-organismos resistentes a antibióticos (Kaushik e Chauhan, 2008).

Em relação à intensidade luminosa, Shaw et al. (2003) reportaram que a liberação de terpenos por cianobactérias, diatomáceas e algas verdes foi influenciada pelas condições de luz. Similarmente, Bonsang et al. (2010) evidenciaram que a emissão de isopreno em *Prochlorococcus* apresentou uma relação positiva com a intensidade luminosa e, Meskhidze et al. (2015), relataram que as microalgas *Thalassiosira weissflogii*, *T. pseudonana*, *Pleurochrysis carterae* e *Rhodomonas salina* tiveram a produção de isopreno potencializada em condições de

elevada irradiância. No presente estudo, notavelmente as condições de luz influenciaram a composição das biomassas, no entanto, embora o padrão observado pelos autores citados acima também tenha sido observado, ele foi verificado para apenas alguns compostos.

Nas biomassas de *A. platensis* elevados teores de octadecano foram encontrados, o que está de acordo com Ramasamy e Gopalakrishnan (2013), que também identificaram esse composto em grandes quantidades em uma cepa de *Arthrospira*. É interessante pontuar que esse hidrocarboneto já foi detectado em diversos alimentos como mamão (Wu et al. 2019) e coentro (Shahidi e Perera, 2013), o que ressalta sua utilidade para indústria alimentícia. Outro hidrocarboneto, o 8-heptadeceno, verificado na biomassa de *A. platensis*, foi verificado por Sorigué et al. (2016) na microalga *C. variabilis* e, esses mesmos autores, mostraram que alcanos de alcenos de cadeias C15 a C17, que são detectados em diversas microalgas, originam do metabolismo de ácidos graxos. A síntese de hidrocarbonetos a partir de precursores de ácidos graxos em microalgas é interessante, uma vez que são organismos que produzem elevadas biomassas (León-Bañares et al. 2004; Beer et al. 2009; Malcata, 2011; Wijffels et al. 2013) e também possuem alta capacidade de sintetizar e acumular ácidos graxos (Hu et al. 2008; Harwood e Guschina, 2009; Liu e Benning 2013). Além das aplicações supracitadas, hidrocarbonetos produzidos por microalgas podem ser utilizados também para produção de energia, em exemplo, o biodiesel (Choi e Lee 2013).

Além disso, tendo em vista que a formação dos COVs depende da composição da biomassa das microalgas, espera-se que a biomassa de espécies com baixas concentrações de ácidos graxos poli-insaturados apresente significativamente menos aldeídos, cetonas e carbonilas, quando comparadas a espécies com elevadas concentrações desses ácidos orgânicos (Van Durme et al. 2013), uma vez que enzimas clivam os ácidos graxos para produzirem esses compostos (Selli e Cayhan, 2009). Isso pôde ser observado no presente estudo quando comparadas as quantidades (% da biomassa) de COVs pertencentes às classes dos aldeídos e cetonas presentes em *A. platensis* e *Chlorella* sp., já que essas espécies apresentam diferenças na composição de ácidos graxos poli-insaturados (Ötles e Pire, 2001).

Nas biomassas das culturas de *Chlorella* sp. com emprego da irradiância elevada foi constatada a presença de pentadecanol, um exemplo de álcool produzido por microalgas. Estes álcoois são provenientes de cetonas ou aldeídos e, em plantas, por exemplo, os álcoois de cadeias C5 e C6 são liberados de acordo com a intensidade da luz (Koppmann e Wildt 2007), similarmente ao que foi relatado nesse estudo. Outro álcool encontrado em *Chlorella* sp., o 1-octen-3-ol, é formado a partir da oxidação do ácido linoleico (Grosch, 1987) e já foi descrito por contribuir para o aroma de frutos do mar (Selli e Cayhan, 2009; Zhang et al. 2009).

Os aldeídos lineares de cadeia curta como o hexanal, encontrado na biomassa de *A. platensis*, são frequentemente derivados da oxidação química de lipídios, já os aldeídos ramificados e aromáticos, como o 2-isopropilideno-5-metil-4-hexanal (encontrado também na biomassa de *A. platensis*) e todos os encontrados em *Chlorella* sp., são tipicamente formados devido à oxidação enzimática de lipídios e proteínas (Van Durme. et al. 2013). Lee et al. (2017) reportaram que o odor de peixe em diversos produtos pode ser ocasionado por uma diversidade de compostos, dentre eles o hexanal. Esse mesmo aldeído já foi também encontrado no perfil de compostos voláteis das macroalgas *Palmaria palmata* (Le pape et al. 2004), *Ulva pertusa* (Sugisawa et al. 1989) e também em *Crassostrea gigas* (Piveteau et al. 2000).

O benzaldeído, composto presente no perfil de COVs de *Chlorella* sp., e que apresenta aroma semelhante à amêndoa, é produzido a partir de fenilalanina em diversos micro-organismos (Groot e Bont, 1998; Van Durme et al. 2013), logo, a presença desse composto pode variar de acordo com o perfil de aminoácidos apresentado pela microalga.

Exemplares das classes dos terpenoides foram encontrados nas biomassas de *A. platensis* e *Chlorella* sp., dentre eles, o β -ciclocitral, a β -ionona e o dihidroactinidiolide, que estão entre os terpenoides mais comumente relatados em microalgas (Henatsch e Juetner, 1983; Chorus et al. 1990; Rashash et al. 1995; Agüero et al. 2003; Watson et al. 2016). Do mesmo modo, Cuellar-Bermúdez et al. (2017) encontraram esses compostos no perfil de COVs da cianobactéria *A. platensis*, os quais apresentam uma variedade de odores que são utilizados nas indústrias de fragrâncias e aromas, já que são agradáveis (p.ex. florais, frutados). Esses compostos são derivados da clivagem oxidativa de carotenos e xantofilas, como o β -caroteno e a zeaxantina (Scherzinger e Al-Babili 2008; Watson et al. 2016). Mais especificamente, o β -ciclocitral pode ser formado a partir da clivagem enzimática da ligação dupla entre os carbonos sete e oito do β -caroteno e a β -ionona é produzida por clivagem enzimática da ligação dupla entre os carbonos nove e dez do mesmo carotenoide (Donadio et al. 2011; Dudareva et al. 2013).

Ainda sobre os terpenoides supracitados, Ramel et al. (2012), Laloi e Havaux (2015) constataram que β -ciclocitral e dihidroactinidiolide aumentam a tolerância de folhas ao estresse luminoso e desencadeiam a resposta de espécies reativas de oxigênio (ROS) em plantas. Dickinson et al (2019) verificaram que dihidroactinidiolide e β -ciclocitral trazem efeitos benéficos nas raízes de *Arabidopsis thaliana*, e que o último aumenta o crescimento das raízes dessa mesma planta, de tomates e de arroz, inclusive em situações de estresse salino. Esses resultados indicam que o β -ciclocitral é um composto natural que pode ser uma ferramenta valiosa para melhorar os cultivos, inclusive em condições ambientais adversas. Ainda, Cáceres et al. (2019) demonstraram que a β -ionona tem um forte efeito repelente à insetos causadores

de pragas, o que destaca a possibilidade da aplicação de COVs produzidos por microalgas em plantas superiores, em exemplo, como ferramenta na dispersão de herbívoros.

O safranal, terpenoide encontrado em *Chlorella* sp. nesse estudo, foi reconhecido por apresentar atividade antioxidante (Kanakis et al. 2004; Assimopoulou et al. 2005, Khayyat e Elgendy, 2018), citotoxicidade para células cancerígenas in vitro (Escribano et al. 1996, Khayyat e Elgendy, 2018), atividade anticonvulsivante (Hosseinzadeh e Talebzadeh, 2005), atividade anti-inflamatória e efeitos neuropsicológicos (Sadeghnia et al. 2017), o que confirma as propriedades bioativas de COVs sintetizados por microalgas.

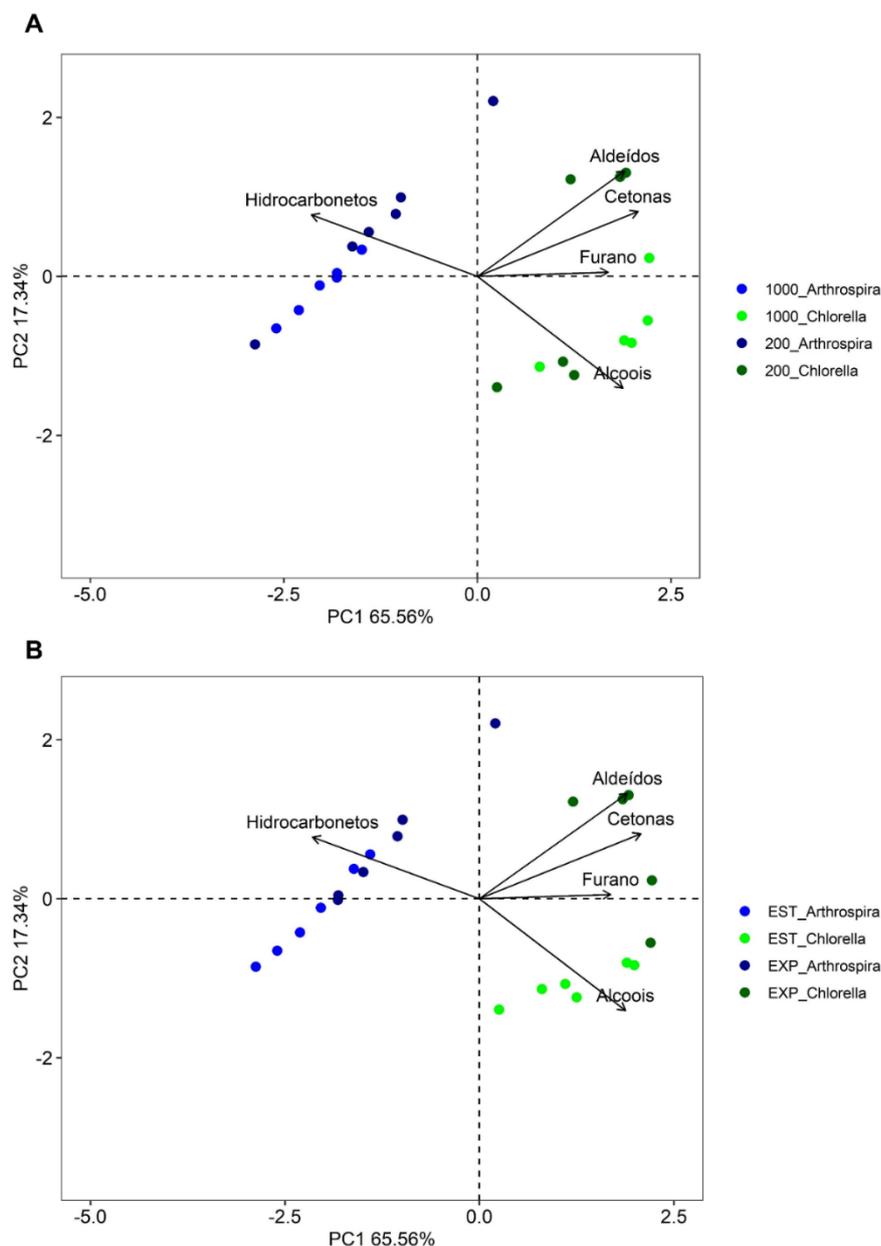
O ácido acético, observado na biomassa de *Chlorella* sp. nesse estudo, é considerado um sinal químico relacionado à morte celular programada (PCD) (Achyuthan et al. 2017) e como esperado, foi verificado em maior quantidade na fase estacionária das culturas.

Portanto, uma vez que diferentes condições de cultivo geram distintos efeitos no perfil de COVs nas biomassas das microalgas, as condições ideais de luz e fase da curva dependem do propósito de aplicação da mesma, e esses fatores podem ser utilizados como ferramentas para produção de metabólitos de interesse.

2.3.4 Comparações por análise multivariada

Com o intuito de aprimorar a interpretação do conjunto de dados e correlacionar as classes de COVs com as irradiâncias e fases de crescimento, foram realizadas Análises de Componentes Principais (PCA) (Figuras 9A e 9B), onde os dados foram categorizados em função da irradiância ($200 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e $1.000 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e também em função da fase da curva de crescimento (exponencial e estacionária). Para *A. platensis* e *Chlorella* sp., a ordenação das PCAs categorizadas de acordo com a irradiância (Figura 9A) e fase de crescimento (Figura 9B) foi significativa ($F = 383$, $p\text{-value} < 0,001$) e explicou 89,9% da variação total dos dados. Hidrocarbonetos ($r = -0,98$), álcoois ($r = 0,81$) e cetonas ($r = 0,71$) foram as principais classes de compostos orgânicos voláteis na composição da componente 1 (65,56%), enquanto aldeídos ($r = 0,65$), furano ($r = 0,44$), foram as principais classes na composição da componente 2 (17,34%).

Figura 9 - Diagrama de ordenação da Análise de Principais Componentes (PCA) categorizada pela irradiância (A), 1.000 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e 200 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, e pela fase de crescimento (B), onde EXP corresponde \u00e0 fase exponencial e EST estacion\u00e1ria para *Arthrospira platensis* e *Chlorella* sp.



Quando os COVs foram categorizados de acordo com a intensidade de luz, foi poss\u00edvel observar que h\u00e1 uma distin\u00e7\u00e3o clara entre as duas esp\u00e9cies, principalmente relacionada ao teor de hidrocarbonetos e \u00e1lcoois. Aparentemente, *A. platensis* tende a produzir mais compostos da classe dos hidrocarbonetos. Por outro lado, *Chlorella* sp. apresenta uma maior variedade de classes de compostos e um maior teor de alde\u00eddos foi atingido com a irradi\u00e2ncia de 200 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Ainda, \u00e9 poss\u00edvel afirmar que quando categorizados em fun\u00e7\u00e3o da fase de crescimento, para *Chlorella* sp. parece ter ocorrido um v\u00ednculo entre a fase exponencial e os teores de alde\u00eddos e cetonas, bem como da fase estacion\u00e1ria e o teor de \u00e1lcoois. Ainda, cabe

salientar que entre os dois parâmetros analisados, a fase de crescimento parece apresentar maior influência do que a luz, uma vez que fica clara a formação de um padrão, não observado na Figura 9A.

2.4 CONCLUSÃO

Em conclusão, os resultados obtidos confirmam que tanto a luz, quanto a fase de crescimento, influenciaram o perfil de COVs das biomassas de *A. platensis* e *Chlorella* sp., uma vez que variações quantitativas e qualitativas foram observadas nas condições de cultivo avaliadas.

2.5 AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos (mestrado junto ao PPGAQI/UFSC). Ao Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações – MCTIC/CGTS/SETEC, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Processo 407513/2013-2) e à Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP, Processo 01.10.0457.00).

2.6 REFERÊNCIAS

Abd El-Baky HH, Shallan MA, El-Baroty G, El-Baz FK (2002) Volatile compounds of the microalgae *Chlorella vulgaris* and their phytotoxic effect. *Pak J Biol Sci*, 5:61-65.

Assimopoulou A, Sinakos Z, Papageorgiou V (2005) Radical scavenging activity of *Crocus sativus* L. extract and its bioactive constituents. *Phytother Res*. 19:997-1000.

Adams TB, Doull J, Feron VJ, et al (2002) The FEMA GRAS assessment of pyrazine derivatives used as flavor ingredients. Flavor and Extract Manufacturers Association. *Food Chem Toxicol*. 40(4):429-451.

Aguero J, Lora J, Estrada K, Concepcion F, Nunez A, Rodriguez M, Pino JA (2003) Volatile Components of a Commercial Sample of the Blue-Green Algae *Spirulina platensis*. *J Essent Oil Res* 15:2:114-117.

Akinomoto S, et al (2012) Adaptation of light-harvesting systems of *Arthrospira platensis* to light conditions, probed by time-resolved fluorescence spectroscopy. *Biochim et Biophys Acta Bioener*, 1817(8):1483-1489.

- Beer LL, Boyd ES, Peters JW, Posewitz MC (2009) Engineering algae for biohydrogen and biofuel production. *Curr Opin Biotechnol* 20: 264–271
- Bennett A, Bogorad L (1973) Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue green alga. *J Cell Biol* 58:419.
- Bruno F, Castelli G, Migliazzo A, Piazza M, Galante A, Lo Verde V, Calderone S, Nucatolo G, Vitale F (2015) Cytotoxic screening and in vitro evaluation of pentadecane against *Leishmania infantum* promastigotes and amastigotes. *J Parasitol* 101:701-705
- Cáceres LA, Lakshminarayan S, Yeung KK et al (2016) Repellent and Attractive Effects of α , β -, and Dihydro- β - Ionone to Generalist and Specialist Herbivores. *J Chem Ecol* 42:107–117. <https://doi.org/10.1007/s10886-016-0669-z>
- Campbell D, et al (1998) Chlorophyll fluorescence analysis of cyanobacterial photosynthesis and acclimation. *Microbiol Mol Biol R* 62(3):667-83.
- Choi JY, Lee SY (2013) Microbial production as short-chain alkane. *Nature* 502(7472):571-4. doi: 10.1038/nature12536.
- Chorus I, Klein G, Rotard W (1990) Volatile substances associated with algal blooms of different trophic state and in bank filtrate. *Verh Int Ver Theor Angew Limnol* 24:270–273
- Oliveira CYB, Viegas TL, da Silva MFO et al. (2020) Effect of trace metals on growth performance and accumulation of lipids, proteins, and carbohydrates on the green microalga *Scenedesmus obliquus*. *Aquacult Int* 28:1435–1444
- Dickinson AJ, Lehner K, Mi J, Jia K-P, Mijar M, Dinnemy J, Al-Babili S, Benfey PN (2019) β -Cyclocitral is a conserved root growth regulator. *PNAS USA* 116: 10563-10567.
- Donadio C, Bialecki A, Valla A, Dufossé L (2011) Carotenoid-derived aroma compounds detected and identified in brines and speciality sea salts (fleur de sel) produced in solar salterns from Saint-Armel (France). *J Food Comp Anal* 24:801-810
- Dudareva N, Klempien A, Muhlemann JK, Kaplan I (2013) Biosynthesis, function and metabolic engineering of plant volatile organic compounds. *New Phytol* 198:16–32
- Escribano J, Alonso G, Coca-Prados M, Fernandez J (1996) Crocin, safranal and picrocrocin from saffron (*Crocus sativus* L.) inhibit the growth of human cancer cells in vitro *Cancer Lett* 100:23-30
- Genovese G, Tedone L, Hamann, MT, Morabito M (2009) The Mediterranean red alga *Asparagopsis*: A source of compounds against Leishmania. *Mar Drugs* 7:361–366
- Glazer AN (1984) Phycobilisome, a macromolecular complex optimized for light energy Transfer. *Biochim Biophys Acta* 768:29.
- Groene T (1995) Biogenic production and consumption of dimethylsulfide (DMS) and dimethylsulfoniopropionate (DMSP) in the marine epipelagic zone: a review. *J Mar Sys* 6:191–209.

- Groot MNN, Bont JAM (1998) Conversion of phenylalanine to benzaldehyde initiated by an aminotransferase in *Lactobacillus plantarum*. *Appl Environ Microbiol* 64:009–3013
- Grosch W (1987) Reactions of hydroperoxides-products of low weight. In: Chan HWS (ed) *Autoxidation of Unsaturated Lipids*. Academic Press, London, pp 95-139
- Grossman AR, Schaer M, Chiang G, Collier J (1993) Environmental effects on the light harvesting complex of cyanobacteria. *J Bacteriol* 175:575-582
- Harwood JL, Guschina IA (2009) The versatility of algae and their lipid metabolism. *Biochimie* 91: 679–684
- Hattori A, Fujita Y (1959) Formation of phycobilin pigments in a blue-green alga *Tolupothrix tenuis* as induced by illumination with coloured lights. *J Biochem* 46:521
- Haxo FT, Blinks LR (1950) Photosynthetic action spectra of marine algae. *J Gen Physiol* 33:389-422.
- Fork DC, Amesz J (1969) Action spectra and energy transfer in photosynthesis. *Annu Rev Plant Physiol* 20:305-328.
- Henatsch J, Jüttner F (1983) Volatile odorous excretion products of different strains of *Synechococcus* (Cyanobacteria). *Water Sci Technol* 15(6–7):259–266
- Hosseinzadeh H, Talebzadeh F (2005) Anticonvulsant evaluation of safranal and crocin from *Crocus sativus* in mice. *Fitoterapia* 76(7-8):722-724.
- Hu Q, Sommerfeld M, Jarvis E, Ghirardi M, Posewitz M, Seibert M, Darzins A (2008) Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances. *Plant J* 54:621–639
- Hu Q (2004) Industrial production of microalgal cell-mass and secondary products – major industrial species: *Arthrospira (Spirulina) platensis*. In: Richmond A (ed) *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*. Blackwell Science, Oxford pp 264-272
- Kanakis C, Daferera D, Tarantilis P, Polissiou M (2004) Qualitative determination of volatile compounds and quantitative evaluation of safranal and 4-hydroxy-2, 6, 6-trimethyl-1-cyclohexene-1-carboxaldehyde (HTCC) in Greek saffron *J Agri Food Chem* 52:4515-4521
- Kandasamy M, Arunachalam, KD (2008) Evaluation of in vitro antibacterial property of seaweeds of southeast coast of India. *African J Biotech* 7(12):1958-1961
- Kaushik P, Chauhan, A (2008) In vitro antibacterial activity of laboratory grown culture of *Spirulina platensis*. *Indian J Microbiol* 48:348-352.
- Khayyat S, Elgendy E (2018) Safranal epoxide - A potential source for diverse therapeutic applications. *J Saudi Pharm* 26:115–119

Koppmann R, Wildt J (2007) Oxygenated volatile organic compounds. In: Volatile Organic Compounds in the Atmosphere. Blackwell Publishing Ltd, Oxford, 129–172

Kumar V, Bhatnagar AK, Srivastava JN (2011) Antibacterial activity of crude extracts of *Spirulina platensis* and its structural elucidation of bioactive compound. J Med Plant Res 5(32):7043-7048.

Laczkó I (1985) Comparison of photo system-I and photosystem-II activities of spheroplasts from normal and photobleached *Anabaena cylindrica*. Arch Microbiol 141:112-115.

Laczkó I, Kaiseva, E (1987) Increased energy transfer from phycobilisomes to photosystem II in high light adapted *Anabaena cylindrica*. Photochem. Photobiol. 46:421-425.

Laloi C, Havaux M (2015) Key players of singlet oxygen-induced cell death in plants. Front Plant Sci 6:39.

Le Pape MA, Grua-Priol J, Prost C, Demaimay M (2004) Optimization of Dynamic Headspace Extraction of the Edible Red Algae *Palmaria palmata* and Identification of the Volatile Components. J Agric Food Chem 52(3):550-556.

Lee J, Rai PK, Jeon YJ, Kim KH, Kwon EE (2017) The role of algae and cyanobacteria in the production and release of odorants in water. Environ Pollut 227:252-262.

Lee E, Jalalizadeh M, Zhang Q (2015) Growth kinetic models for microalgae cultivation: A review. Algal Research 12:497-512.

Lemasson C, Tandeau de Marsac N, Cohen-Bazire G (1973) Proc Natl Acad Sci. USA 70(11):3130-3133.

León-Bañares R, González-Ballester D, Galván A, Fernández E (2004) Transgenic microalgae as green cell-factories. Trends Biotechnol 22: 45–52.

Li N, Chang WC, Warui DM, Booker SJ, Krebs C, Bollinger JM Jr (2012) Evidence for only oxygenative cleavage of aldehydes to alk(a/e)nes and formate by cyanobacterial aldehyde decarboxylases. Biochemistry 51:7908–7916.

Liu B, Benning C (2013) Lipid metabolism in microalgae distinguishes itself. Curr Opin Biotechnol 24: 300–309.

Malcata FX (2011) Microalgae and biofuels: a promising partnership? Trends Biotechnol 29: 542–549.

Mbati PA, Abok K, Orago AS, Anjili CO, Kagai JM, Githure JI, Koech DK (1994) Pristane (2,6,10,14-Tetramethylpentadecane) inhibits disease progression in Leishmania-infected Balb/c mice. Afr J Health Sci 1:157–159.

Metsoviti, MN et al (2019) Effect of Light Intensity and Quality on Growth Rate and Composition of *Chlorella vulgaris*. Plants (Basel), 9(1):31.

Mishra PM, Shree A (2007) Antibacterial Activity and GCMS Analysis of the Extract of Leaves of *Finlaysonia obovata* (A Mangrove Plant). *Asi J Pl Sci* 6: 168-172.

Mur LR, Elema RP (1983) The influence of light quality on the growth of some phytoplankton species. *Hydrobiol Bulletin* 18:73-74.

Nikolaou A, Hartmann P, Sciandra A, Chachuat B, Bernard O (2016) Dynamic coupling of photoacclimation and photoinhibition in a model of microalgae growth. *J Theor Bio* 390:61-72.

Novriadi R, Proano G (2018) Effects of Different Light Intensities and Nutrient Source on Growth Rate and Crude Fat Content in *Chlorella vulgaris*. *J Aquac Res Development* 9(6):1-5.

Ötles S, Pire R (2001) Fatty acid composition of *Chlorella* and *Spirulina* microalgae species. *J AOAC Int*, 84(6):1708-1714.

Ozdemir G, Karabay NU, Dalay MC, Pazarbasi B (2004) Antibacterial activity of volatile components and various extracts of *Spirulina platensis*. *Phytother Res* 18:754-757.

Pennarun AL, Prost C, Haure J, Demaimay M (2003) Comparison of two microalgal diets. 1. Influence on the biochemical and fatty acid compositions of raw oysters (*Crassostrea gigas*). *J Agric Food Chem* 51:2006–2010.

Pennarun AL, Prost C, Haure J, Demaimay M (2003) Comparison of two microalgal diets. 2. Influence on odorant composition and organoleptic qualities of raw oysters (*Crassostrea gigas*). *J Agric Food Chem* 51:2011–2018.

Piveteau F, Le Guen S, Gandemer G, Baud JP, Prost C, Demaimay M (2000) Aroma of Fresh Oysters *Crassostrea gigas*: Composition and Aroma Notes. *J Agric Food Chem* 48:4851–4857.

Pinheiro PN, Vieira KR, Santos AB, Jacob-Lopes E, Zepka LQ (2019) Biogenesis of Volatile Organic Compounds in Microalgae-Based Systems. In: Ravishankar GA, Ambati RR (ed) *Handbook of Algal Technologies and Phytochemicals*. CRC Press, Boca Raton, pp 89-96.

Ramasamy V, Gopalakrishnan VK (2013) Chemical composition of *Spirulina* by gas chromatography coupled with mass spectrophotometer (GC-MS). *Int J Pharm* 3:239–244.

Ramel F, et al. (2012) Carotenoid oxidation products are stress signals that mediate gene responses to singlet oxygen in plants. *Proc Natl Acad Sci USA* 109:5535–5540.

Rashash DMC, Dietrich AM, Hoehn RC, Parker BC (1995) The influence of growth conditions on odor-compound production by two chrysophytes and two cyanobacteria. *Water Sci Technol* 31 (11):165–172.

Rizzo RF, Santos, BN, Castro GFPS, Passos TS, Nascimento MA, Guerra HD, Silva CG, Dias DS, Domingues JR, Lima-Araújo KG (2015) Production of phycobiliproteins by *Arthrospira platensis* under different light conditions for application in food products. *Food Sci Technol* 35(2):247-252.

- Sadeghnia HR, Shaterzadeh H, Forouzanfar F, Hosseinzadeh H (2017) Neuroprotective effect of safranal, an active ingredient of *Crocus sativus* in a rat model of transient cerebral ischemia. *Folia Neuropathol* 55:206–213.
- Santoyo S, Rodríguez-Meizoso I, Cifuentes A, Jaime L, García-Blairsy Reina G, Señorans FJ, Ibáñez E (2009) Green processes based on the extraction with pressurized fluids to obtain potent antimicrobials from *Haematococcus pluvialis* microalgae. *LWT-Food Sci Technol* 42:1213-1218.
- Scherzinger D, Al-Babili S (2008) In vitro characterization of a carotenoid cleavage dioxygenase from *Nostoc* sp. PCC 7120 reveals a novel cleavage pattern, cytosolic localization and induction by highlight. *Mol Microbiol* 69 (1):231–244.
- Schirmer A, Rude MA, Li X, Popova E, Cardayre SB (2010) Microbial Biosynthesis of Alkanes. *Science* 329:559-562.
- Schneider H, Gelpi E, Bennett EO, Oró J (1970) Fatty acids of geochemical significance in microscopic algae. *Phytochemistry* 9:613–617.
- Selli S, Cayhan GG (2009). Analysis of volatile compounds of wild gilthead sea bream (*Sparus aurata*) by simultaneous distillation–extraction (SDE) and GC–MS. *Microchem J* 93:232–235.
- Seyfabadi J, Ramezanpour Z, Amini Khoeyi, Z (2011) Protein, fatty acid, and pigment content of *Chlorella vulgaris* under different light regimes. *J Appl Phycol* 23:721–726.
- Shahidi F, Perera N (2013) Oil and phytochemicals from small fruit seeds. In: Chi-Tang Ho CM, Shahidi F, Contis (ed) *Nutrition, Functional and Sensory Properties of Foods*. RSC Publishing, Cambridge, pp 224–30.
- Shyam R, Sane PV (1989) Photoinhibition of photosynthesis and its recovery in low and high light acclimatized blue-green alga (cyanobacterium) *Spirulina platensis*. *Biochem Physiol Pflanzen* 185:211.
- Sorigué D, Légeret B, Cuiñé S, Morales P, Mirabella B, Guédeney G, Li-Beisson Y, Jetter R, Peltier G, Beisson F (2016) Microalgae synthesize hydrocarbons from long-chain fatty acids via a light-dependent pathway. *Plant Physiol* 171:2393–2405.
- Steinke M, Malin G, Liss P S (2002) Trophic interactions in the sea: an ecological role for climate relevant volatiles? *J Phycol* 38:630–638.
- Sugisawa H, Nakamura K, Tamura H (1989) The Aroma profile of the volatiles in marine green algae (*Ulva pertusa*). *Food Rev Int* 6(4):573-589.
- Tandeau De Marsac N (1991) Chromatic adaptation by cyanobacteria. In: Bogorad L, Vasil IK (ed) *The Photosynthetic Apparatus - Molecular Biology and Operation*, Academic Press, San Diego, pp 417.
- Takahashi S, Badger MR (2011) Photoprotection in plants: A new light on photosystem II damage. *Trends Plant Sci.* 16: 53-60.

Van Durme J, Goiris K, De Winne A, De Cooman L, Muylaert K (2013) Evaluation of the Volatile Composition and Sensory Properties of Five Species of Microalgae. *J Agric Food Chem* 61(46):10881-10890.

Vonshak A (1997) *Spirulina platensis (Arthrospira)*: Physiology, Cell-biology and Biotechnology. Taylor and Francis, London

Watson SB, Brownlee B, Satchwill T, Hargesheimer EE (2000) Quantitative analysis of trace levels of geosmin and MIB in source and drinking water using headspace SPME. *Water Res* 34:2818–2828.

Watson SB, Monis P, Baker P, Giglio S (2016) Biochemistry and genetics of taste and odor producing cyanobacteria. *Harmful Algae* 54:112–127.

Wijffels RH, Kruse O, Hellingwerf KJ (2013) Potential of industrial biotechnology with cyanobacteria and eukaryotic microalgae. *Curr Opin Biotechnol* 24:405–413.

Zhang Z, Li T, Wang D, Zhang L, Chen G (2009) Study on the volatile profile characteristics of oyster *Crassostrea gigas* during storage by a combination sampling method coupled with GC/MS. *Food Chem* 115:1150–1157.

Zhou L, Chen J, Xu J, Li Y, Zhou C, Yan X (2016). Change of volatile components in six microalgae with different growth phases. *J Sci Food Agric* 97(3):761–769.

REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO

- ABD EL-BAKY, H. H.; SHALLAN, M. A.; EL-BAROTY, G.; EL-BAZ, F. K. Volatile compounds of the microalgae *Chlorella vulgaris* and their phytotoxic effect. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 5, p. 61-65, 2002.
- ACHYUTHAN, K.; HARPER, J.; MANGINELL, R.; MOORMAN, M. W. Volatile metabolites emission by in vivo microalgae – an overlooked opportunity? **Metabolites**, v. 7 p. 39, 2017.
- ACREE, T., ARN, H. (2004) Flavornet and human odor space, 2004. Disponível em: <http://www.flavornet.org/index.html>. Acessado 22 Set 2019.
- AFFENZELLER, M. J.; DAREHSHOURI, A.; ANDOSCH, A.; LÜTZ, C.; MEINDL, U. L. Salt stress-induced cell death in the unicellular green alga *Micrasterias denticulate*. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, p. 939–954, 2009.
- AJAYAN, K. V.; SELVARAJU, M.; THIRUGNANAMOORTHY, K. Enrichment of chlorophyll and phycobiliproteins in *Spirulina platensis* by the use of reflector light and nitrogen sources: an in-vitro study. **Biomass and Bioenergy**, v. 47, p. 436-441, 2012.
- ARIMURA, G.; SHIOJIRI, K.; KARBAN, R. Acquired immunity to herbivory and allelopathy caused by airborne plant emissions. **Phytochemistry**, v.71, p. 1642–1649, 2010.
- BAKER, R. H. A.; SANSFORD, C. E.; JARVIS, C. H.; CANNON, R. J. C.; MACLEOD, A.; WALTERS, K. F. A. The role of climatic mapping in predicting the potential geographical distribution of non-indigenous pests under current and future climates. **Agriculture, Ecosystem and Environment**, v. 82, p. 57–71, 2000.
- BALDWIN, I. T.; HALITSCHKE, R.; PASCHOLD, A.; VON DAHL, C. C.; PRESTON, C. A. Volatile signaling in plant-plant interactions: “talking trees” in the genomics era. **Science**, v. 311, p. 812–815, 2006.
- BARSANTI, L.; COLTELLI, P.; EVANGELISTA, V.; FRASSANITO, A. M.; PASSARELLI, V.; VESENTINI, N.; GUALTIERI, P. Oddities and curiosities in the algal world. In: EVANGELISTA, V.; BARSANTI, L.; FRASSANITO, A. M.; PASSARELLI, V.; GUALTIERI, P. **Algal toxins: nature, occurrence, effect and detection**. Dordrecht:Springer, 2008, p. 353–391.
- BEE PARK, H.; LEE, B.; KLOEPPER, J. W.; RYU, C. M. One shot-two pathogens blocked: exposure of *Arabidopsis* to hexadecane, a long chain volatile organic compound, confers induced resistance against both *Pectobacterium carotovorum* and *Pseudomonas syringae*. **Plant Signaling and Behavior**, v. 8, p. 24619, 2013.
- BEHESHTIPOUR, H.; MORTAZAVIAN, A. M.; HARATIAN, P.; KHOSRAVIDARANI, K. Effects of *Chlorella vulgaris* and *Arthrospira platensis* addition on viability of probiotic bacteria in yogurt and its biochemical properties. **European Food Research and Technology**, v. 235 (4), p. 719-728, 2012.

- BELAY, A.; OTA, Y.; MIYAKAWA, K.; SHIMAMATSU, H. Current knowledge on potential health benefits of *Spirulina*. **Journal of Applied Phycology**, v. 5, p. 235–241, 1993.
- BERGER, R. G. Biotechnology of flavours - the next generation. **Biotechnology Letters**, v. 31, p. 1651, 2009.
- BLÁHA, L.; BABICA, P.; MARSALEK, B. Toxins produced in cyanobacterial water blooms - toxicity and risks. **Interdisciplinary Toxicology**, v. 36, 2009.
- BONSANG, B.; GROS, V.; PEEKEN, I.; YASSAA, N.; BLUHM, K.; ZOELLNER, E. Isoprene emission from phytoplankton monocultures: the relationship with chlorophyll-*a*, cell volume and carbon content. **Environmental Chemistry**, v. 7, p. 554–563, 2010.
- BOROWITZKA, M. A. High-value products from microalgae - their development and commercialization. **Journal of Applied Phycology**, v.25, p. 743–756, 2013.
- 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. *et al.* Nutritional properties of microalgae for mariculture. **Aquaculture**, v.151, p.315-331, 1997.
- BRUNO, F.; CASTELLI, G.; MIGLIAZZO, A.; PIAZZA, M.; GALANTE, A.; LO VERDE V.; CALDERONE, S.; NUCATOLO, G.; VITALE, F. Cytotoxic screening and in vitro evaluation of pentadecane against *Leishmania infantum* promastigotes and amastigotes. **Journal of Parasitology**, v. 101, p. 701-705, 2015.
- CHA, K. H.; KANG, S. W.; KIM, C. Y. *et al.* Effect of Pressurized Liquids on Extraction of Antioxidants from *Chlorella vulgaris*. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 58, p. 4756–4761, 2010.
- CHEN, Y.; WENG, Y.; ZHOU, M.; MENG, Y.; LIU, J.; YANG, L. *et al.* Linalool- and a-terpineol-induced programmed cell death in *Chlamydomonas reinhardtii*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 167, p. 435–440, 2019.
- CHRISMADHA, T.; BOROWITZKA, M.; A. Effect of cell density and irradiance on growth, proximate composition and eicosapentaenoic acid production of *Phaeodactylum tricorutum* grown in a tubular photobioreactor. **Journal of Applied Phycology**, v. 6(1), p. 67–74, 1994.
- CONLEY, D. J.; PAERL, H. W.; HOWARTH, R. H.; BOESCH, D. F.; SEITZINGER, S. P.; HAVENS, K. E. *et al.* Controlling eutrophication: nitrogen and phosphorus. **Science**, v. 323, p. 1014–1015, 2009.
- COSTA, J. A. C.; MORAIS, M. G. Microalgae for food production. In: SOCCOL, C. R.; PANDEY, A.; LARROCHE, C. **Fermentation Process Engineering in the Food Industry**. Taylor e Francis, p. 486, 2013.
- 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.

ESTRADA, J. E.; BESCÓS, P.; VILLAR DEL FRESNO, A. M. Antioxidant activity of different fractions of *Spirulina platensis* protean extract. **II Farmaco**, v. 56, p. 497–500, 2001.

FAO (2017). The future of food and agriculture—Trends and challenges. Roma, Italia. ISBN 978-92-5-109551-5.

FINK, P. Ecological functions of volatile organic compounds in aquatic systems. **Marine and Freshwater Behaviour and Physiology**, v. 40, p. 155-168, 2007.

FISCHER, N. H. Plant terpenoids as allelopathic agents. In: HARBORNE, J., B.; TOMAS-BARBERAN, F., A. **Ecological Chemistry and Biochemistry of Plant Terpenoids**. Oxford University Press, 1991. p. 377-398.

FREITAS, H. *Chlorella vulgaris* as a Source of Essential Fatty Acids and Micronutrients: A Brief Commentary. **The Open Plant Science Journal**, v. 10, p. 92-99, 2017.

GENOVESE, G.; TEDONE, L.; HAMANN, M. T.; MORABITO, M. The Mediterranean red alga *Asparagopsis*: A source of compounds against Leishmania. **Marine Drugs**, v. 7, p. 361–366, 2009.

GROBBELAAR, J. U. Algal biotechnology: real opportunities for Africa. **South African Journal of Botany**, v.70, n.1, p.140-144, 2004.

HASEGAWA, M., NISHIZAWA, A., TSUJI, K. KIMURA, S.; HARADA, K. Volatile organic compounds derived from 2-keto-acid decarboxylase in *Microcystis aeruginosa*. **Microbes and Environments**, v. 27, p. 525–528, 2012.

HAYES, K. P.; BURCH, M. D. Odorous compounds associated with algal blooms in south Australian waters. **Water Research**, v. 23, p. 115-121, 1989.

HE, L. L.; WANG, X.; WU, X. X.; WANG, Y. X.; KONG, Y. M.; WANG, X. *et al.* Protein damage and reactive oxygen species generation induced by the synergistic effects of ultrasound and methylene blue. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v.134, p. 361–366, 2015.

HU, Q. Environmental effects on cell composition. In: A. RICHMOND; Q HU. **Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology**. Chichester: John Wiley & Sons, 2013, p. 114, 2013.

HU, Q. Industrial production of microalgal cell-mass and secondary products – major industrial species: *Arthrospira (Spirulina) platensis*. In: RICHMOND, A. **Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology**. Oxford: Blackwell Science, 2004, p. 264-272.

HUGHES, C.; SUN, S. Light and brominating activity in two species of marine diatom. **Marine Chemistry**, v. 181, p. 1–9, 2016.

IKAWA, M.; SASNER, J. J.; HANEY, J. F. Activity of cyanobacterial and algal odor compounds found in lake waters on green alga *Chlorella pyrenoidosa* growth. **Hydrobiologia**, v. 443, p. 19–22, 2001.

IPCC (2014) in Climate change 2014: Synthesis report. Contribution of working groups I, II and III to the fifth assessment report of the intergovernmental panel on climate change. eds. R. K. Pachauri and L. A. Meyer (Geneva, Switzerland: IPCC), 151 pp.

JÜTTNER, F. Evidence that polyunsaturated aldehydes of diatoms are repellents for pelagic crustacean grazers. **Aquatic Ecology**, v. 39, p. 271–282, 2005.

JÜTTNER, F. Liberation of 5,8,11,14,17-eicosapentaenoic acid and other polyunsaturated fatty acids from lipids as a grazer defense reaction in epilithic diatom biofilms. **Journal of Phycology**, v. 37, p. 744–755, 2001.

JÜTTNER, F. Physiology and biochemistry of odorous compounds from freshwater cyanobacteria and algae. **Water Science Technology**, v. 31(11), p. 69–78, 1995.

JÜTTNER, F. Volatile organic substances. In: FAY, P.; VAN BAALEN, C. **The Cyanobacteria**. Amsterdam: Elsevier, 1987. p. 453–469.

JÜTTNER, F.; WATSON, S. B.; VON ELERT, E.; KÖSTER, O. b-Cyclocitral, a grazer defence signal unique to the cyanobacterium *Microcystis*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 36, p. 1387–1397, 2010.

WALSH, K.; JONES, J. G.; DUNSTAN, H. R. Effect of high irradiance and iron on volatile odour compounds in the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. **Phytochemistry**, v. 49(5), p. 1227–1239, 1998.

KESSLER, A.; HALITSCHKE, R.; DIEZEL, C.; BALDWIN, I. T. Priming of plant defense responses in nature by airborne signaling between *Artemisia tridentate* and *Nicotiana attenuate*. **Oecologia**, v. 148, p. 280–292, 2006.

KIRK, E. A.; BEHRENS, P. W. Commercial developments in microalgal biotechnology. **Journal of Phycology**, v. 35, p. 215–226, 1999.

KLINTHONG, W.; YANG, Y. H.; HUANG, C. H.; TAN, C. S. A review: Microalgae and their applications in CO₂ capture and renewable energy. **Aerosol and Air Quality Research**, v. 15, p. 712–742, 2015.

LAMPERT, W. Laboratory studies on zooplankton and cyanobacteria interactions. **New Zealand Journal of Marine Freshwater Research**, v. 21, p. 483–490, 1987.

LEE, R. E. **Phycology**. New York: Cambridge University Press, 2008, p. 547.

LI, Z.; HOBSON, P.; AN, W.; BURCH, M., D.; HOUSE, J.; YANG, M. Earthy odor compounds production and loss in three cyanobacterial cultures. **Water Research**, 46, 5165–5173, 2012b.

LIU, J.; HU, Q. *Chlorella*: Industrial Production of Cell Mass and Chemicals. IN: A, RICHMOND; Q, HU. **Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology**. Chichester:John Wiley & Sons, 2013, p. 114.

MAIBAM, C.; FINK, P.; ROMANO, G.; BUIA, M., C.; BUTERA, E.; ZUPO, V. *Centropages typicus* (Crustacea, Copepoda) reacts to volatile compounds produced by planktonic algae. **Marine Ecology**, v. 36, p. 819–834, 2015.

MARKOU, G.; NERANTZIS, E. Microalgae for high-value compounds and biofuels production: a review with focus on cultivation under stress conditions. **Biotechnology Advances**, v. 31(8), p. 1532-1542, 2013.

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. 217–32, 2010.

MBATI, P. A.; ABOK, K.; ORAGO, A. S.; ANJILI, C. O.; KAGAI, J. M.; GITHURE, J. I.; KOECH, D. K. Pristane (2,6,10,14-Tetramethylpentadecane) inhibits disease progression in Leishmania-infected Balb/c mice. **African Journal of Health Sciences**, v. 1, p. 157–159, 1994.

MESKHIDZE, N.; SABOLIS, A.; REED, R.; KAMYKOWSKI, D. Quantifying environmental stress-induced emissions of algal isoprene and monoterpenes using laboratory measurements. **Biogeosciences**, v. 12, p. 637–651, 2015.

MILNE, A.; DAVEY, M. S.; WORSFORD, P. S.; ACHTERBERG, E. P.; TAYLOR, A. R. Real-time detection of reactive oxygen species generation by marine phytoplankton using flow injection-chemiluminescence. **Limnology and Oceanography Methods**, v. 7, 706–715, 2009.

MILNE, P. J.; RIEMER, D. D.; ZIKA, R. G.; Brand, L. E. Measurement of vertical distribution of isoprene in surface seawater, its chemical fate, and its emission from several phytoplankton monocultures. **Marine Chemistry**, v. 48, p. 237–244, 1995.

MILOVANOVIC, I.; MIŠAN, A.; SIMEUNOVI, J.; KOVAČ, D.; JAMBREC, D.; MANDIC, A. Determination of Volatile Organic Compounds in Selected Strains of Cyanobacteria. **Journal of Chemistry**, v. 2015, p. 1-6, 2015.

MISHRA, P. M.; SHREE, A. Antibacterial Activity and GCMS Analysis of the Extract of Leaves of *Finlaysonia obovata* (A Mangrove Plant). **Asian Journal of Plant Science and Research**, v. 6, p. 168-172, 2007.

MURDOCK, J. N.; WETZEL, D. L. FT-IR Microspectroscopy enhances biological and ecological analysis of algae. **Applied Spectroscopy**, v. 44, p. 335-361, 2009.

NELSON, D., L.; COX, M., M. **Princípios de Bioquímica**. São Paulo: Sarvier, 2004.

NIINEMETS, Ü.; SUN, Z. How light, temperature, and measurement and growth [CO₂] interactively control isoprene emission in hybrid aspen. **Journal of Experimental Botany**, v. 66, p. 841–851, 2015.

OBATA, T.; ARAIE, H.; SHIRAIWA, Y. Bioconcentration mechanism of selenium by a coccolithophorid, *Emiliana huxleyi*. **Plant Cell Physiology**, v. 45, p. 1434–1441, 2004.

OBERHOLSTER, P. J.; MYBURGH, J. G.; GOVENDER, D.; BENGIS, R.; BOTHA, A. M. Identification of *Microcystis* strains after incidents of wild animal mortalities in the Kruger National Park, South Africa. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 72, p. 1177–1182, 2009.

OHSAWA, N.; OGATA, Y.; OKADA, N.; ITOH, N. Physiological function of bromoperoxidase in the red marine alga, *Corallina pilulifera* production of bromoform as an allelochemical and the simultaneous elimination of hydrogen peroxide. **Phytochemistry**, v. 58, p. 683–692, 2001.

OZDEMIR, G.; KARABAY, N. U.; DALAY, M. C.; PAZARBASI, B. Antibacterial activity of volatile components and various extracts of *Spirulina platensis*. **Phytotherapy Research**, v. 18, p. 754-757, 2004.

PAERL, H. W. Nuisance phytoplankton blooms in coastal, estuarine, and inland waters. **Limnology and Oceanography**, v. 33, p. 823-843, 1988.

PALIWAL, C.; MITRA, M.; BHAYANI, K.; BHARADWAJ, S. V. V.; GHOSH, T.; DUBEY, S.; MISHRA, S. Abiotic stresses as tools for metabolites in microalgae. **Bioresource Technology**, v. 244 (Part 2), p. 1216-1226, 2017.

PAOLETTI, C.; PUSHPARAJ, B.; FLORENZANO G.; CAPELLA I.; LERCKER G. Unsaponifiable matter of green and blue-green algal lipids as a factor of biochemical differentiation of their biomasses. I. Total unsaponifiable and hydrocarbon fraction. **Lipids II**, 1976.

PEÑUELAS, J.; POULTER, B.; SARDANS, J.; CIAIS, P.; VAN DER VELDE, M.; BOPP, L. *et al.* Human-induced nitrogen–phosphorus imbalances alter natural and managed ecosystems across the globe. **Nature Communications**, v. 4, p. 2934, 2013.

PINHEIRO, P. N.; VIEIRA, K. R.; SANTOS, B. A.; JACOB-LOPES, E.; ZEPKA, L. Q. Biogenesis of Volatile Organic Compounds in Microalgae-Based Systems. In: GOKARE A. RAVISHANKAR, RANGA RAO AMBATI. **Handbook of Algal Technologies and Phytochemicals**. Boca Raton: CRC Press, 2019, p. 89-96.

PUIG, C. G.; GONÇALVES, R. F.; VALENTÃO, P.; ANDRADE, P. B.; REIGOSA, M. J.; PEDROL, N. The consistency between phytotoxic effects and the dynamics of allelochemicals release from eucalyptus globulus leaves used as bioherbicide green manure. **Journal of Chemical Ecology**, v. 44, p. 658–670, 2018.

RAPISARDA, T.; MEREU, A.; CANNAS, A.; BELVEDERE, G.; LICITRA, G.; CARPINO, S. Volatile organic compounds and palatability of concentrates fed to lambs and ewes. **Small Ruminant Research**, v. 103, p. 120–132, 2012.

RASULOV, B.; COPOLOVICI, L.; LAISK, A.; NIINEMETS, Ü. Postillumination isoprene emission: in vivo measurements of dimethylallyldiphosphate pool size and isoprene synthase kinetics in aspen leaves. **Plant Physiology**, v. 149, p. 1609–1618, 2009.

REESE, K. L.; FISHER, C. L.; LANE, P. D. *et al.* Chemical Profiling of Volatile Organic Compounds in the Headspace of Algal Cultures as Early Biomarkers of Algal Pond Crashes. **Scientific Reports**, v. 9, p. 13866, 2019.

RICE, E. R. **Allelopathy**. New York: Academic Press, 1984 p.

RIZWAN, M.; MUJTABA, G.; MEMON, S. A.; LEE, K.; RASHID, N. Exploring the potential of microalgae for new biotechnology applications and beyond: a review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 92, p. 394-404, 2018.

ROHMER, M.; KNANI, M.; SIMONIN, P.; SUTTER, B.; SAHM, H. Isoprenoid biosynthesis in bacteria: a novel pathway for the early steps leading to isopentenyl diphosphate. **Biochemical Journal**, v. 295, p. 517–524, 1993.

ROWAN, D. D. Volatile Metabolites. **Metabolites**, v. 1, p. 41-63, 2011.

SAADOUN, I. M. K.; SCHRADER, K. K.; BLEVINS, W. T. Environmental and nutritional factors affecting geosmin synthesis by *Anabaena* sp. **Water Research**. v. 35, p. 1209-1218, 2001.

SANTOS, A. B.; FERNANDES, A. S.; WAGNER, R.; JACOB-LOPES, E.; ZEPKA, L. Q. Biogenesis of volatile organic compounds produced by *Phormidium autumnale* in heterotrophic bioreactor. **Journal of Applied Phycology**, v. 28, p. 1561–1570, 2016.

SANTOS, A. B.; VIEIRA, K. R.; NOGARA, G. P.; WAGNER, R.; JACOB-LOPES, E.; ZEPKA, L. Q. Biogenesis of volatile organic compounds by microalgae: Occurrence, behavior, ecological implications and industrial applications. In: MOORE, J. P. **Volatile Organic Compounds**. New York: Nova Science Publishers, 2016; pp. 1–24.

SATCHWILL, T. Drinking Water Taste and Odor: Compound Identification and Treatment. 2001. 171 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Departamento de Química, Universidade de Calgary, Calgary, 2001.

SCARRATT, M. G.; MOORE, R. M. Production of chlorinated hydrocarbons and methyl iodide by the red microalga *Porphyridium purpurum*. **Limnology and Oceanography**, v. 44, p. 703–707, 1999.

SCHAUB, A.; BLANDE, J. D.; GRAUS, M.; OKSANEN, E.; HOLOPAINEN, J. K.; HANSEL, A. Realtime monitoring of herbivore induced volatile emissions in the field. **Physiologia Plantarum**, v.138, p. 123–133, 2010.

SCHÖLLER, C. E. G.; GÜRTLER, H.; PEDERSEN, R.; MOLIN, S.; WILKINS, K. Volatile metabolites from Actinomycetes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 2615-2621, 2002.

SHAW, S. L.; CHISHOLM, S. W.; PRINN, R. Isoprene production by *Prochlorococcus*, a marine cyanobacterium, and other phytoplankton. **Marine Chemistry**, v. 80, p. 227–245, 2003.

SHAW, S. L.; GANTT, B.; MESKHIDZE, N. Production and emission of marine isoprene and monoterpenes: A review. **Advances in Meteorology**, v. 408696, p. 1–24, 2010.

SMITH, J. L.; BOYER, G. L.; ZIMBA, P. V. A review of cyanobacterial odorous and bioactive metabolites: Impacts and management alternatives in aquaculture. **Aquaculture**, v. 280, p. 5–20, 2008.

SORIGUE, D.; LEGERET, B.; CUINE, S.; MORALES, P.; MIRABELLA, B.; GUEDENEY, G.; LI-BEISSON, Y.; JETTER, R.; PELTIER, G.; BEISSON, F. Microalgae synthesize hydrocarbons from long-chain fatty acids via a light-dependent pathway. **Plant Physiology**, v.171, p. 2393-2405, 2016.

STEFELS, J. Physiological aspects of the production and conversion of DMSP in marine algae and higher plants. **Journal of Sea Research**, v. 43, p. 183–197, 2000.

STEFFENSEN, D. A. Economic cost of cyanobacterial blooms. In: HUDNELL, H., K. **Cyanobacterial Harmful Algal Blooms: State of the Science and Research Needs**. New York:Springer, p. 855-865, 2008.

STEIN SE (2008) NIST standard reference database 1A. The National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg.

SWITZER, L. *Spirulina*, the whole food revolution. USA: Proteus Corporation, p. 1-69, 1980.

TARTOURA, K. A. H.; YOUSSEF, S. A. Stimulation of ROS-scavenging systems in squash (*Cucurbita pepo* L.) plants by compost supplementation under normal and low temperature conditions. **Scientia Horticulturae**, v. 130, p. 862–868, 2011.

VAN DURME, J.; GOIRIS, K.; DE WINNE, A.; DE COOMAN, L.; MUYLAERT, K. Evaluation of the Volatile Composition and Sensory Properties of Five Species of Microalgae. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61(46), p. 10881-10890, 2013.

VELIKOVA, V.; VÁRKONYI, Z.; SZABÓ, M.; MASLENKOVA, L.; NOGUES, I.; KOVÁCS, L.; *et al.* Increased thermos stability of thylakoid membranes in isoprene emitting leaves probed with three biophysical techniques. **Plant Physiology**, v. 157, p. 905–916, 2011.

VICKERS, C. E.; POSSELL, M.; COJOCARIU, C. I.; VELIKOVA, V. B.; LAOTHAWORNKITKUL, J.; RYAN, A.; *et al.* Isoprene synthesis protects transgenic tobacco plants from oxidative stress. **Plant, Cell and Environment**, v. 32, p. 520–531, 2009.

VIJAYAVEL, K.; ANBUSELVAM, C.; BALASUBRAMANIAN, M. P. Antioxidant effect of the marine algae *Chlorella vulgaris* against naphthalene-induced oxidative stress in the albino rats. **Molecular Cell Biochemistry**, v. 303, p. 39–44, 2007.

WAGNER, H.; JAKOB, T.; WILHELM, C. Balancing the energy flow from captured light to biomass under fluctuating light conditions. **New Phytologist**, v. 169, p. 95-108, 2006.

WALSH, K.; JONES, G. J.; DUNSTAN, R. H. Effect of high irradiance and iron on volatile odour compounds in the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. **Phytochemistry**, v. 49, p. 1227–1239, 1998.

- WALTER, A.; CARVALHO, J. C.; SOCCOL, V. T.; FARIA, A. B. B.; GHIGGI, V.; SOCCOL, C. R. Study of phycocyanin production from *Spirulina platensis* under different light spectra. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 54(4), p. 675-682, 2011.
- WANG, C.; CROLL, R., P. Effects of sex steroids on gonadal development and gender determination in the sea scallop, *Placopecten magellanicus*. **Aquaculture**, v. 238, p. 483–498, 2004.
- WATSON, S. B. Aquatic taste and odor: A primary signal of drinking-water integrity. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, v. 67, p.1779–1795, 2004.
- WATSON, S. B. Cyanobacterial and eukaryotic algal odor compounds: Signals or by-products? A review of their biological activity. **Phycologia**, v. 42, p. 332–350, 2003.
- WATSON, S. B.; JUTTNER, F. Malodorous volatile organic sulfur compounds: Sources, sinks and significance in inland waters. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 43, p. 210–237, 2017
- WATSON, S. B.; MONIS, P.; BAKER, P.; GIGLIO, S. Biochemistry and genetics of taste- and odor-producing cyanobacteria. **Harmful Algae**, v. 54, p. 112–127, 2016.
- WEIR, T. L.; PARK, S.; VIVANCO, J., M. Biochemical and physiological mechanisms mediated by allelochemicals. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 7, p. 472–479, 2004.
- WINTER, J. M.; MOORE, B. S. Exploring the chemistry and biology of vanadium-dependent haloperoxidases. **Journal of Biological Chemistry**, v. 284, p. 18577–18581, 2009.
- XU, Q.; YANG, L.; YANG, W.; BAI, Y.; HOU, P.; ZHAO, J.; *et al.* Volatile organic compounds released from *Microcystis flos-aquae* under nitrogen sources and their toxic effects on *Chlorella vulgaris*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 135, p. 191–200, 2017.
- YANG, W.; ZHAO, J.; XU, Q.; ZHOU, L.; GAN, L.; ZUO, Z. Phosphorus deficiency inducing volatile organic compounds from *Microcystis aeruginosa* and their effects on *Chlamydomonas reinhardtii*. **Journal of Lake Sciences**, v. 30, p. 449–457, 2018.
- YE, C.; YANG, Y.; XU, Q.; YING, B.; ZHANG, M.; GAO, B.; *et al.* Volatile organic compound emissions from *Microcystis aeruginosa* under different phosphorus sources and concentrations. **Phycological Research**, v. 66, p. 15–22, 2018.
- YOO, R. S.; CARMICHAEL, W. W.; HOEHN R. C.; HRUDEY, S. E. **Cyanobacterial (Blue-green Algal) Toxins: A Resource Guide**. Denver: American Water Works Association, 222 pp, 1995.
- YUE, L.; LV, H.; ZHEN, J.; JIANG, S.; JIA, S.; SHEN, S.; GAO, L.; DAI, Y. Bacterial species and biochemical characteristic investigations of *Nostoc flagelliforme* concentrates during its storage. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 26, p. 648–658, 2016.

ZHANG, R.; ZHANG, W.; ZUO, Z.; LI, R.; WU, J.; GAO, Y. Inhibition effects of volatile organic compounds from *Artemisia frigida* Willd. on the pasture grass intake by lambs. **Small Ruminant Research**, v. 121, p. 248–254, 2014. doi: 10.1016/j.smallrumres.2014.06.001

ZHANG, T.; LI, L.; SONG, L.; CHEN, W. Effects of temperature and light on the growth and geosmin production of *Lyngbya kuetzingii* (Cyanophyta). **Journal of Applied Phycology**, v. 21, p. 279–285, 2009.

ZHANG, Z.; LI, T.; WANG, D.; ZHANG, L.; CHEN, G. Study on the volatile profile characteristics of oyster *Crassostrea gigas* during storage by a combination sampling method coupled with GC/MS. **Food Chemistry**, v. 115, p. 1150–1157, 2009.

ZHAO, J.; YANG, L.; ZHOU, L.; BAI, Y.; WANG, B.; HOU, P.; *et al.* Inhibitory effects of eucalyptol and limonene on the photosynthetic abilities in *Chlorella vulgaris* (Chlorophyceae). **Phycologia**, v. 55, p.696–702, 2016.

ZHOU, L.; ZHAO, J.; XU, Q.; YANG, W.; ZUO, Z. Effects of eucalyptol and limonene on the photosynthetic abilities in *Chlamydomonas reinhardtii*. **Acta Hydrobiologica Sinica**, v. 40, p. 294–300, 2016.

ZUO, Z.; CHEN, Z.; ZHU, Y.; BAI, Y.; WANG, Y. Effects of NaCl and Na₂CO₃ stresses on photosynthetic ability of *Chlamydomonas reinhardtii*. **Biologia**, v. 69, p. 1314–1322, 2014.

ZUO, Z.; WANG, B.; YING, B.; ZHOU, L.; ZHANG, R. Monoterpene emissions contribute to thermotolerance in *Cinnamomum camphora*. **Trees**, v. 31, p. 1759–1771, 2017.

ZUO, Z.; YANG, L.; CHEN, S.; YE, C.; HAN, Y.; WANG, S.; *et al.* Effects of nitrogen nutrients on the volatile organic compound emissions from *Microcystis aeruginosa*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 161, p. 214–220, 2018a.

ZUO, Z.; YANG, Y.; XU, Q.; YANG, W.; ZHAO, J.; ZHOU, L. Effects of phosphorus sources on volatile organic compound emissions from *Microcystis flos-aquae* and their toxic effects on *Chlamydomonas reinhardtii*. **Environmental Geochemistry and Health**, v. 40, p. 1283–1298, 2018b.

ZUO, Z.; ZHU, Y.; BAI, Y.; WANG, Y. Acetic acid-induced programmed cell death and release of volatile organic compounds in *Chlamydomonas reinhardtii*. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 51, p. 175–184, 2012a.

ZUO, Z.; ZHU, Y.; BAI, Y.; WANG, Y. Volatile communication between *Chlamydomonas reinhardtii* cells under salt stress. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 40, p. 19–24, 2012b.