



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS ALIMENTOS

Francihellen Querino Canto

**Manipulação da qualidade de luz como técnica para otimização da produção e da  
qualidade de biomassa de Spirulina (*Arthrospira platensis*)**

**FLORIANÓPOLIS - SC**

**2024**

FRANCIHELLEN QUERINO CANTO

**Manipulação da qualidade de luz como técnica para otimização da produção e da  
qualidade de biomassa de Spirulina (*Arthrospira platensis*)**

Dissertação submetida ao programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciência dos Alimentos.

**Orientador:** Prof. Dr. Giustino Tribuzi

**Coorientador:** Prof. Dr. Fábio de Farias Neves

**FLORIANÓPOLIS - SC**

**2024**

CANTO, Francihellen

Efeitos da qualidade de luz na produção e qualidade da biomassa de Spirulina (*Arthrospira platensis*) / Francihellen CANTO ; orientador, Giustino Tribuzi, coorientador, Fábio Neves, 2024.

63 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós Graduação em Ciências da Reabilitação, Florianópolis, 2024.

Inclui referências.

1. Ciências da Reabilitação. 2. Ficocianina. 3. Spirulina . 4. comprimento de onda. 5. fotossíntese. I. Tribuzi, Giustino. II. Neves, Fábio. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Reabilitação. IV. Título.

Francihellen Querino Canto

**Manipulação da qualidade de luz como técnica para otimização da produção e da  
qualidade de biomassa de Spirulina (*Arthrospira platensis*)**

O presente trabalho em nível de Mestrado foi avaliado e aprovado, em 08 de Maio de 2024,  
pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. José Bonomi Barufi, Dr.

Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Carlos Yure Barbosa de Oliveira, Dr.

Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado  
adequado para obtenção do título de Mestra em Ciência dos Alimentos

---

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

---

Prof. Giustino Tribuzi, Dr

Orientador

Florianópolis, 2024

*Este trabalho é dedicado aos meus queridos e amados pais Edison de S. Canto e Altair Querino C., que nunca mediram esforços para me proporcionar uma educação de qualidade. minhas irmãs Suhellem e Hellen QC, e ao meu noivo Bruno Rosa.*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente quero iniciar expressando minha profunda gratidão a Deus, a fonte de toda sabedoria e força que me sustentou ao longo desta jornada acadêmica, aquele que me protege e rege minha vida todos os dias.

Aos meus pais Edison e Altair, pelo apoio e amor incondicional constante ao longo de toda minha vida e trajetória acadêmica. Por estarem sempre presentes me apoiando a alcançar meus objetivos, que nunca mediram esforços para me verem feliz.

As minhas irmãs Suhellem e Hellen, que são verdadeiros presentes que a vida me deu, obrigada pelo apoio mútuo e cumplicidade que compartilhamos.

Ao meu noivo Bruno, que merece uma menção especial por sua compreensão, apoio constante e presença atenciosa ao longo de toda a minha jornada acadêmica. Sua paciência e encorajamento foram fundamentais para superar desafios e alcançar este momento tão importante.

A família Chagas Marghetti, em especial as minhas madrinhas e padrinho (Nilda, Janete, Gelson), pelo apoio inestimável por se fazerem tão presentes em todos os momentos da minha vida, e não medirem esforços para me apoiar em cada passo desse caminho.

À minha equipe de orientação, expresso minha profunda gratidão ao Professor Giustino Tribuzi e ao Professor Fábio de Farias Neves.

Ao Professor Giustino Tribuzi, agradeço imensamente pela orientação e apoio fornecidos durante o desenvolvimento desta pesquisa, pelo conhecimento transmitido, pelo apoio, paciência e compreensão em todos os momentos, foram anos desafiadores com alguns momentos muito difíceis, mas sua constante motivação e confiança no meu trabalho foram essenciais nesta trajetória, me fazendo crescer não só profissionalmente, mas como ser humano também.

Ao Professor Fábio de Farias Neves, que foi não apenas meu co-orientador, mas também continua sendo um mentor valioso em minha vida, cuja orientação sábia e apoio inestimável continuam sendo essenciais para meu crescimento pessoal e acadêmico meu eterno agradecimento por sua orientação desde a graduação, pela amizade sincera e pelo apoio constante em todas as fases deste trabalho e da minha vida. Das Algas para a vida!!

Agradeço toda à equipe do laboratório LAFIC, especialmente ao Professor José Bonomi Barufi, por prontamente disponibilizar toda estrutura do laboratório e por ter me fornecido todo o suporte durante a execução dos experimentos. Agradeço imensamente por todo suporte e conhecimento compartilhado. Agradeço aos alunos do professor José Kaõa e

Gabi por todo apoio durante a execução dos experimentos, vocês foram incríveis me deram todo suporte, sou imensamente grata por tudo. Gratidão LAFIC.

Às minhas colegas de mestrado, Fabiele, Mariana Demarco e Gabrielly, por compartilharem comigo não apenas o ambiente acadêmico, mas também momentos de amizade, aprendizado e crescimento mútuo.

Às minhas amigas de longa data, Thais Agda e Gabriela Amorim, por serem fontes de conforto e apoio nos momentos mais desafiadores, obrigada meninas por todo companheirismo e por serem presentes em minha vida.

Agradeço também à toda equipe do LCBA/UFSC, (Amanda, Nat, Ana C., Isa, Rafa, Ricardo, Ana F., e Professor Cristian Berto, por compartilharmos juntos diversos momentos o apoio de vocês, conselhos valiosos e suporte emocional foram essenciais para superar desafios e alcançar este marco acadêmico, sou imensamente grata por ter vocês como amigos.

À Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), expresso minha gratidão pelo ensino público, gratuito e de qualidade, que tornou possível minha formação.

Por fim, agradeço a todos que, de uma forma ou de outra, contribuíram para que este mestrado fosse possível, pois foi outro grande desafio para o meu crescimento acadêmico e pessoal...

Muito obrigado!

*“As nuvens mudam sempre de posição, mas são sempre nuvens no céu. Assim devemos ser todo dia, mutantes, porém leais com o que pensamos e sonhamos; lembre-se, tudo se desmancha no ar, menos os pensamentos”.*

*(Paulo Beleki)*

## RESUMO

A cianobactéria spirulina (*Arthrospira platensis*) é uma microalga de alto valor nutricional e biológico. A indústria alimentícia tem explorado amplamente sua utilização devido ao elevado conteúdo de proteínas, vitaminas, minerais e ser fonte de pigmento azul natural (ficocianina), o qual é apontado como um promissor substituto dos corantes sintéticos, uma vez que estes geralmente são tóxicos, dependendo da concentração em que são adicionados aos alimentos. O interesse crescente na ficocianina se deve à sua ampla gama de aplicações, pois não necessita de processos químicos adicionais para utilização, é reconhecida como segura para consumo, além de apresentar uma coloração azul, que é incomum em organismos vivos e muitas vezes associada a toxinas em fontes minerais. Além de sua função como corante natural seguro, a ficocianina é reconhecida como um composto bioativo com uma gama de atividades terapêuticas, incluindo antioxidantes e anti-inflamatórias. Nos últimos anos a demanda por ficocianina aumentou acentuadamente. A concentração de ficocianina nas células de *A. platensis* é influenciada por alguns fatores de cultivo, os quais são capazes de provocar alterações na composição da biomassa. Entre estes fatores, a luz exerce um papel mútuo na qual a qualidade e a intensidade, exercem grande impacto sobre os cultivos, pois pode influenciar não apenas nos teores dos pigmentos, e outros metabólitos, mas também no crescimento celular; por exemplo: uma alta intensidade luminosa pode resultar em estresse foto-oxidativo, enquanto uma baixa iluminação pode reduzir o crescimento e aumentar o conteúdo de pigmentos. Portanto, o contínuo conhecimento das respostas fisiológicas e bioquímicas em função da modificação da luz é de grande interesse comercial, para otimizar a produção de biomassa e dos biocompostos de alto valor agregado. Entretanto, faz-se necessário maior compreensão sobre o efeito de diferentes comprimentos de onda dispostos em diferentes irradiâncias sob o crescimento e a produção de ficocianina em *A. platensis*. Em vista disso, o objetivo do presente estudo foi investigar o efeito sinérgico do comprimento de onda e da irradiância sob o crescimento, atividade fotossintética e o acúmulo de ficocianina. A pesquisa foi dividida em dois experimentos onde o experimento 1 avaliou o efeito de diferentes comprimentos de onda e intensidades de luz (12 comprimentos de onda com 5 irradiâncias) na resposta metabólica da microalga em relação a atividade fotossintética e crescimento de *A. platensis* e o experimento 2 o potencial efeito de 3 qualidade de luz (520nm, 590nm, 670nm) sob a mesma intensidade ( $163 \mu\text{mols.m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) como estímulo para maior acúmulo de ficocianina na biomassa de *A. platensis*. Com o presente estudo é possível concluir que os cultivos expostos a condições de iluminação na região vermelha do espectro eletromagnético obtiveram melhores taxas de crescimento e atividade fotossintética. Entretanto, a utilização de comprimentos de ondas de 570nm e 730nm tem maior potencial para manipulação metabólica da microalga, possivelmente influenciando nas condições para a produção de biomoléculas essenciais, tais como proteínas e ficocianina.

**Palavras-chave:** cianobactéria; ficocianina; fotossíntese, comprimento de onda, intensidade de luz.

## ABSTRACT

The cyanobacterium *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) is a microalga with high nutritional and biological value. The food industry has extensively explored its use due to its high protein, vitamin, mineral content, and being a source of natural blue pigment (phycocyanin); This pigment is considered a promising substitute for synthetic dyes, as these are generally carcinogenic or unsafe, depending on the concentration added to foods. The increasing interest in phycocyanin is due to its wide range of applications, as it does not require additional chemical processes for use, is recognized as safe for consumption, and presents a blue color, which is unusual in living organisms and often associated with toxins in mineral sources. In addition to its function as a safe natural dye, phycocyanin is recognized as a bioactive compound with a range of therapeutic activities, including antioxidant and anti-inflammatory properties. In recent years, the demand for phycocyanin has increased sharply. The concentration of phycocyanin in *A. platensis* cells is influenced by some cultivation factors, which can cause changes in biomass composition. Among these factors, light plays a crucial role, where both quality and intensity have a significant impact on cultures, influencing not only pigment and other metabolite levels but also cell growth. For example, high light intensity can result in photo-oxidative stress, while low illumination can reduce growth and increase pigment content. Therefore, continuous understanding of physiological and biochemical responses to light modification is of great commercial interest to optimize biomass and high-value biocompound production. However, greater understanding of the effect of different wavelengths at different irradiances on the growth and phycocyanin production in *A. platensis* is needed. Therefore, the aim of this study was to investigate the synergistic effect of wavelength and irradiance on growth, photosynthetic activity, and phycocyanin accumulation. The research was divided into two experiments, where experiment 1 evaluated the effect of different wavelengths and light intensities (12 wavelengths with 5 irradiances) on the metabolic response of the microalgae regarding photosynthetic activity and growth of *A. platensis*, and experiment 2 assessed the potential effect of 3 light qualities (520nm, 590nm, 670nm) at the same intensity ( $163\mu\text{mols.m}^2.\text{s}^{-1}$ ) as a stimulus for increased phycocyanin accumulation in *A. platensis* biomass. With this study, it is possible to conclude that the cultures exposed to lighting conditions in the red region of the electromagnetic spectrum achieved better growth rates and photosynthetic activity. However, the use of wavelengths of 570nm and 730nm has greater potential for metabolic manipulation of the microalgae, possibly influencing the conditions for the production of essential biomolecules, such as proteins and phycocyanin.

**Keywords:** microalgae; phycocyanin; photosynthesis, wavelength, irradiance.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fotografia microscópica dos filamentos de <i>Arthrospira platensis</i> – espécie alvo do presente estudo. ....	20
Figura 2: Picos de absorbância característicos de pigmentos encontrados em microalgas dentro do espectro de luz visível. ....	22
Figura 3: Estrutura do ficobilissomo na membrana do tilacóide, apresentando os diferentes tipos de compostos que contemplam sua formação em monômeros, trimeros, hexâmetros. ....	23
Figura 4: Estruturas da ficocianina. (A) Estrutura cristalina da ficocianina em forma de hexâmero; (B) Esquemática da estrutura da ficocianina; (C) Estrutura química da ficocianobilina; (PCB), cromóforo responsável pela cor azul.....	24
Figura 5: Diagrama explicativo dos comprimentos de onda e frequência e relação com as cores do espectro eletromagnético dentro da faixa de luz visível. ....	28
Figura 6: Sistemas de cultivo de microalgas – (A) a foto apresenta uma foto mais ampla de uma fazenda de produção de microalgas a qual apresenta diversos tanques do tipo raceway como sistemas de cultivo já a foto B apresenta uma imagem mais próxima dos Raceway (sistema aberto) , C– apresenta a imagem de um sistema de fotobiorretator instalado na posição horizontal já a figura D– apresenta um outro modelo de fotobiorreator instalado verticalmente, apresentando a versatilidade dos fotobiorreatores. ....	31
Figura 7: As imagens de A-L apresentam os 12 tratamentos avaliados no experimento 1 da presente pesquisa, onde cada tratamento foi composto por 5 irradiâncias diferentes. ....	34
Figura 8: Comprimentos de onda e irradiâncias trabalhada em cada tratamento do experimento 1 .....	34
Figura 9: Desenho experimental do Experimento 1, o qual apresenta as condições em que foi realizado com cultivos na etapa 1, e quando os cultivos foram transferidos para os 12 diferentes comprimentos de onda e irradiância chamado de etapa 2, os parâmetros avaliados. ....	35
Figura 10: As imagens de A-D apresenta os 4 tratamentos avaliados no experimento 2, onde cada frasco com 500ml de cultivo de <i>Arthrospira platensis</i> representa uma unidade experimental que ficou sob influencia do mesmo comprimento de onda avaliado, sendo que o frasco de 250ml apresentado em cada figura é o cultivo controle.....	36
Figura 11: Desenho experimental do Experimento 2, o qual apresenta as condições em que foi realizado com cultivos etapa 1, e quando os cultivos foram transferidos para os 12 diferentes comprimentos de onda e irradiância etapa 2, os parâmetros avaliados. ....	36

Figura 12: Taxa de crescimento específico ( $\mu$ ) de <i>A. platensis</i> sob diferentes intensidades de luz para os 12 comprimento de onda do espectro eletromagnético trabalhada. ....	44
Figura 13: Taxa de crescimento específico dos cultivos de <i>Arthrospira platensis</i> sob os diferentes comprimentos de onda com as mesmas intensidades trabalhados no experimento 2. ....	46
Figura 14: Resposta de variação na taxa de crescimento para cada comprimento de onda utilizado no Experimento 1. ....	47
Figura 15: Taxa de transporte de elétrons (ETR) dos cultivos de <i>Arthrospira platensis</i> sob os 12 diferentes comprimentos de onda x irradiâncias trabalhadas, durante 3 e 5 dias.....	50
Figura 16: Resposta relativa da taxa de transporte de elétrons (ETR) sobre a variação da irradiância dos cultivos de <i>Arthrospira platensis</i> submetidos a diferentes comprimentos de onda, durante 3 e 5 dias. ....	51
Figura 17: Fluorescência de chlorofila- <i>a</i> exposta a diferentes comprimentos de luz sob a mesma irradiância. As cores das barras representam as cores dos (nm) as quais os cultivos de <i>Arthrospira platensis</i> foram expostos. ....	51
Figura 18: Concentração de ficocianina na biomassa de <i>Arthrospira platensis</i> cultivadas com as diferentes qualidades de luz trabalhada sob a mesma irradiância no experimento 2.....	52
Figura 19: Concentração de proteínas sob irradiância de $163\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ em diferentes comprimentos de onda.....	54

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Composição centesimal aproximada Spirulina ( <i>Arthrospira platensis</i> ). Dados apresentados em % de matéria seca.....	21
Tabela 2: Composição dos nutrientes do meio de cultura Zarrouk – Meio de cultura utilizado nos cultivos.....	33

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A: Absortância

Abs: Absorbância

ANOVA: Análise de variância

APC: Aloficocianina

BSA: Albumina sérica bovina

Chl $a$ : Clorofila  $a$

*CAGR: Taxa de crescimento composta anual*

ETR: Taxa de transporte de elétrons

EFSA: *European Food Safety Authority*

FDA: *Food and Drug Administration*

GRAS: *Generally Regard As Safe*

GR: (Green) tratamento de luz LED verde

IN: Instrução normativa

LAFIC: Laboratório de Ficologia

LCBA: Laboratório de Cultivo e Biotecnologia de Algas

LEDs: Diodos emissores de luz

PAM: *Pulse amplitude modulated - Fluorometer*

PAR: Radiação fotossinteticamente ativa

PC: Ficocianina

PE: Ficoeritrina

PSI: Fotossistema I

PSII: Fotossistema II

RED: tratamento de luz vermelha

WH: (White) tratamento de luz LED branca

YE: (Yellow) tratamento de luz LED amarela

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>16</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>19</b>
2.1	OBJETIVO GERAL.....	19
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	19
<b>3</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>20</b>
3.1	ARTHROSPIRA PLATENSIS (SPIRULINA).....	20
3.2	FICOBILIPROTEÍNAS .....	22
<b>3.2.1</b>	<b>Ficocianina</b> .....	<b>24</b>
3.3	FATORES QUE INFLUENCIAM A PRODUÇÃO DE MICROALGAS.....	26
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>32</b>
4.1	MATERIAL BIOLÓGICO E CONDIÇÕES DE CULTIVO .....	32
4.2	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....	32
<b>4.2.1</b>	<b>Experimento 1</b> .....	<b>33</b>
<b>4.2.2</b>	<b>Experimento 2</b> .....	<b>35</b>
4.3	ATIVIDADE FOTOSSINTÉTICA A PARTIR DA FLUORESCÊNCIA DE CLOROFILA <i>IN VIVO</i> .....	37
<b>4.3.1</b>	<b>Rendimento Quântico Efetivo</b> .....	<b>37</b>
<b>4.3.2</b>	<b>Taxa de Transporte de Elétrons</b> .....	<b>38</b>
4.4	TAXA DE CRESCIMENTO ESPECÍFICO ( $\mu$ ) .....	38
4.5	PROCESSAMENTO DA BIOMASSA .....	39
4.6	EXTRAÇÃO E DETERMINAÇÃO DE FICOCIANINA.....	39
<b>4.6.1</b>	<b>Determinação da Ficocianina</b> .....	<b>39</b>
4.7	PROTEÍNAS .....	40
4.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	41
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>42</b>
5.1	TAXA DE CRESCIMENTO.....	42
5.2	TAXA DE TRANSPORTE DE ELÉTRONS .....	48
5.3	FICOCIANINA .....	52
5.4	PROTEÍNAS .....	53
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>55</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>56</b>

## DIAGRAMA CONCEITUAL DO TRABALHO

### **Por quê?**

A Spirulina é uma cianobactéria com alto valor nutricional utilizada para elaboração de produtos na indústria alimentícia e de nutracêuticos.

A concentração de ficocianina é influenciada pelas condições de cultivo da microalga que podem resultar na sua degradação ou aumento na biomassa.

A ficocianina é um pigmento azul natural com alto valor comercial e com potencial uso na elaboração de bebidas e alimentos.

### **O que já foi publicado na literatura?**

Efeito dos diodos emissores de luz (LEDs) na composição de biomassa de *Arthrospira platensis*.

A ficocianina pode ser manipulada tanto pela intensidade de luz quanto pelo espectro de luz.

### **Hipóteses da pesquisa**

O comprimento de onda da radiação emitida (qualidade da luz) no cultivo de Spirulina, pode aumentar o teor de ficocianina na biomassa e de outros compostos de interesse assim como melhorar a qualidade da biomassa cultivada agregando maior valor comercial.

### **Experimentos**

Experimento 1: avaliou o efeito de diferentes comprimentos de onda e intensidades de luz (12 comprimentos de onda com 5 irradiâncias) na atividade fotossintética e crescimento de *Arthrospira platensis*.

Experimento 2: avaliou o efeito de 3 qualidade de luz (520nm, 590nm, 670nm) sob a mesma intensidade ( $163\mu\text{mols.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ) sobre o teor de ficocianina na biomassa de *Arthrospira platensis*.

## 1 INTRODUÇÃO

Com o crescimento da população mundial, há a necessidade de fontes sustentáveis de proteína como forma de não comprometer a disponibilidade deste importante insumo na nutrição humana (Milião et al., 2022; Nguyen et al., 2022). As microalgas são micro-organismos fotossintéticos encontrados em ambientes marinhos e de água doce, e que são apontadas como fonte promissora para suprir essa e outras demandas emergentes da sociedade moderna (Demarco et al., 2022). Além disso, em comparação com os alimentos convencionais, os alimentos à base de microalgas têm um perfil de baixo carbono e mais ecológico pois, as microalgas podem ser produzidas em terras não-aráveis com uma alta taxa de produção por metro quadrado e, assim, reduzir o desmatamento de biomas para a conversão em terras de atividade agrícola (Oliveira; Bragotto, 2022; Maehle; Skjeret, 2022; Weinrich; Elshiewy, 2019).

A indústria alimentícia tem explorado as microalgas como fontes promissoras para o desenvolvimento de novos produtos. Assim a biomassa de microalgas já foi utilizada em diversos produtos alimentícios, como por exemplo, massas, biscoitos, salgadinhos, balas, gomas, iogurtes, bebidas e pães (Batista et al., 2012; Fradique et al., 2010; Grahl et al., 2020; Maehle; Skjeret, 2022), possibilitando o desenvolvimento de novos alimentos nutracêuticos (Plaza; Ciufuentes; Ibanez, 2008), proporcionando benefícios à saúde e ao meio ambiente. Entre os anos de 2015 e 2019 foram relatados a elaboração de 13.090 novos produtos alimentícios a base de algas e/ou componentes derivados das mesmas, sendo estes cerca de 79% em elaboração de alimentos e 21% em bebidas (Boukid; Castellari, 2021; Oliveira; Bragotto, 2022).

A spirulina (*Arthrospira platensis*) é um micro-organismo fotossintético, que possui uma coloração verde azulada, com filamentos helicoidais, reconhecida pela Organização Mundial da Saúde como superalimento por possuir altas concentrações de proteínas, atingindo teores acima de 60% do seu peso seco (Mitra; Mishra, 2019). O aparato fotossintético de *A. platensis* contém clorofila a e ficobiliproteínas como pigmentos acessórios, que atuam como componentes dos fotossistemas (Chia et al., 2019; Kannaujia et al., 2019; Pez Jaeschke et al., 2021). As ficobiliproteínas possuem a capacidade de absorver e transferir a energia luminosa em direção ao fotossistema com ótimo rendimento quântico. Estes pigmentos podem ser subdivididas em três subclasses principais de acordo com a sua faixa de absorção: ficocianina (PC de coloração azul  $\lambda_{\text{máx}}$ : 610-620nm), aloficocianina (APC de coloração verde-azulada  $\lambda_{\text{máx}}$ : 650-655nm) e ficoeritrina (PE de coloração roxa  $\lambda_{\text{máx}}$ : 540-560nm)(Sekar;

Chandramohan, 2008; Sonani et al., 2017). As ficobiliproteínas presentes nas cianobactérias têm ganhado importância no setor industrial, pois possuem diversas aplicações.

A ficocianina está presente em altas concentrações e em particular é o principal pigmento de coloração azul brilhante presente na *Spirulina*. Este pigmento possui aplicações comerciais de interesse pelas indústrias farmacêutica e alimentícias, devido às propriedades bioativas que incluem atividades antioxidante, anti-inflamatórias, antitumorais e neuroprotetivas (Yu et al., 2017). A utilização deste pigmento em alimentos possibilita a substituição do uso de corantes sintéticos em diversos produtos, se tornando ingrediente atrativo nos alimentos e apresentando propriedades benéficas para a saúde humana (Soni; Sudhakar; Rana, 2017). O conteúdo deste pigmento pode atingir 20% do peso seco da microalga, e possui características importantes para a aplicação como pigmentos como: boa solubilidade em água e estabilidade na faixa de pH 5-7 (Sonani et al., 2017). Nos últimos anos a demanda por ficocianina aumentou acentuadamente com a busca por corantes naturais e suplementos nutricionais (FMI, 2018; Yu et al., 2023).

A concentração de ficocianina nas células de *A. platensis* é influenciada por alguns fatores de cultivo, os quais são capazes de provocar alterações na composição da biomassa (Walter, 2019). Entre estes fatores, a luz exerce grande impacto sobre os cultivos, pois pode influenciar não apenas nos teores dos pigmentos, e outros metabólitos, mas também no crescimento celular; por exemplo: uma alta intensidade luminosa pode resultar em estresse foto-oxidativo, enquanto uma baixa iluminação pode reduzir o crescimento e aumentar o conteúdo de pigmentos (Atta et al., 2013; Da Fontoura Prates et al., 2020; Kaur et al., 2022; Prates et al., 2018). Portanto, o contínuo conhecimento das respostas fisiológicas e bioquímicas em função da modificação da luz é de grande interesse comercial, para otimizar a produção de biomassa e dos biocompostos de alto valor agregado (Baer et al., 2016).

No estudo conduzido por Chini Zitteli et al. (2022) foi demonstrado que o crescimento e atividade fotossintética de *A. platensis* foi mais alta usando luzes laranjas, enquanto o percentual de ficocianina foi maior usando a luz azul (atingindo cerca de 13% do peso seco). Já Raeisossadati et al. (2019) reportou que o uso de um artefato luminescente vermelho aumentou a produtividade de ficocianina em *A. platensis* em até 44% em comparação à luz solar (controle).

Entretanto, faz-se necessário maior compreensão sobre o efeito de outros comprimentos de onda além desses investigados na literatura dispostos em diferentes irradiâncias sob o crescimento e a produção de ficocianina em *A. platensis*. Em vista disso, o objetivo do presente estudo foi investigar qual comprimento de onda possui maior influência

sobre o metabolismo de *Arthospira platensis* com o intuito de identificar melhores estratégias para manipulação da composição bioquímica da spirulina em especial do pigmento ficocianina.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito da luz no crescimento, fotossíntese e compostos bioquímicos de *Arthrospira platenses*.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a influência de diferentes comprimentos de onda e de irradiâncias sob o cultivo de Spirulina *A. platensis* em fase de crescimento exponencial para maior acúmulo de ficocianina na biomassa;

- Avaliar a resposta da *A. platensis* sob a taxa de crescimento específico quando submetida a diferentes espectros de radiação durante o período experimental;

- Avaliar a resposta fisiológica de *A. platensis* em termos de taxa de transporte de elétrons (ETR) submetida a diferentes espectros de radiação durante o período experimental;

- Avaliar a influência de diferentes comprimentos de onda sobre o teor de ficocianina na biomassa de *A. platensis*;

- Avaliar a influência de diferentes comprimentos de onda sobre o teor de proteínas na biomassa de *A. platensis*.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 ARTHROSPIRA PLATENSIS (SPIRULINA)

*Arthrospira platensis*, amplamente conhecida como Spirulina, é uma cianobactéria com formato filamentosso caracterizado por tricomas cilíndricos espiralados (Figura 1). A Spirulina desempenha um papel de significância notável na alimentação humana há séculos, com inserção na alimentação de civilizações antigas das Américas e da África. Tradicionalmente, esta cianobactéria era colhida de águas alcalinas e secas ao sol, como as encontradas no lago salino Toxococo, no México, onde os astecas a colhiam há muitos anos para enriquecer suas dietas (Papadaki et al., 2017; Prates et al., 2018b; Silva, 2008).

Figura 1: Fotografia microscópica dos filamentos de *Arthrospira platensis* – espécie alvo do presente estudo.



Fonte: 2022

Esta cianobactéria tornou-se a microalga mais cultivada no mundo, onde 30% da produção de biomassa microalgal é de spirulina, maior parte é comercializada em flocos, capsula ou pó seco e consumida como suplemento alimentar (Costa et al., 2019; Lafarga, 2019) devido ao alto conteúdo de nutrientes como proteínas, ácidos graxos essenciais, vitaminas e minerais (Tabela 1).

No cenário atual a Spirulina é considerada pelo FDA (*Food and Drug Administration*) como GRAS (*Generally Regarded As Safe*). No Brasil pode ser legalmente comercializada como alimento ou complemento nutricional. Ainda, segundo a Instrução Normativa – IN nº 28, de Julho de 2018, a spirulina (*Arthrospira platensis*), está na lista de constituintes autorizados para uso em suplementos alimentares (ANVISA, 2018).

Tabela 1- Composição centesimal aproximada da Spirulina (*Arthrospira platensis*). Dados apresentados em % de matéria seca.

Componente	Laboratório de análise			
	FOI	SAC	IPGSR	BAU
Proteína bruta	65	55-70	61	60
Carboidrato solúvel	19	-	14	-
Lipídio bruto	4	5-7	6	7
Fibra bruta	3	5-7	-	-
Minerais	3	3-6	9	11
Umidade		4-7	6	9

FOI = French Oil Institute; SAC = Siam Algae Co. Ltd; IPGSR = Institute of Post-graduate Studies and Research laboratory, University of Malaya; BAU = Bangladesh Agricultural University. - não quantificado.

Fonte: Adaptado de HABIB et al. (2008).

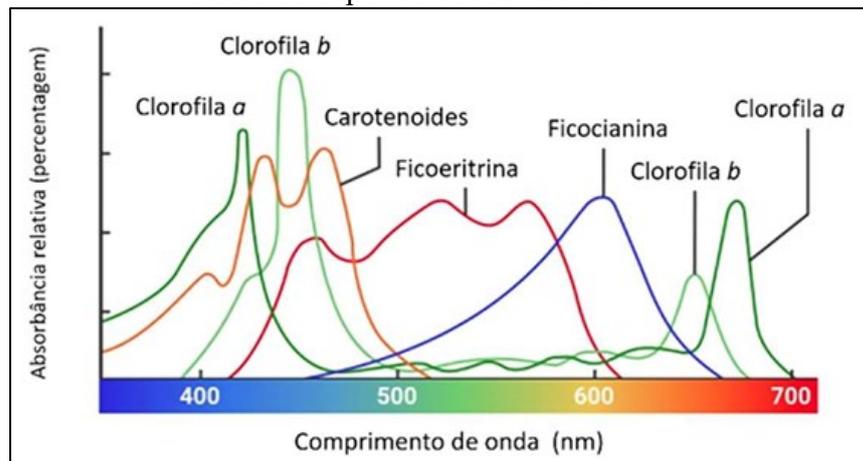
A spirulina é apontada como uma das microalgas mais promissoras para elaboração de diversos alimentos uma vez que os nutrientes são de fácil absorção pelo corpo humano (Seo et al., 2013) e vem sendo comercializada em diversos países como suplemento e pigmento natural, principalmente em forma de pó. A composição em matéria seca possui altas concentrações de macro e micronutrientes, destacando-se o alto conteúdo proteico (55% e 70% do seu peso seco), com uma composição de aminoácidos essenciais, nas proporções recomendadas pela ONU para a alimentação (Becker, 2007). A incorporação da biomassa de spirulina em determinados alimentos é considerada uma inovação com alto potencial tecnológico e comercial, pois agrega valor nutricional a produtos já conhecidos pela população. Comparado com Spirulina na forma de pó comercial, os alimentos incorporados com biomassa são mais aceitos pelos consumidores devido às suas melhores propriedades sensoriais (Almeida et al., 2021; Lucas et al., 2018; Marco et al., 2014).

A spirulina também é fonte rica em outros compostos que possuem alto valor agregado como os pigmentos fotossintéticos, clorofilas, carotenóides e ficobiliproteína, esses compostos possuem potenciais aplicações na indústria de alimentos como pigmentos (Lafarga et al., 2020; Rodriguez-Concepcion et al., 2018), sendo uma fonte biotecnologicamente interessante de corantes naturais porque: (i) possuem uma ampla gama de pigmentos; (ii) rápida multiplicação; (iii) podem conter pigmentos em concentrações consideravelmente superiores às encontradas em plantas vasculares (Lamers et al., 2010; Mulders et al., 2014). No entanto, a concentração destes pigmentos, sob condições ótimas de crescimento, é muitas vezes baixa para tornar economicamente viável o mercado de pigmentos oriundos de microalgas.

### 3.2 PIGMENTOS E FICOBILIPROTEÍNAS

Os pigmentos presentes nas microalgas e cianobactérias são agrupados em clorofilas (chls), carotenóides e ficobiliproteínas. As diferenças entre esses grupos estão relacionadas à sua estrutura química, sendo estes os principais componentes para o processo fotossintético, os quais capturam a energia luminosa e canalizam para o centro de reação fotossintética contendo a clorofila *a*. Nas cianobactérias, essas proteínas se associam formando o ficobilissomo, sendo responsáveis por até 50% da captura de energia luminosa (Chang et al., 2015). Os pigmentos dos grupos clorofila, carotenoides e ficobiliproteínas são os principais pigmentos que absorvem a radiação luminosa para o processo fotossintético. Os pigmentos possuem os picos distintos de absorção de radiação na região visível do espectro eletromagnético conforme mostrado graficamente na Figura 2 (Lehmuskero et al 2018; Mulders et al., 2014).

Figura 2- Picos de absorbância característicos de pigmentos encontrados em microalgas dentro do espectro de luz visível.



Fonte: (Lima, 2022)

As ficobiliproteínas são estruturas subcelulares que desempenham um papel fundamental na captura de luz e na transferência de energia para o interior dos ficobilissomos. Elas estão envolvidas em todo o processo de transferência de energia, começando pela ficoceritrina, passando pela ficocianina, pela aloficocianina e, finalmente, pela clorofila *a* (Manirafasha et al., 2016; Viskari; Kinkade; Colyer, 2001).

As ficobiliproteínas são responsáveis por formar estruturas fundamentais conhecidas como ficobilissomos, que desempenham um papel crucial na absorção de luz pelas células de cianobactérias. Organizados em padrões específicos na superfície externa das membranas tilacóides, esses ficobilissomos têm como principal componente a ficocianina, uma substância

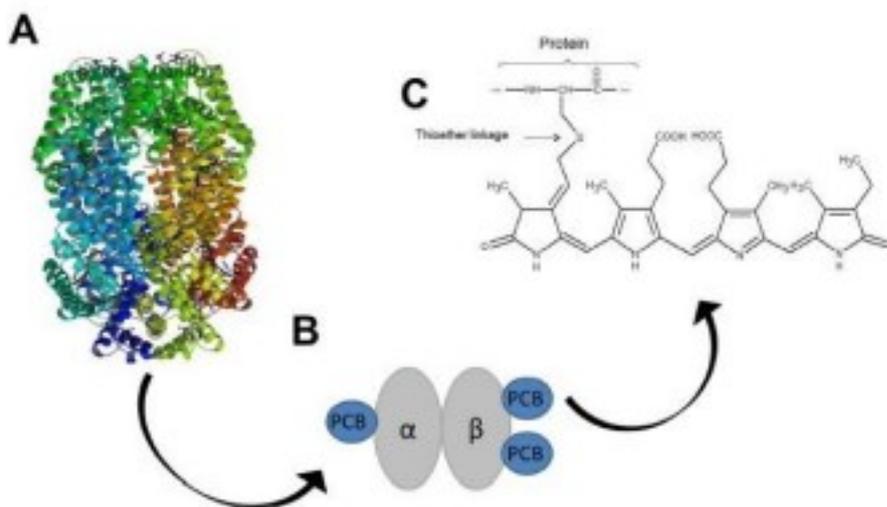


### 3.2.1 Ficocianina

Dentre as ficobiliproteínas encontradas na *Spirulina*, a ficocianina é a mais abundante (Antelo et al., 2010). A ficocianina é um pigmento fotossintético acessório azul natural pertencente à família das ficobiliproteínas encontrada, entre outras cianobactérias, na *Arthrospira platensis*, variando até 20% do total de proteínas (Su et al., 2014), e é composta por duas subunidades semelhantes: uma cadeia alfa com uma ficocianobilina ligada à cisteína 84, e a cadeia beta com duas ficocianobilinas ligadas à cisteína 84 e 155 (Figura 4). Essas subunidades formam um complexo de monômeros, trímeros, hexâmeros e oligômeros, sendo que seu peso molecular varia de 44 a 260 kDa (Fernández-Rojas; Hernández-Juárez; Pedraza-chaverri, 2014; Su et al., 2014).

Uma das aplicações primordiais da ficocianina é sua utilização como corante natural na indústria alimentícia, devido à sua tonalidade azul. Autoridades reguladoras nacionais e internacionais, como a *Food and Drug Administration* (FDA) dos Estados Unidos e a *European Food Safety Authority* (EFSA) da Europa, têm restringido o uso de corantes sintéticos em formulações de alimentos devido à sua associação com o desenvolvimento de câncer e reações alérgicas. Diante dessas preocupações, a indústria alimentícia está cada vez mais interessada na pesquisa sobre extração, aplicação e estabilidade de corantes naturais (Martelli et al., 2014).

Figura 4: Estruturas da ficocianina. (A) Estrutura cristalina da ficocianina em forma de hexâmero; (B) Esquemática da estrutura da ficocianina; (C) Estrutura química da ficocianobilina; (PCB), cromóforo responsável pela cor azul



Fonte: (Fernández-Rojas; Hernández-Juárez; Pedraza-chaverri, 2014; Su et al., 2014).

A indústria de alimentos e bebidas está buscando corantes naturais para o desenvolvimento de produtos, como substitutos dos corantes sintéticos, uma vez que estes geralmente são tóxicos, cancerígenos ou inseguros, dependendo da concentração em que são adicionados aos alimentos (Bermejo Román et al., 2002; Soltan; Shehata, 2012). A ficocianina é comercializada de acordo com seu grau de pureza, que é definido pela razão entre seu pico de absorbância em 620 nm e a absorbância de proteínas em 280 nm. Quando esta relação é  $\geq 0,7$ , considera-se pureza de grau alimentício (Rito-Palomares; Nuñez; Amador, 2001).

O interesse crescente na ficocianina se deve à sua ampla gama de aplicações, pois (i) não necessita de processos químicos adicionais para utilização, (ii) é reconhecida como segura para consumo, e (iii) apresenta uma coloração azul, que é incomum em organismos vivos e muitas vezes associada a toxinas em fontes minerais. Além disso, dependendo do método de extração, a ficocianina pode exibir diferentes características, o que a torna ainda mais versátil para ser empregada como corante em produtos cosméticos e maquiagens (Sala; Moraes; Kalil, 2018).

Além de sua função como corante natural seguro, a ficocianina é reconhecida como um composto bioativo com uma gama de atividades terapêuticas, incluindo antioxidantes, anti-inflamatórias, anticancerígenas, antivirais e imunestimulantes. Suas propriedades fazem dela um elemento valioso em diversas aplicações biotecnológicas nos campos alimentício, cosmético, farmacêutico e médico (Ashaolu et al., 2021; Lauceri et al., 2023). Por conta destas características que nos últimos anos, aumentou a sensibilização dos consumidores para os riscos potenciais apresentados por certos aditivos alimentares no caso dos corantes alimentares sintéticos, uma vez que foi demonstrado que vários destes corantes aumentam o risco de desenvolvimento de cancro ou doenças imunológicas (Kuhnholz et al., 2024; Martelli et al., 2014).

O mercado de alimentos e bebidas está passando por um notável crescimento. Isto pode impulsionar a comercialização de ficocianina, tendo em vista os benefícios nutricionais e propriedades corantes da ficocianina, extraída da Spirulina, a espécie mais utilizada na produção industrial desse composto. A proibição da importação e exportação de produtos com corantes artificiais em diversos países tem impulsionado ainda mais a demanda pela ficocianina, em contraposição a corantes como o *Allura Red AC*, banido em nações como Dinamarca, França, Bélgica e Suíça (FMI, 2018).

Prevê-se que o mercado de ficocianina continue em expansão, impulsionado pelo lançamento de produtos que fazem uso de corantes alimentares orgânicos e naturais. Um

exemplo é o novo líquido azul de ficocianina lançado pela DDW Inc., que oferece uma estabilidade à luz de até 40%. Apesar dos custos associados à produção de corantes naturais, bem como dos processos de purificação e extração, e do potencial de contaminação por algas, espera-se que o mercado mantenha seu crescimento nos próximos anos (Yu et al., 2023).

Em 2022, o mercado global de ficocianina foi avaliado em US\$ 754,40 milhões. Com consumidores cada vez mais interessados em substâncias naturais de qualidade alimentar, prevê-se que o mercado atinja US\$ 1.487,7 milhões, com uma taxa de crescimento anual composta (CAGR) de 7% entre 2023 e 2033. O preço da ficocianina varia de acordo com sua pureza, oscilando entre US\$ 0,13 mg<sup>-1</sup> para aplicações alimentícias e US\$ 15,00 mg<sup>-1</sup> para usos em marcadores de fluorescência ou na indústria farmacêutica (Winayu et al., 2021).

No entanto existe alguns desafios do uso da ficocianina como corante natural que estão relacionados com sua extração, estabilidade e produção. A extração deste pigmento pode ser afetada por vários fatores, como o tempo e o solvente escolhido para o realizar o rompimento celular (Silveira et al., 2007), estando diretamente relacionada com a ruptura das células para liberação da proteína e quando extraído o pigmento possui baixa estabilidade o que limita sua utilização, a degradação pode ocorrer cerca de 50% após o período de 30 dias de exposição ao calor e à luz (Munawaroh et al., 2020). Esta instabilidade da ficocianina limita a sua utilização na indústria de alimentos e desenvolvimentos de novos produtos, pois causa despigmentação, perda na capacidade nutracêutica (Adjali et al., 2021).

### 3.3 FATORES QUE INFLUENCIAM A PRODUÇÃO DE MICROALGAS

Diversos fatores físicos, químicos e biológicos podem influenciar o cultivo de microalgas, modificar e alterar a composição na biomassa microalgal. Os principais fatores são luz, nutrientes, temperatura e pH (Richmond, 2004).

No cultivo de microalgas a aeração, com o propósito de gerar turbulência, é um processo de grande importância para homogeneização do meio de cultivo para que não haja decantação e acúmulo de células no fundo, ajudando também no controle de temperatura, transferência de gases e incidência luminosa (Cartas, 2018). A aeração também está relacionada à disposição de carbono, pois na maioria das formulações de meio de cultura não possui adição de fonte de carbono (Lourenço, 2006).

A microalga *Arthrospira platensis* possui um ótimo crescimento em condições de pH alcalino (pH em torno de 9,5 – 10), o que dificulta a proliferação de outros microrganismos, sendo uma vantagem para o cultivo aberto em larga escala (Hu, 2004; Oliveira, 2013). Já a

temperatura afeta diretamente na taxa metabólica dos microrganismos, cultivos com temperaturas constantes proporcionam maiores taxas de reprodução e estabilidade dos cultivos (Lourenço, 2006). A faixa temperatura para o crescimento é de 30 a 38°C, sendo que abaixo de 17°C e acima de 38°C, o crescimento é inibido (Soni et al., 2017).

A disponibilidade dos diversos elementos químicos é influenciada pelo pH. Esses elementos podem cristalizar e precipitar dependendo do pH do cultivo, tornando o meio impróprio para o cultivo (Lourenço, 2006). Para a cultura de *Spirulina* em laboratório, normalmente utiliza-se o meio de cultura desenvolvido por Zarrouk (1966), conhecido por oferecer as quantidades adequadas de sais minerais, principalmente bicarbonato de sódio, o qual fornece CO<sub>2</sub> para a fotossíntese (Becker; Venkataraman, 1994).

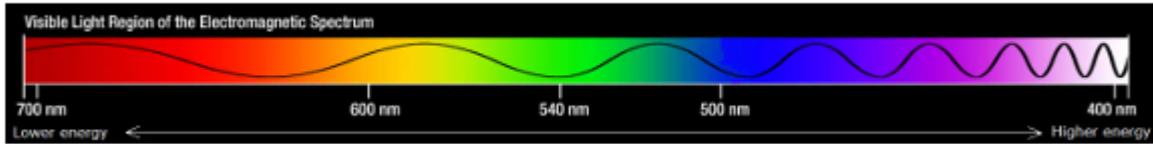
Os nutrientes utilizados no meio de cultura são de grande importância para o cultivo das microalgas, onde cada nutriente possui uma função específica no metabolismo dos microrganismos. O meio de cultura possui macronutrientes e micronutrientes que são necessários para as biomoléculas de grande importância para o crescimento e metabolismo das algas. Os nutrientes são de vital importância em todos os sistemas de cultivo (Salama et al., 2017).

Diversos compostos inorgânicos podem servir de fonte de nitrogênio como os sais de nitrato, sódio ou potássio para cultivos de *Arthrospira platensis*. Depois do carbono, o nitrogênio é o nutriente requerido em maiores quantidades, por ser constituinte de partes estruturais da célula como proteínas, ácidos nucleicos e pigmentos fotossintetizantes (Borba; Almeida; Camargo, 2003; Lourenço, 2006). A quantidade de nitrogênio e a qualidade da fonte resultam no melhor rendimento e na qualidade da biomassa de *Arthrospira platensis*.

Quando ocorre a limitação de nitrogênio no cultivo pode ocorrer a conversão de proteínas à carboidratos e lipídeos, além da degradação das ficocianinas, sendo utilizadas como fonte de nitrogênio (Lisboa, 2014). Colla et al al., (2004) observaram que o aumento de nitrogênio no meio levou a um aumento no teor de proteína.

Por outro lado, a luz é a principal fonte de energia para o crescimento e para os processos metabólicos das microalgas e cianobactérias (Atta et al., 2013; Prates et al., 2018). A luz visível constitui apenas uma fração desse amplo espectro eletromagnético (Figura 5), abrangendo comprimentos de onda entre 400 e 750 nm, que incluem as cores primárias e, quando combinadas, formam a luz branca. Dentro desse espectro visível, especificamente entre 400 e 700 nm, encontra-se a radiação fotossinteticamente ativa (PAR), responsável por fornecer a energia necessária para os processos de fotossíntese (Chronakis et al., 2008).

Figura 5: Diagrama explicativo dos comprimentos de onda e frequência e relação com as cores do espectro eletromagnético dentro da faixa de luz visível.



Fonte : (Barbosa, 2019) Adaptada de [science.nasa.gov/ems/09/visiblelight](https://science.nasa.gov/ems/09/visiblelight).

Embora a luz solar seja uma fonte gratuita de energia luminosa para esses organismos, o crescimento pode ser limitado pelos ciclos diurnos. Por outro lado, a luz artificial oferece vantagens como a regulação da intensidade, espectro e período, permitindo uma produção contínua (Baer et al., 2016; Soni; Sudhakar; Rana, 2017).

Organismos que realizam fotossíntese, como plantas e algas, possuem o pigmento clorofila *a* que tem a capacidade de absorver a radiação fotossinteticamente ativa (PAR) em todo o espectro de luz. No entanto, a clorofila *a* demonstra sua maior eficácia na absorção das faixas de luz vermelha (620-750 nm) e azul (450-495 nm), conforme apresentado na Figura 2. Para otimizar a absorção de radiação, esses organismos frequentemente utilizam pigmentos acessórios especializados em absorver luz em outros espectros de onda. Por exemplo, os carotenoides são pigmentos acessórios que absorvem especialmente a luz azul e verde (495-570 nm). Já em cianobactérias e algas vermelhas, os principais pigmentos acessórios são as ficobiliproteínas, que se diferenciam em ficoeritrina (PE) e ficocianina (PC). Essas substâncias são especializadas em absorver os comprimentos de onda específicos, com picos de absorção em torno de 540 a 570 nm para ficoeritrina e de 615 a 640 nm para ficocianina (Björn et al., 2008; Croce ; Van Amerongen, 2014).

A intensidade e a qualidade da luz desempenham papéis fundamentais na regulação da fotossíntese e no crescimento celular. Alguns estudos indicaram que a manipulação adequada da luz pode aumentar a eficiência fotossintética, a capacidade de remoção de CO<sub>2</sub> e modificar a composição de pigmentos (Baer et al., 2016; Soni; Sudhakar; Rana, 2017a). Por outro lado, se a energia luminosa for oferecida em níveis excessivos para uma cultura de microalga, é provável a ocorrência do fenômeno conhecido como fotoinibição, que afeta negativamente a eficiência do fotossistema II e inibe o crescimento das células, o que acaba influenciando na produção de metabólitos e na resposta ao estresse ambiental (HO et al., 2014a, 2014b, 2018).

Para otimizar os rendimentos de biomassa e de compostos bioativos, é essencial maximizar a eficiência fotossintética e ajustar o sistema de captação de luz para alcançar um equilíbrio durante o processo de fotossíntese (Grobbelaar, 2009; Wilhelm; Jakob, 2011).

A avaliação do rendimento fotossintético pode ser utilizada para entender o desempenho das microalgas em diferentes condições de cultivo. Métodos como a fluorescência de clorofila a *in vivo* permitem medir os rendimentos quânticos efetivos e/ou máximos, fornecendo informações precisas sobre o estado fisiológico das microalgas (Schreiber et al., 1995; Torzillo; Bernardini; Masojídek, 1998). Técnicas não invasivas, como a fluorescência modulada por amplitude de pulso (PAM), possibilitam o monitoramento em tempo real do crescimento e desenvolvimento das microalgas em diferentes ambientes de cultivo (Schreiber; Schliwa; Bilger, 1986). Além disso, a determinação dos quanta absorvidos e a taxa de transporte de elétrons oferecem *insights* valiosos sobre a capacidade fotossintética das microalgas e sua produção de carbono (Ritchie; Runcie, 2014). Essas metodologias permitem uma análise abrangente do desempenho fotossintético das microalgas, contribuindo para o desenvolvimento de estratégias de cultivo mais eficientes e sustentáveis (Jerez et al., 2016).

As cianobactérias demonstram uma capacidade notável de adaptação à qualidade e intensidade da luz, controlando sua composição de pigmentação em resposta ao espectro luminoso, um fenômeno conhecido como adaptação cromática. Variações nos fatores luminosos podem induzir alterações morfológicas e fisiológicas significativas nas cianobactérias (Paliwal et al., 2017; Vogelmann; Scheibe, 1978).

Além disso, é importante ressaltar que o estresse oxidativo pode influenciar positivamente as características comerciais das algas, induzindo a produção de metabólitos valiosos (Paliwal et al., 2017). A compreensão dos efeitos da luz no crescimento e no acúmulo de pigmentos das cianobactérias vem a colaborar para otimizar seu cultivo e explorar seu potencial biotecnológico (Prates et al., 2018a).

Os LEDs têm se mostrado promissores no cultivo de microalgas, influenciando diretamente o crescimento e a produção de biomassa (Baer et al., 2016). Estudos indicam que a eficácia dos LEDs varia de acordo com o espectro de luz emitido, com resultados promissores para LEDs amarelos e vermelhos. A possibilidade de produção em larga escala de ficocianina através da otimização do uso de LEDs representa uma perspectiva interessante para o futuro da biotecnologia (Baer et al., 2016).

A compreensão dos efeitos da luz no crescimento e metabolismo de microalgas e cianobactérias é fundamental para maximizar sua produção e explorar seu potencial biotecnológico. A manipulação adequada da luz pode aumentar a eficiência fotossintética, modular a composição de pigmentos e induzir a produção de metabólitos desejáveis, contribuindo para diversas aplicações industriais e ambientais. Para produção de pigmentos, o

sistema de cultivo ideal é aquele que gera, não só uma elevada produtividade de biomassa, mas também uma elevada concentração de pigmentos, com custos viáveis de produção, extração e purificação (KLEPACZ-SMÓŁKA et al., 2020).

Como uma alternativa rápida e eficiente de obter produtos naturais independentes de variações sazonais e condições de cultivo, que a produção de microalgas tornou-se promissora na obtenção de diversos compostos (Lima et al., 2018). Uma das vantagens em produzir microalgas é que o cultivo pode ser realizado em áreas agricultáveis ou não, se tornando mais ecológico em comparação com os alimentos convencionais, os alimentos à base de microalgas têm um perfil de baixo carbono, possuem rápido crescimento e alta produtividade em curto espaço de tempo, demandando áreas pequenas e com a possibilidade de manipular a produção de distintos compostos de interesse comercial em sua biomassa (Maehle; Skjeret, 2022b; Manirafasha et al., 2016).

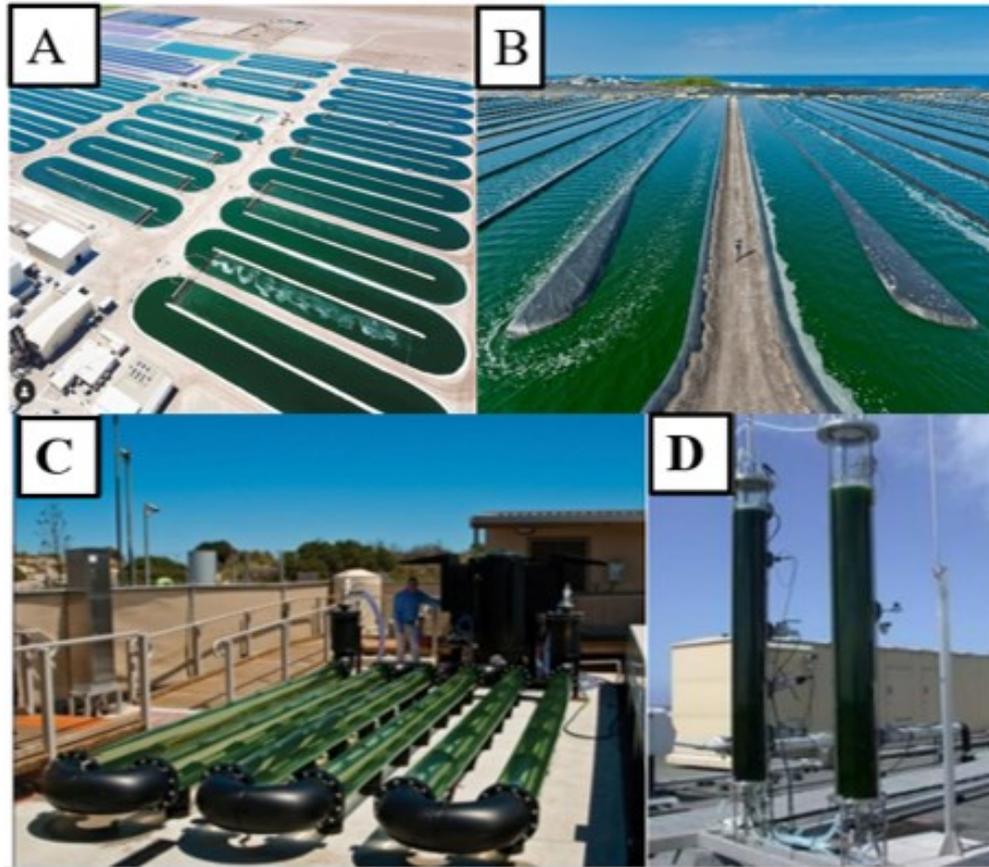
O cultivo da microalga pode ser realizado em sistemas abertos, como os *raceways*, ou em sistemas fechados e controlados, os chamados fotobiorreatores.

Os cultivos abertos (Figura 6A – 6B), são os sistemas mais utilizados desde 1950 até os dias de hoje, onde 90% de biomassa é cultivada em sistemas de tanques tipo *raceways*, tanques naturais ou artificiais de diversos modelos estruturais e com 30 cm de profundidade. Esse sistema proporciona a circulação de água, nutrientes e algas devido ao seu formato chamado de “pista de corrida” e aparatos de movimentação do fluxo de água do tipo *paddle-wheel* (Singh; Sharma, 2012), sendo de fácil escalonamento e manipulação, além de menor custo de investimento e operação quando comparados aos sistemas fechados (Brennan; Owende, 2010; Cuaresma et al., 2011; Singh; Sharma, 2012; Ugwu; Aoyagi; Uchiyama, 2008).

Os cultivos fechados (Figura 6C -6D) são sistemas que possuem um maior controle dos parâmetros de cultivo e menor risco de contaminação, indicado para cepas de microalgas mais sensíveis, que possuem pouca resistência aos diversos fatores que afetam um cultivo quando realizados em sistemas abertos (Schade; Meier, 2019).

Uma das principais etapas após o cultivo da microalga é o momento de colheita, a qual é realizada quando o cultivo atinge uma densidade microalgal alta, este processo ele pode ser realizado através de filtração com telas de até 50  $\mu\text{m}$ , além dos processos de centrifugação ou precipitação (Singh; Sharma, 2012; Soni; Sudhakar; Rana, 2017b; Tan et al., 2020).

Figura 6: Sistemas de cultivo de microalgas – (A) a foto apresenta uma foto mais ampla de uma fazenda de produção de microalgas a qual apresenta diversos tanques do tipo raceway como sistemas de cultivo já a foto B apresenta uma imagem mais proxima dos Raceway (sistema aberto) , C– apresenta a imagem de um sistema de fotobiorretator instalado na posição horizontal já a figura D– apresenta um outro modelo de fotobiorretator instalado verticalmente, apresentando a versatilidade dos fotobiorreatores.



Fonte: Adaptado de Kanemoto (2012)

- A - Empresa Earthise na Califórnia, EUA;
- B - Empresa Cyanotech no Havai;
- C - Fotobiorreatores horizontais, Austrália;
- D - Fotobiorreatores verticais na Holanda.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 MATERIAL BIOLÓGICO E CONDIÇÕES DE CULTIVO

Para realização da presente pesquisa foi utilizada a cepa de *Arthrospira platensis*, obtida da coleção de cepas do Laboratório de Cultivo e Biotecnologia de Algas (LCBA) da Universidade do Estado de Santa Catarina – Laguna, SC.

A manutenção da cepa de *Spirulina Arthrospira platensis* e produção do inóculo foi realizada com meio de cultura Zarrouk (Tabela 2), sob iluminação de 135  $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^2 \text{ s}^{-1}$  fornecida por lâmpadas de led branca com fotoperíodo de 12horas luz/12horas escuro, com aeração constante promovida por meio de um soprador de ar (modelo Boyu) e em temperatura constante de  $23 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ .

O cultivo foi mantido nestas condições até o 4º dia. Neste momento já havia atingido a fase de crescimento exponencial (etapa 1).

A partir do quarto dia de cultivo os cultivos foram transferidos para os tratamentos com as respectivas unidades experimentais em que ficaram sob influência dos diferentes comprimentos de onda e irradiância permanecendo nesta condição até o 12º (etapa 2), dia de cultivo o qual nesta fase se avaliou o acúmulo de ficocianina na biomassa. O processo de avaliar o cultivo na fase de crescimento exponencial foi empregado para que se obtivesse um maior acúmulo de biomassa mesmo nas condições que estaria em estresse.

### 4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Experimento 1 com o objetivo de avaliar quais comprimentos de onda (12 comprimentos de onda com 5 irradiâncias) possuem maior influência sobre as respostas na taxa de transporte de elétrons (atividade fotossintética) e na taxa de crescimento específico no cultivo de *Arthrospira platensis*.

Já o experimento 2 teve como objetivo avaliar o efeito de 3 qualidade de luz (520nm, 590nm, 670nm) sob a mesma intensidade ( $163 \mu\text{mols.m}^2. \text{ s}^{-1}$ ) sobre o teor de ficocianina na biomassa de *Arthrospira platensis*.

Ambos os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Ficologia do departamento de botânica da LAFIC/UFSC. O qual forneceu uma instalação e um ambiente propício para a realização das etapas experimentais, fornecendo os equipamentos necessários para conduzir a pesquisa de forma precisa e eficaz.

Tabela 2: Composição dos nutrientes do meio de cultura Zarrouk – Meio de cultura utilizado nos cultivos de spirulina (*Arthrospira platensis*).

<b>Nutriente</b>	<b>Concentração (g.L<sup>-1</sup>)</b>
NaCl	1g
CaCl <sub>2</sub>	0,04g
NaNO <sub>3</sub>	2,5g
FeSO <sub>4</sub>	0,01g
EDTA	0,08g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,5g
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1g
MgSO <sub>4</sub>	0,2g
NaHCO <sub>3</sub>	16,8g
Micronutrientes	1mL
<b>Solução de Micronutrientes</b>	<b>Concentração (g.L<sup>-1</sup>)</b>
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	2,86g
MnCl <sub>2</sub>	1,81g
ZnSO <sub>4</sub>	0,222g
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub>	0,023g
CuSO <sub>4</sub>	0,079g

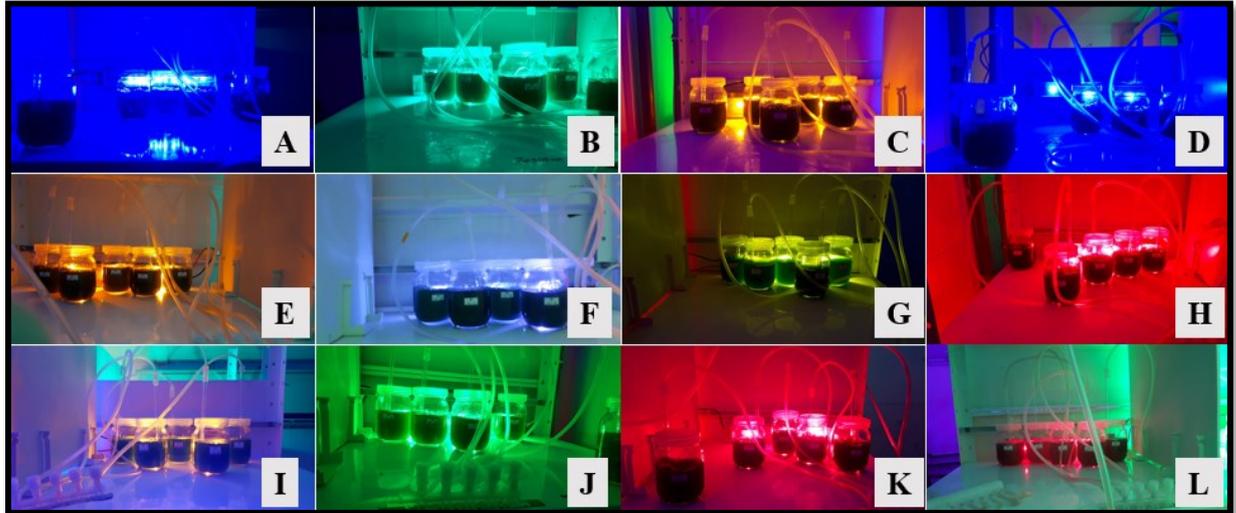
Fonte:(Zarrouk 1966)

#### 4.2.1 Experimento 1

O experimento 1 consistiu em um delineamento bifatorial resultante da combinação de 12 diferentes comprimentos de ondas e 5 irradiâncias em um ciclo claro/escuro de 12/12 h, conforme ilustrado na Figura 8. Foi utilizada radiação fotossinteticamente ativa (PAR) proveniente de lâmpadas de LED. O espectro de radiação das lâmpadas pode ser observado na Figura 9. As diferentes intensidades luminosas foram determinadas com base na distância em relação à fonte de luz, usando um medidor de quanta Li-Cor Biosciences, modelo Li-250A®.

Uma cultura de *Arthrospira platensis* com quatro dias de cultivo, em fase de crescimento exponencial, com uma densidade de  $14 \pm 2 \times 10^4$  filamentos mL<sup>-1</sup> foi transferida para os 60 frascos de vidro de 250 mL (figura 10). As unidades experimentais foram mantidas sob aeração e temperatura constante, para se avaliar o efeito de 12 diferentes comprimentos de onda sob 5 irradiâncias no cultivo de *A. platensis*, resultando em um delineamento 12 x 5 com três réplicas ao longo do tempo.

Figura 7: As imagens de A-L apresentam os 12 tratamentos avaliados no experimento 1 da presente pesquisa, onde cada tratamento foi composto por 5 irradiâncias diferentes.



Fonte: O autor 2021

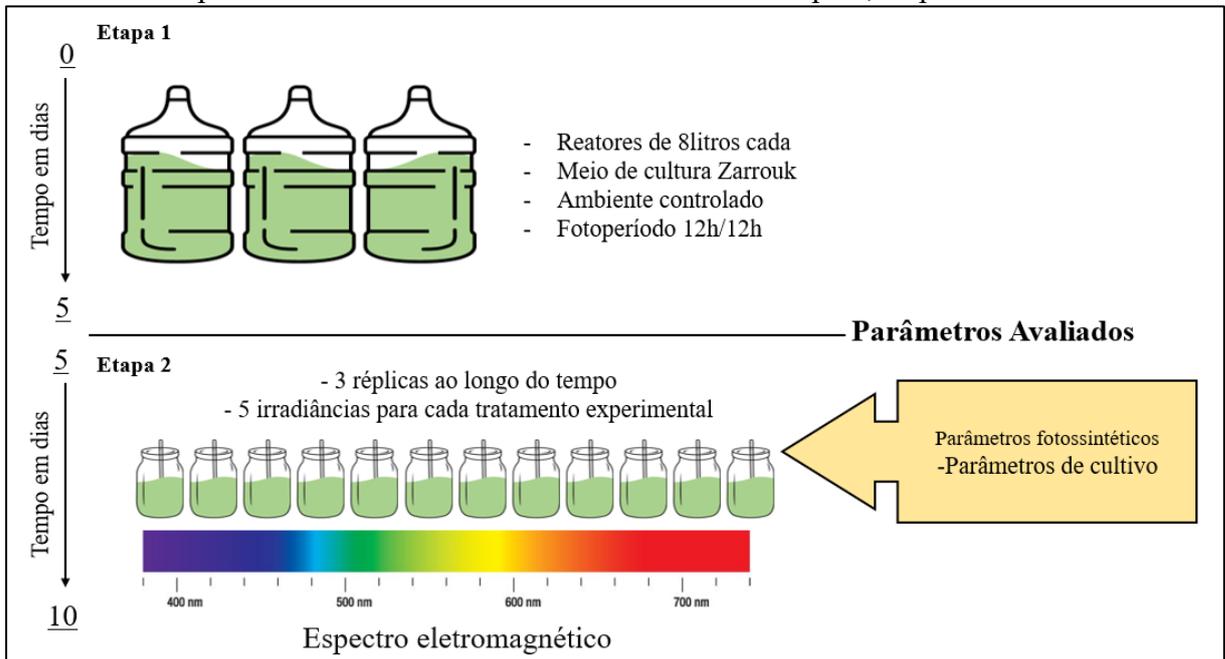
Para realização das análises em cada unidade experimental, a coleta de dados foi realizada em dias alternados dia 5,7,9, os seguintes parâmetros foram monitorados pH, salinidade, absorvância, temperatura, ETR (taxa de transporte de elétrons) e densidade de filamentos de cada unidade experimental.

Figura 8: Comprimentos de onda e irradiâncias trabalhada em cada tratamento do experimento 1

		Comprimentos de onda trabalhados											
		415nm	425nm	440nm	500nm	520nm	570nm	585nm	590nm	600nm	665nm	685nm	730nm
Irradiâncias	13	13 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	62 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	60 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	60 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	47 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	50 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	30 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	47 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	36 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	64 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	57 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	45 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$
	25	25 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	112 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	74 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	100 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	100 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	75 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	65 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	64 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	60 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	117 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	102 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	70 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$
	45	45 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	166 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	110 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	210 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	200 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	153 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	125 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	90 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	140 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	205 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	210 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	100 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$
	90	90 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	213 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	160 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	307 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	326 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	300 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	180 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	155 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	95 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	305 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	320 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	145 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$
	111	111 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	260 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	220 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	420 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	450 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	450 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	230 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	235 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	213 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	460 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	440 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	225 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$
		400 nm			500 nm			600 nm			700 nm		

Fonte: O autor 2024

Figura 9: Desenho experimental do Experimento 1, o qual apresenta as condições em que foi realizado com cultivos na etapa 1, e quando os cultivos foram transferidos para os 12 diferentes comprimentos de onda e irradiância chamado de etapa 2, os parâmetros avaliados.

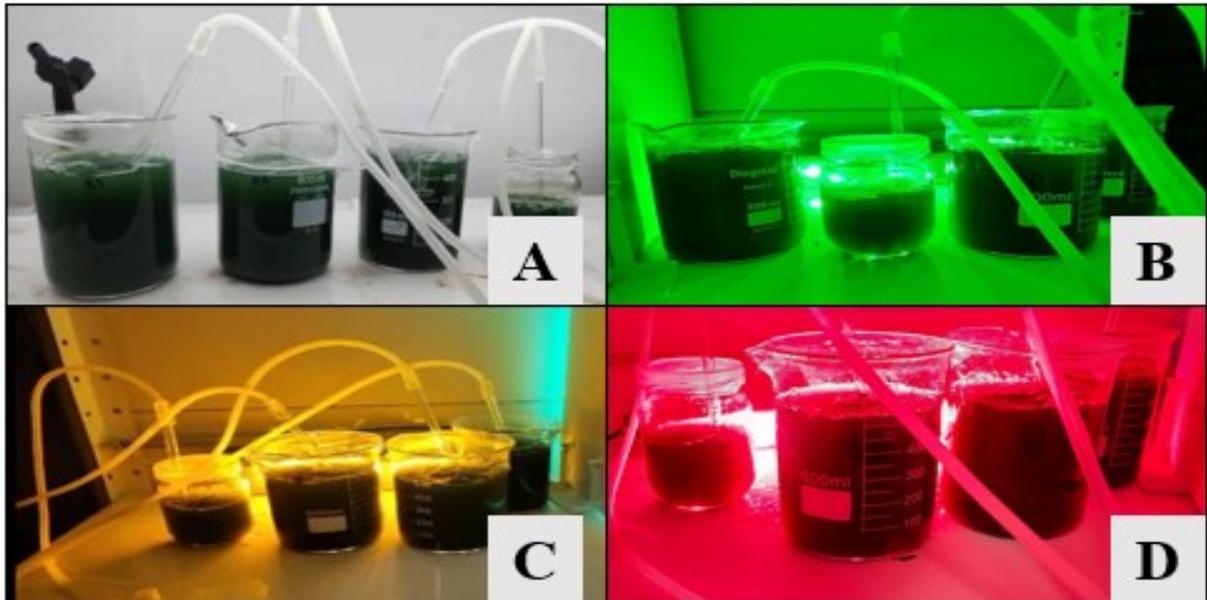


Fonte: O autor 2024

#### 4.2.2 Experimento 2

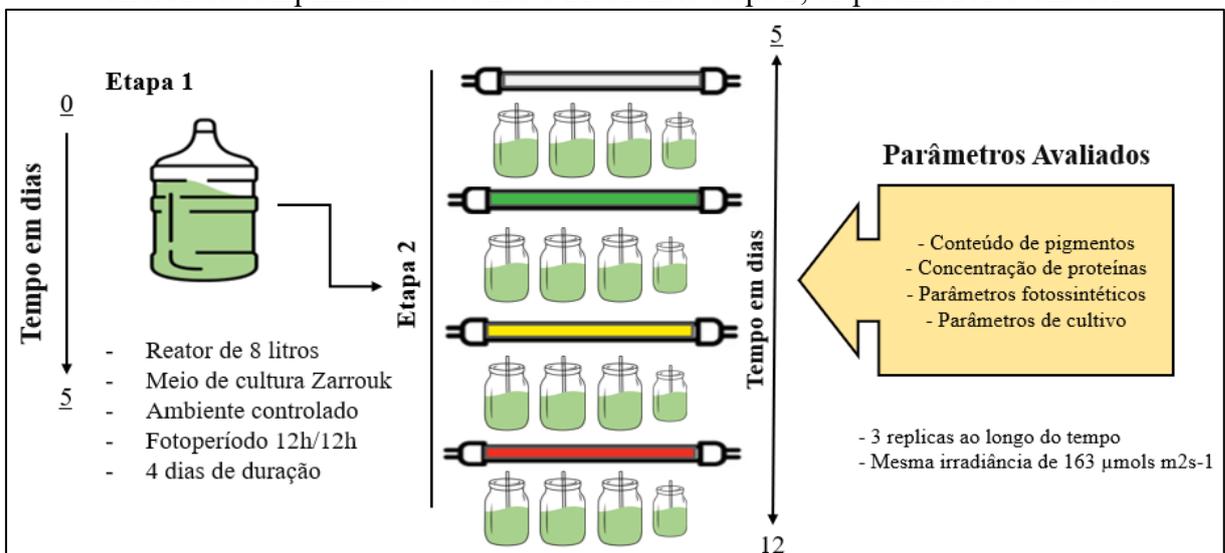
Já o experimento 2 foi realizado com o objetivo de complementar resultados obtidos no experimento 1. O inóculo de *Arthrospira platensis* com quatro dias de cultivo em crescimento exponencial com uma densidade  $15 \pm 0,5 \times 10^4$  filamentos  $\text{mL}^{-1}$ , foi transferido para 12 frascos de vidro com volume de 500 mL de cultivo e 4 frascos controle com as mesmas proporções utilizadas no experimento anterior (Figura 10). Neste experimento focamos na influência de 4 comprimentos de onda (520nm, 590nm, 670nm) sob a mesma irradiância de  $163 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  em um ciclo claro/escuro de 12/12 h, cada qual com três repetições, conforme demonstrado na Figura 11.

Figura 10: As imagens de A-D apresenta os 4 tratamentos avaliados no experimento 2, onde cada frasco com 500ml de cultivo de *Arthrospira platensis* representa uma unidade experimental que ficou sob influencia do mesmo comprimento de onda avaliado, sendo que o frasco de 250ml apresentado em cada figura é o cultivo controle.



Fonte: O autor 2022

Figura 11: Desenho experimental do Experimento 2, o qual apresenta as condições em que foi realizado com cultivos etapa 1, e quando os cultivos foram transferidos para os 12 diferentes comprimentos de onda e irradiância etapa 2, os parâmetros avaliados.



Fonte: O autor 2023

Para realização das análises em cada unidade experimental, foram coletadas amostras do cultivo em dias alternados (5<sup>o</sup>, 7<sup>o</sup>, 9<sup>o</sup>) dia de cultivo onde os seguintes parâmetros foram monitorados: pH, salinidade, absorvância, temperatura, ETR (taxa de transporte de elétrons), densidade de filamentos de cada unidade experimental.

#### 4.3 ATIVIDADE FOTOSSINTÉTICA A PARTIR DA FLUORESCÊNCIA DE CLOROFILA *IN VIVO*

A intensidade luminosa trabalhada foi determinada, usando um medidor de quanta Li-Cor Biosciences, modelo Li-250A®.

A fotossíntese da microalga *A.platensis* pode ser monitorada por meio da variação nos sinais de fluorescência da clorofila *a*, podendo ser avaliada através de um fluorímetro de amplitude modulada (PAM, do inglês, “pulse amplitude modulated fluorometer”).

Para melhor entendimento a clorofila *a* é o principal pigmento fotossintetizante, portanto a energia quando atinge o centro de reação do fotossistema II dos organismos fotossintetizantes, a energia pode ser direcionada de três maneiras:

- 1ª Absorvida pela clorofila sendo aproveitada nas reações químicas da célula;
- 2ª Dissipada como calor ou outra forma de perda energética;
- 3ª Fluorescência através da emissão de radiação na região do visível (vermelho).

Por meio dessa fluorescência emitida pela *Cla* dos organismos fotossintéticos é possível estimar-se o funcionamento do aparato fotossintético. (MAXWELL;JOHNSON, 2000). Para medir a fluorescência, foram utilizados os fluorímetro com pulsos de amplitude modulada (PAM, do inglês, “pulse amplitude modulated fluorometer”): Water-PAM.

O water-PAM possui uma lâmpada LED com 12 intensidades de luz de medida ou actínica, no qual o pulso de saturação pode ser ajustado entre os 12 níveis diferentes onde o controle é feito através do software Win-Control versão 2.133/03.00 (©Heinz Walz GmbH, 2000).

Os seguintes parâmetros foram coletados com o fluorímetro Water-PAM

##### 4.3.1 Rendimento Quântico Efetivo

O rendimento quântico efetivo foi obtido com *Arthrospira platensis* expostas a condição de iluminação de acordo com o experimento. Para a medição, foi coletado uma amostra de cada unidade experimental de 3 mL e inserido na cubeta para medição. Desta forma, quando a luz de medida se acendeu, os valores registrados inicialmente correspondem ao  $F_i'$ . Já com o pulso de saturação dado durante 0,10s, obteve-se o valor de  $F_m'$ . Conforme a fórmula ( 01) .

$$\frac{\Delta F}{F_{m'}} = (F_{m'} - F_t) / F_{m'} \quad (01)$$

#### 4.3.2 Taxa de Transporte de Elétrons

A partir dos dados de rendimento quântico efetivo foi possível obter a estimativa do fluxo de elétrons no aparato fotossintético (ETR), e, portanto, da capacidade fotossintetizante. Os valores de ETR foram obtidos conforme a seguinte fórmula (02).

$$ETR = \Delta F / F_{m'} \times I \times 0,12 \times A \times ACT \quad (02)$$

onde  $\Delta F / F_{m'}$ , é o rendimento quântico calculado anteriormente; “I” é a irradiância na qual a *Arthrospira platensis* foi aclimatada durante o experimento. O fator 0,12 foi acrescido a fórmula porque o ETR deve ser calculado considerando o ajuste de quando a irradiância será aproveitada pelo PSII, considerando a fração de clorofila *a* associada a esse fotossistema. “A” é a absorvância que foi obtida por meio da seguinte equação (03):

$$A = 1 - (I_t \div I) \quad (03)$$

Onde, “ $I_t$ ” é a irradiância transmitida através da medição no centro do cultivo medida com o radiômetro (LI-COR, LI-250A) e “I” é a irradiância total transmitida com o radiômetro na extremidade do frasco de cultivo.

#### 4.4 TAXA DE CRESCIMENTO ESPECÍFICO ( $\mu$ )

As taxas de crescimento específico foram determinadas a partir de dados de espectrofotometria para estimar o crescimento de *A. platensis* onde foram realizadas leituras de absorvância a 680nm em um espectrofotômetro UV-Vis. Adicionalmente, contagens foram realizadas usando uma câmara de Neubauer e um microscópio óptico, sendo efetuadas contagens em duplicata para cada amostra.

Uma correlação entre os dados de densidade de filamentos e os valores de absorvância (680nm) foi realizada para poder determinar a equação da curva e assim poder calcular a taxa de crescimento específico ( $\mu$ ) de acordo com equação descrita por Lourenço (2006):

$$\mu = \frac{\ln(N_t - N_0)}{\Delta t} \quad (04)$$

Onde  $\ln$  = logaritmo natural,  $\Delta t$  = variação do tempo, em dia,  $N_0$  = densidade celular inicial e  $N_t$  = densidade celular final.

#### 4.5 PROCESSAMENTO DA BIOMASSA

A separação da biomassa de *Arthrospira platensis* do experimento 1 foi realizada ao final de cada repetição, através do processo de filtragem em tela de 45  $\mu\text{m}$ . Onde a biomassa foi separada do sobrenadante e armazenada até o final das 3 repetições onde as biomassas congeladas foram liofilizadas .

Já no experimento 2 a separação da biomassa foi realizada por método de centrifugação a 2500rpm por 10 minutos. As biomassas separadas foram armazenadas em frascos devidamente identificados e congeladas e posteriormente liofilizadas para a realização das análises.

#### 4.6 EXTRAÇÃO E DETERMINAÇÃO DE FICOCIANINA NO EXPERIMENTO 2

A ficocianina foi extraída a partir da biomassa liofilizada de *A. platensis* e foi diluída em solução tampão fosfato 20 mM (pH 7,0) na proporção de 1:1000. Essa solução foi submetida a quatro ciclos de congelamento (-18 °C por 21 h) e descongelamento (~25 °C por 3 h) para rompimento da parede celular e disposição da ficocianina. Após o término dos quatro ciclos, os extratos foram centrifugados a 4.000 rpm por 20 minutos e o sobrenadante foi separado para leitura no espectrofotômetro (280–400nm / 380-750nm). Quando ocorreram valores de absorvância maiores do que 1, as amostras foram diluídas. Os sobrenadantes foram analisados quanto à concentração de ficocianina e avaliação da pureza do extrato. O teor de ficocianina (PC) foi determinado seguindo o método descrito por Doke (2005), com algumas modificações.

##### 4.6.1 Determinação da Ficocianina

Os extratos de ficocianina foram submetidos à análise de espectrofotometria. A leitura nos comprimentos de onda 615 e 652nm permitiu a determinação da concentração de ficocianina em ( $\text{mg mL}^{-1}$ ), como sugerido por Bennet e Bogorad (1973) através da equação (05).

$$PC = A_{615nm} - \frac{0,474 \times A_{652nm}}{5,34} \quad (05)$$

Onde:  $PC$  = a concentração de ficocianina ( $\text{mg mL}^{-1}$ ),  $A_{615\text{nm}}$  e  $A_{652\text{nm}}$  são as absorvâncias da amostra a 615 e 652nm, respectivamente.

#### 4.7 PROTEÍNAS

A metodologia de análise de proteína utilizada foi adaptada de IAL 037/IV: 2008 (Protídios – Método de Kjeldahl modificado). Foi pesado 0,08 g de amostra, em duplicata, em papel seda e transferidos para um tubo de ensaio para Micro-Kjeldahl contendo aproximadamente 2,5 g de mistura catalítica. Em seguida, foi adicionado ao tubo 25 mL de ácido sulfúrico 0,05 M e a mistura foi levada ao digestor, a 160 °C, durante 30 minutos. A temperatura se elevou até 210 °C, por mais 30 minutos e, depois, até 250 °C, 330 °C e 400 °C durante 1 hora em cada.

As amostras digeridas foram levadas para o equipamento de destilação (Destilador de Nitrogênio, TE-0364, Tecnal, Piracicaba, Brasil) cuja extremidade afilada do refrigerante estava mergulhada em 50 mL de ácido bórico 0,4 N e 0,15 mL de indicador vermelho de metila, em Erlenmeyer de 250 mL. Adicionou-se ao tubo, uma solução de hidróxido de sódio a 30% m/v, até que houvesse a mudança de cor, e esta foi levada à ebulição e em seguida destilada até obter-se 200 mL do destilado. A amostra presente no Erlenmeyer foi titulada com solução de ácido clorídrico 0,1 M.

O cálculo do teor de proteína está representado na Equação (06):

$$\text{Proteína bruta (g/100g)} = (Va - Vb) \times 0,14007 \times f \quad (06)$$

Nesta equação,  $Va$  representa o volume de HCl utilizado na titulação da amostra;  $Vb$  representa o volume de HCl utilizado na titulação do branco;  $f$  é igual ao fator do HCl; o *fator de nitrogênio* utilizado para a Spirulina é de 6,25 (CHRONAKIS et al., 2000; SAFI et al., 2012);  $P$  representa o peso da amostra em gramas.

## 4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Testes de normalidade e homogeneidade de variâncias foram aplicados aos dados obtidos de taxa de crescimento, taxa de transporte de elétrons (ETR), teor de pigmentos e de proteínas. Uma vez avaliados, foram submetidos a análise de variância ANOVA unifatorial. Para os dados de taxa de crescimento e de ETR do experimento 1, foram transformados em coeficiente de resposta em relação a variação de irradiância para cada comprimento de onda. Esse coeficiente foi obtido através da normalização dos valores de inclinação (slope) da linha de tendência obtida para cada comprimento de onda em relação a sua variação de irradiância. Estes valores normalizados é que foram avaliados estatisticamente através de ANOVA unifatorial. Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa STATISTICA 7.0 (StatSoft, Inc.).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

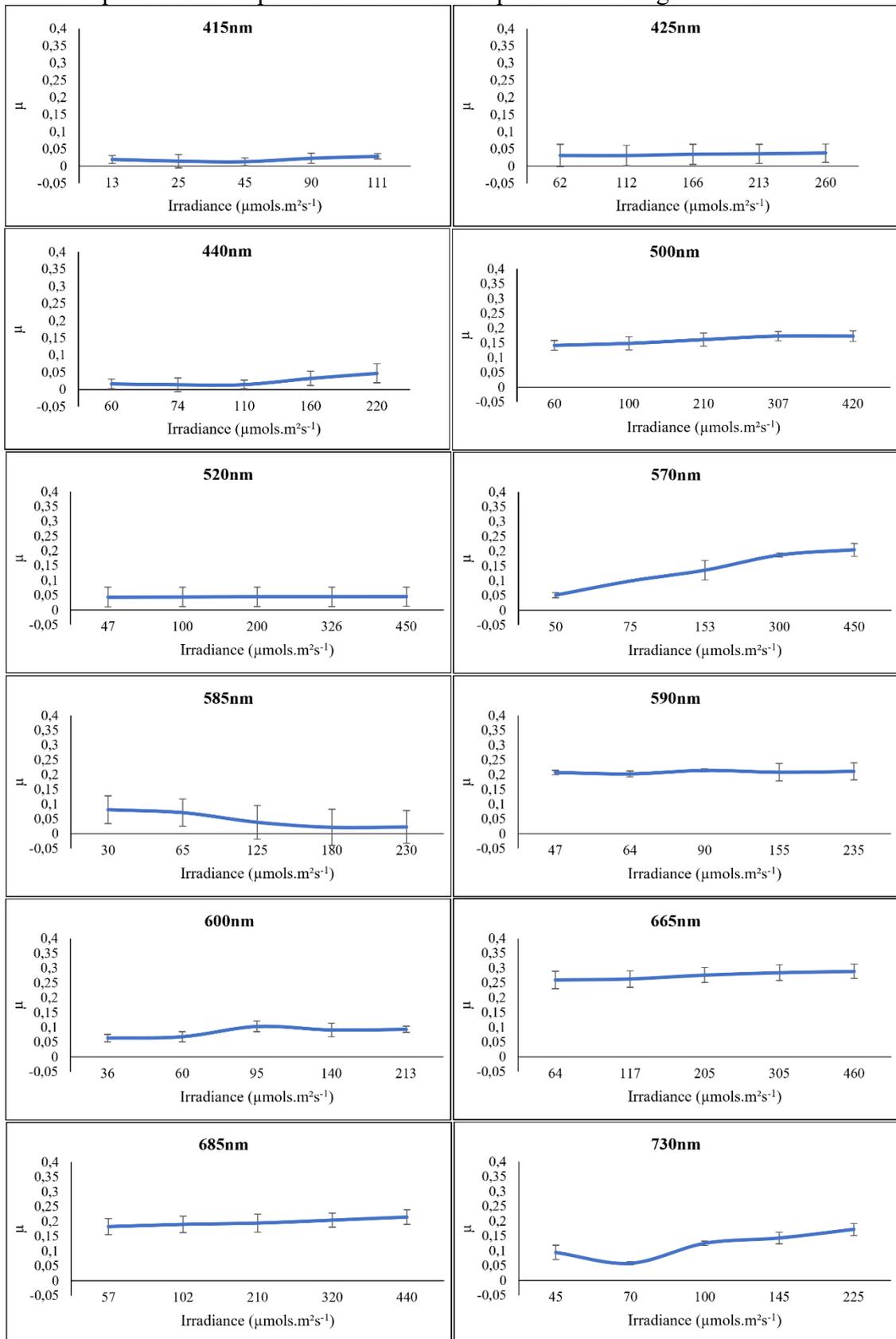
### 5.1 TAXA DE CRESCIMENTO

O efeito da luz, incluindo a qualidade e a intensidade são fatores determinantes no metabolismo e crescimento das microalgas (Yu et al., 2023). Na Figura 12 é apresentada a média da taxa de crescimento de *Arthrospira platensis* em resposta a diferentes níveis de irradiância nos diferentes comprimentos de onda trabalhados no experimento 1. Indiferente da intensidade de luz, observou-se que os cultivos de *A. platensis* demonstraram uma taxa de crescimento mais baixas quando expostos aos comprimentos de onda correspondentes à região azul e início da região verde do espectro eletromagnético (415-520nm). Esta constatação sugere que esses comprimentos de onda não exercem nenhuma influência na resposta de crescimento da microalga, mesmo quando expostos a altas irradiâncias. Em contrapartida, observou-se um aumento significativo no crescimento microalgal em resposta ao aumento da irradiância no comprimento de onda de 570nm da região verde, sugerindo que ao manipular diferentes intensidades de radiação nesta região é obtida maior influência sobre a taxa de crescimento de *Arthrospira platensis*. Altas intensidades neste comprimento de onda podem ser utilizadas para promover o crescimento, bem como, supõe-se que pode ser interessante utilizar este comprimento de onda para manipular compostos de interesse.

Do mesmo modo, na região amarela do espectro, resultados semelhantes foram encontrados quando comparado com a região azul, diferentes irradiâncias estudadas nesta região não influenciaram no crescimento de *A. platensis*, porém foram obtidas taxas de crescimento maiores que as encontradas na região azul e verde, mostrando ser uma faixa de luz mais adequada ao crescimento. Com base nos resultados de crescimento, levanta-se a hipótese também de que a região amarela é uma região que exerce pouca influência sobre o metabolismo da microalga. Somente os cultivos sob o comprimento de onda de 585nm na região amarela do espectro em que com o aumento na intensidade luminosa houve um declínio na taxa de crescimento, ou seja, demonstrando um impacto negativo no crescimento da *A. platensis*. Apesar do resultado negativo para a taxa de crescimento, demonstra que a *A. platensis*, é suscetível a este comprimento de onda, o que hipoteticamente supõe-se que pode também influenciar na composição da biomassa. A região amarela do espectro pode desempenhar um papel na regulação de processos fisiológicos e a manipulação de compostos de interesse na biomassa microalgal, diversas condições ambientais afetam a fisiologia das

algas e podem alterar o crescimento, composição da biomassa microalgal e qualidade nutricional (Kaur et al., 2022; Sun et al., 2018; Wilhelm et al., 2014).

Figura 12: Taxa de crescimento específico ( $\mu$ ) de *A. platensis* sob diferentes intensidades de luz para os 12 comprimentos de onda do espectro eletromagnético trabalhada.



Valores expressos como média entre as 3 repetições e desvio padrão.

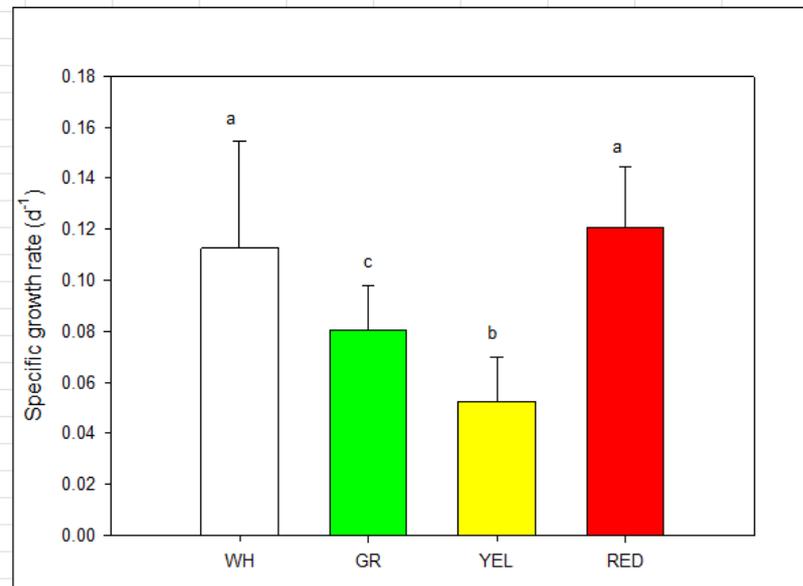
Já os cultivos na região do vermelho (665nm, 685nm, e entrando no infravermelho 730nm) obtiveram as maiores taxas de crescimento, se mostrando uma região de maior aproveitamento para o crescimento da *A. platensis*. Semelhantemente ao ocorrido nos outros comprimentos de onda foi observado nesta região também, onde a manipulação de diferentes irradiâncias não influenciou no crescimento. Somente no comprimento de onda de 730nm, na medida que foi aumentando a intensidade luminosa aumentou a taxa de crescimento. Desta maneira, este representa outro comprimento de onda que hipoteticamente pode influenciar no metabolismo de spirulina, possivelmente influência nos compostos de interesse. Seria interessante investigar o comportamento da microalga com altas intensidades luminosas acima de  $225\mu\text{mols.m}^{-2}\text{s}^{-1}$  para a região vermelha e  $450\text{mols.m}^{-2}\text{s}^{-1}$  para região verde do espectro.

Certamente, um dos elementos mais significativos sobre a produção de microalgas em culturas fotoautotróficas é a natureza da luz empregada (qualidade e intensidade), considerando os efeitos inerentes à fotossíntese. No contexto deste estudo, conduzido com a espécie *Arthrospira platensis* observamos que ambos os mencionados fatores, ou seja, o tipo e a intensidade de luz influenciaram de maneira concomitante a produtividade do cultivo. Notavelmente, taxas de crescimento superiores foram alcançadas sob exposição a luz na região do espectro vermelho, seguidas por luz na região verde, amarela e azul respectivamente, evidenciando a mudança na taxa de crescimento da *Arthrospira platensis* a distintos comprimentos de onda e intensidade luminosa.

O mesmo comportamento foi observado no experimento 2, onde os cultivos foram escalonados dobrando o volume de cultivo quando comparado com o experimento 1. Os cultivos do experimento 2 ficaram sob influência da mesma intensidade de luz em média de  $163\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  em diferentes qualidades. Neste experimento, os cultivos sob o comprimento de onda de 590nm na região amarela do espectro os cultivos tiveram a menor taxa de crescimento ( $0,05\text{ dia}^{-1}$ ), seguido do 520nm ( $0,08\text{ dia}^{-1}$ ), sendo o vermelho, junto com o tratamento controle, com a maior taxa de crescimento ( $0,12\text{ dia}^{-1}$ ) (Figura 13), corroborando com os resultados obtidos no experimento 1.

No experimento 2 em que houve um aumento no volume de cultivo, os tratamentos apresentaram uma taxa de crescimento menor quando comparado com o experimento 1, mas um ponto importante que pode ser levantado é que ambos os cultivos eles permaneceram crescendo e nenhum cultivo durante toda a pesquisa sofreu morte por conta das condições em que foram inseridos.

Figura 13: Taxa de crescimento específico dos cultivos de *Arthrospira platensis* sob os diferentes comprimentos de onda com as mesmas intensidades trabalhados no experimento 2.



Valores expressos como média  $\pm$  desvio padrão, letras representam as diferenças estatísticas.

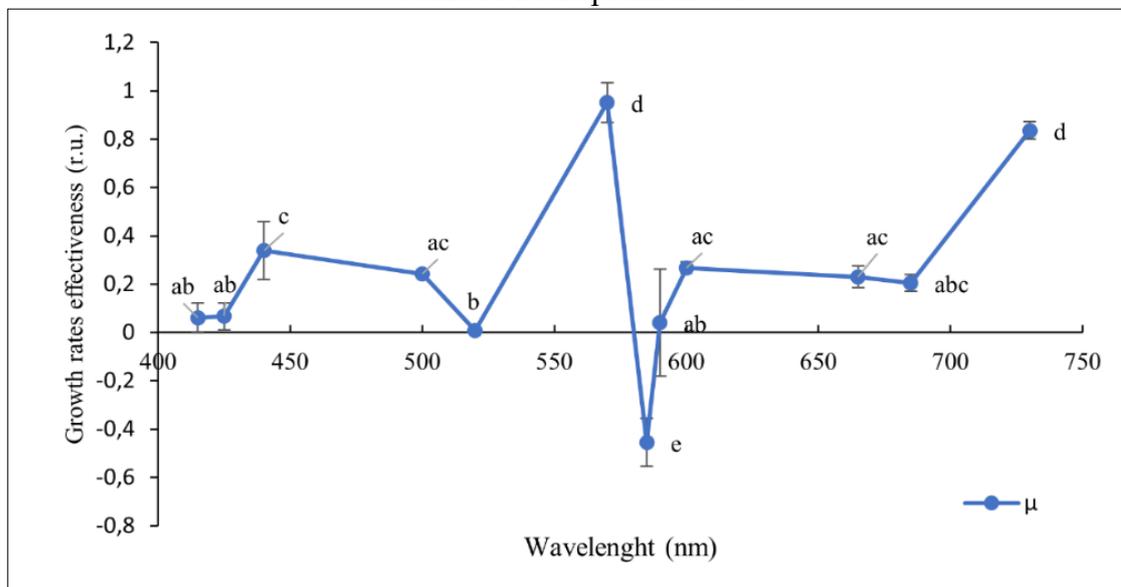
Chaiklahan et al. (2022), trabalhando com cinco diferentes intensidades luminosas e diferentes concentrações de cultivo obteve uma maior produtividade dos cultivos que foram expostos a maiores intensidades de luz  $2300 \mu\text{mols f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e com uma densidade \u00f3ptica m\u00e9dia de 0,6, mostrando que se bem manipulados os par\u00e2metros eles podem aumentar a densidade da biomassa assim como tamb\u00e9m a s\u00edntese de compostos de interesse. J\u00e1 Wang et al., (2007) avaliou a influ\u00eancia de cinco diferentes comprimentos de onda e intensidades de luz sob o cultivo de *Spirulina platensis* e reportou uma maior taxa de crescimento sob luz vermelha (620–645 nm). Ainda segundo esse estudo, a menor taxa de crescimento nos cultivos foi observada sob influ\u00eancia das luzes trabalhadas na regi\u00e3o azul do espectro.

Luimstra et al. (2018) avaliou o crescimento da cianobact\u00e9ria *Synechocystis* sp. e da microalga verde *Chlorella sorokiniana*, sob influ\u00eancia da luz azul (450nm) com o da luz laranja (625nm) e vermelha (660nm) com quatro intensidades diferentes, na qual foi poss\u00edvel observar que n\u00e3o houve crescimento durante o cultivo da cianobact\u00e9ria na regi\u00e3o azul nem mesmo quando exposta a maiores intensidades avaliadas na pesquisa, j\u00e1 a taxa de crescimento foi semelhante para o comprimento de onda da regi\u00e3o laranja e vermelha do espectro e \u00e0 medida que houve o aumento na intensidade aumentou a taxa de crescimento da cianobact\u00e9ria.

Na Figura 14 \u00e9 poss\u00edvel observar atrav\u00e9s da normaliza\u00e7\u00e3o dos valores de inclina\u00e7\u00e3o dos gr\u00e1ficos apresentados na Figura 12, quais comprimentos de onda demonstraram maior influ\u00eancia sobre a resposta fisiol\u00f3gica da *Arthrospira platensis* em rela\u00e7\u00e3o a taxa de

crescimento. Na presente pesquisa é possível observar que comprimentos de onda na região azul e verde do espectro (415nm -550nm), tendem a resultar em baixa influencia no metabolismo da microalga, o qual leva a supor que seja menos significativo seu uso para manipular a sua composição. No entanto, as maiores respostas quanto a variação da irradiância foram observadas nos comprimentos de ondas 570nm, 585nm e 730nm. Essa maior influência na resposta fisiológica da microalga avaliada, em relação ao crescimento, sugere que assim como a taxa de crescimento, a manipulação destes comprimentos de ondas pode também influenciar em compostos de interesse como ficocianina e proteínas.

Figura 14: Resposta de variação na taxa de crescimento para cada comprimento de onda utilizado no Experimento 1.



\*Letras diferentes representam diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

De maneira geral, esses resultados estão em concordância com outros estudos, como os ensaios conduzidos por Schulze et al. (2016) que avaliaram a qualidade da luz fornecida por diodos emissores de luz (LEDs) no crescimento e nos perfis bioquímicos de *Nannochloropsis oculata* e *Tetraselmis chui*. Essa pesquisa indicou que os parâmetros associados ao crescimento celular costumam ser superiores em culturas iluminadas por fontes de luz que emitem níveis mais elevados de fótons na faixa espectral vermelha (660 nm) em comparação com culturas iluminadas apenas com luz azul (405 e 450 nm), conferindo maior eficiência na absorção de fótons em 660 nm. Já Lima et al. (2018) estudaram a influência da qualidade espectral da luz como forma de manipular o acúmulo de pigmentos de interesse comercial e o aumento da produtividade de biomassa de *Arthrospira platensis*. Prates et al.

(2018) também avaliaram a influência da iluminação sob o cultivo com diferentes comprimentos de onda e fotoperíodo (12 horas luz branca, 12 horas luz monocromática) chamado de cultivo integral, (12 horas luz branca, 6 horas luz monocromática, 6 horas escuro) chamado de cultivo parcial. Os autores reportaram que as culturas conduzidas sob fotoperíodo integral em luzes monocromáticas nas cores verde e vermelho resultaram em taxas de crescimento mais elevadas quando comparado com os outros tratamentos.

Chen et al. (2010) também obtiveram resultado similar onde o comprimento de onda vermelho aliado a intensidade de luz alta de  $3000 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e obtiveram um crescimento mais r\u00e1pido e eficaz para estimular o crescimento da microalga *Arthrospira platensis*, enquanto o cultivo sob o LED azul reduziu o crescimento. Zittelli et al. (2022) trabalhando com comprimentos de onda na regi\u00e3o azul (450nm), branca (437nm e 630nm) e laranja (615nm) observou que a *Arthrospira platensis* absorve de maneira menos eficiente a luz azul do que luz branca e laranja, o que reflete no melhor crescimento para os cultivos sob a luz nos comprimentos de onda da regi\u00e3o laranja e branca do espectro. Yu et al. (2023) evidenciou que com o aumento da intensidade de luz sob o cultivo de *A. platensis* aumentou a taxa de crescimento, dado que corrobora com o encontrado na presente pesquisa e sugere que a menor intensidade de luz promove o ac\u00famulo de ficocianina.

Conforme evidenciado por Schulze et al. (2014) cianobact\u00e9rias como a *Spirulina* primariamente utilizam clorofila a (430 – 680 nm) e ficobiliprote\u00ednas (550 e 620 nm) para aquisi\u00e7\u00e3o de energia durante seu desenvolvimento. Dessa forma, a utiliza\u00e7\u00e3o de fontes de luz dentro das faixas espectrais vermelha e verde se mostra mais eficiente energeticamente para esses micro-organismos, o que resulta em um aumento na produtividade de biomassa, se mostrando regi\u00f5es que influenciam no incremento de compostos de interesse devido as mudan\u00e7as nas respostas fisiol\u00f3gicas causadas na microalga.

## 5.2 TAXA DE TRANSPORTE DE EL\u00c9TRONS

Assim como os distintos comprimentos de onda e irradi\u00e2ncia influenciaram na taxa de crescimento da microalga, esse mesmo comportamento tamb\u00e9m apresentou similaridade com a ETR, conforme pode ser observado na Figura 15. Todos os comprimentos de onda apresentaram um comportamento similar quando analisamos o aumento da irradi\u00e2ncia trabalhada, isso quer dizer que quanto maior os n\u00edveis de irradi\u00e2ncia sobre os cultivos, maior foi a atividade exercida pela microalga para todos os comprimentos de onda avaliados na presente pesquisa.

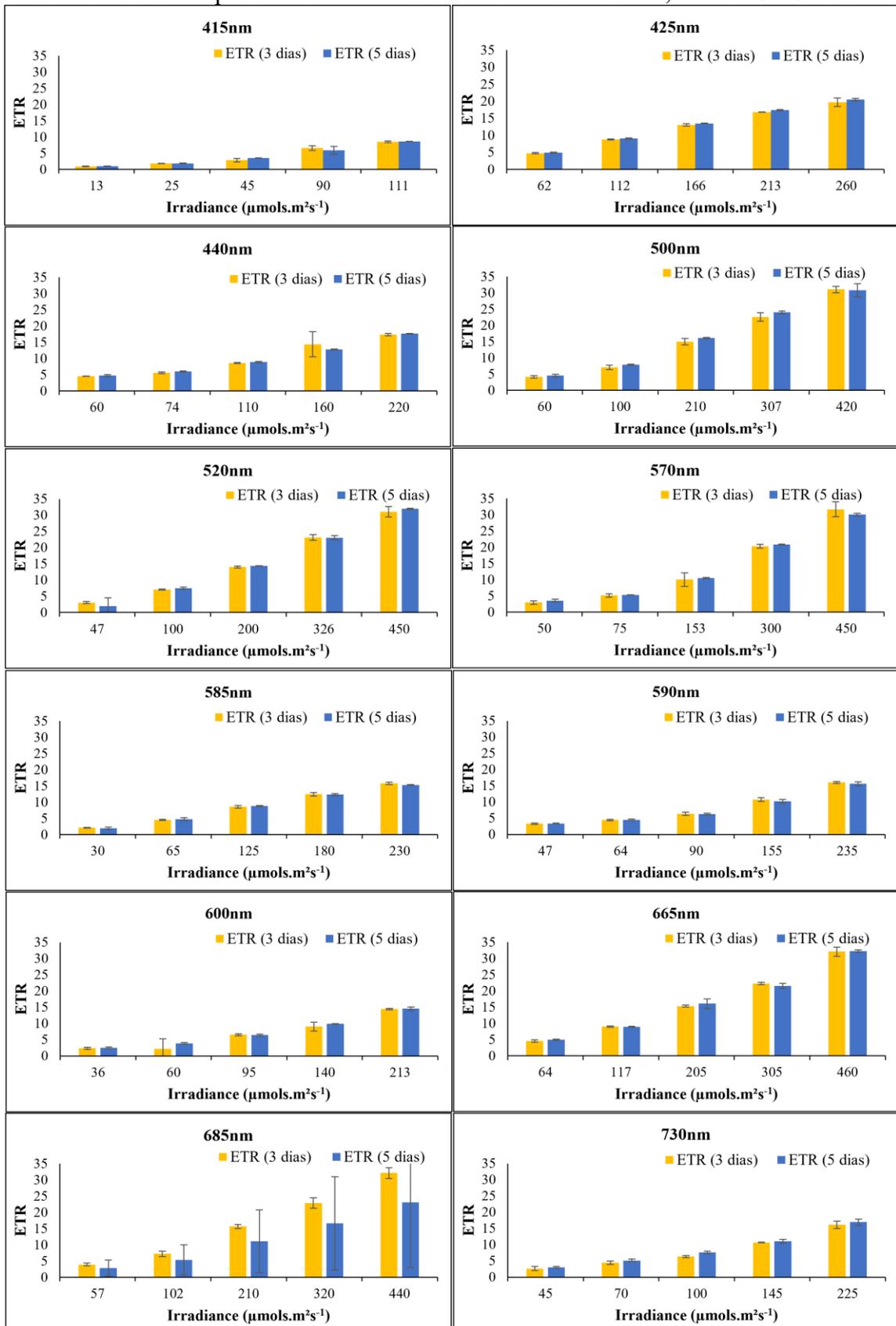
Porém em concordância com os resultados encontrados quando avaliamos as taxas de crescimento específica da *Arthrospira platensis*, os maiores resultados de ETR, foram observados nos comprimentos de onda da região vermelha e verde de todo o espectro avaliado principalmente nos comprimentos de onda de 665nm e 685nm. Já com o comprimento de onda mais perto do infravermelho 730nm em que obteve uma boa taxa de crescimento específica como apresentado na Figura 12, quando avaliamos ETR não foi observado bom desempenho quando comparado com os outros comprimentos de onda da região vermelha do espectro eletromagnético.

Este resultado pode ser justificado pela maneira em que as microalgas respondem às mudanças ambientais, ajustando seus compostos celulares como uma estratégia de autodefesa ou aclimação. Em resposta a alterações nas condições de cultivo, essas algas podem desencadear processos de biossíntese específicos, resultando na produção de compostos intracelulares distintos (Nezafatian et al., 2023). Conforme relatado por Schulze et al. (2014) o estresse abiótico, influenciado pela qualidade da luz, demonstrou ter um impacto significativo tanto no crescimento quanto na composição bioquímica das microalgas. Além disso, sugere-se que manipular esses estresses pode ser uma abordagem promissora para aumentar a resposta fisiológica e a produção de compostos de interesse, conforme indicado por (Chen et al., 2017; Markou; Nerantzis, 2013).

Os tratamentos apresentaram um comportamento similar em relação à atividade fotossintética quanto ao tempo (dias 3 e 5 após início do experimento), não havendo diferenças significativas (Figura 15). Já dados de ETR em função dos comprimentos de onda trabalhados revelam uma relação diretamente proporcional.

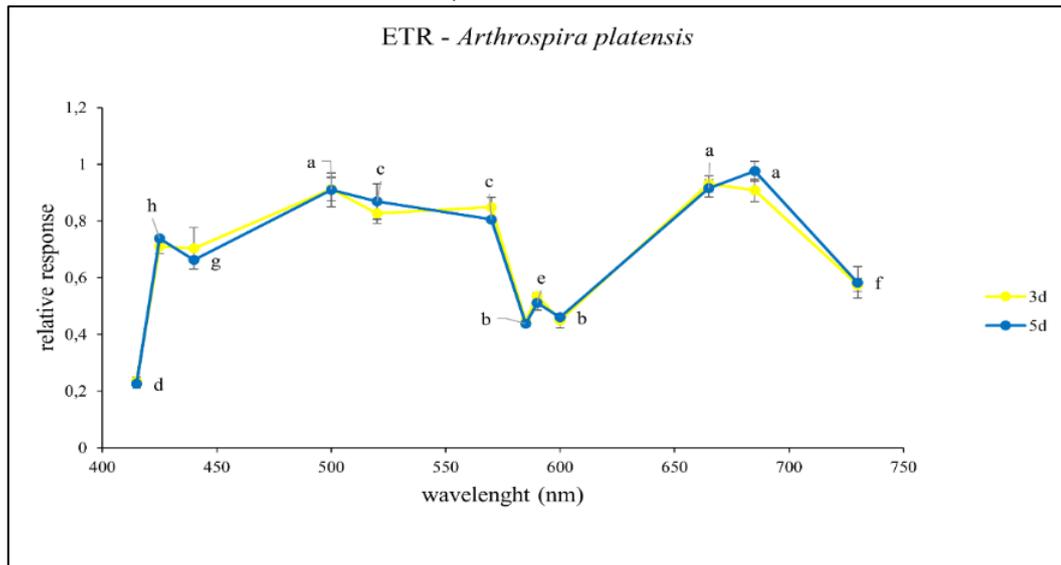
Os tratamentos nas regiões verde e vermelha se mostraram mais eficiente para estimular a atividade fotossintética conforme a Figura 16, onde a resposta de ETR em relação da variação da irradiância foram maiores. A região amarela do espectro no ponto de 585nm se mostrou uma região interessante para manipular a síntese de metabolitos de interesse na microalga *A. platensis*, pois mesmo se mostrando uma região com baixa taxa de crescimento conforme apresentado na Figura 13, quando avaliamos a taxa de transporte de elétrons ETR, se mostrou uma região com alta resposta efetiva.

Figura 15: Taxa de transporte de elétrons (ETR) dos cultivos de *Arthrospira platensis* sob os 12 diferentes comprimentos de onda x irradiancias trabalhadas, durante 3 e 5 dias



Valores expressos como média entre as 3 repetições e desvio padrão.

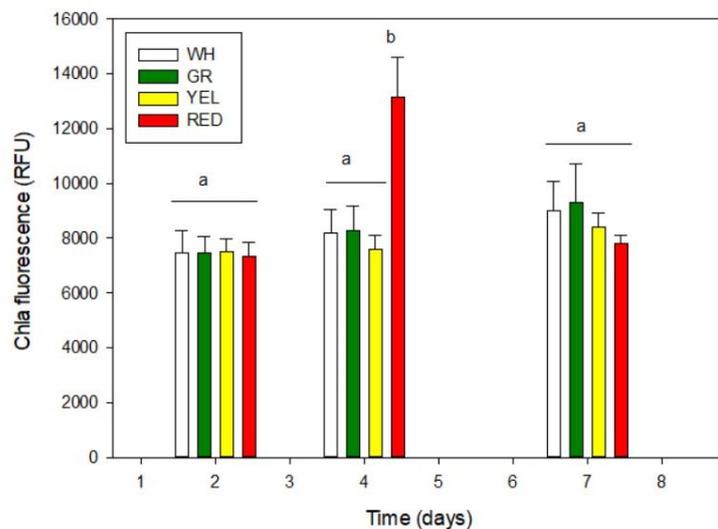
Figura 16: Resposta relativa da taxa de transporte de elétrons (ETR) sobre a variação da irradiância dos cultivos de *Arthrospira platensis* submetidos a diferentes comprimentos de onda, durante 3 e 5 dias.



\*A figura apresenta a média do slop entre as três repetições para 3 e 5 dias após os dados serem tratados e normalizados, cada letra apresenta a diferença estatística entre os tratamentos.

Quanto a atividade fotossintética é avaliada através da fluorescência de clorofila *ao* Experimento 2, observou que não houve diferença significativa entre os tratamentos (Figura 17). Apenas no dia 5, quando o cultivo ainda se encontrava em fase crescimento exponencial, foi possível observar maior atividade fotossintética no comprimento de onda 670 nm (luz vermelha), corroborando com o observado no experimento 1.

Figura 17: Fluorescência de chlorofila-*a* exposta a diferentes comprimentos de luz sob a mesma irradiância. As cores das barras representam as cores dos (nm) as quais os cultivos de *Arthrospira platensis* foram expostos.



A figura apresenta a média entre os tratamentos, cada letra apresenta a diferença estatística entre os tratamentos.

### 5.3 FICOCIANINA

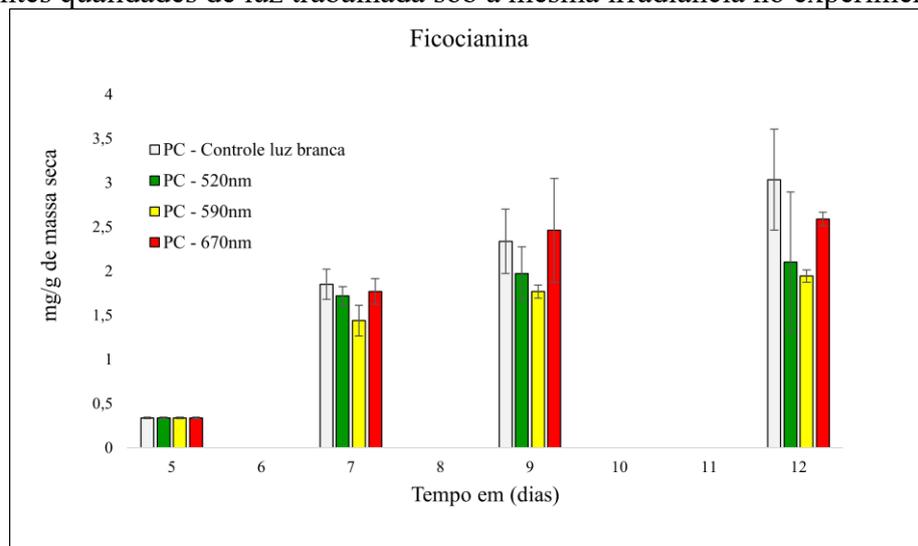
As análises de ficocianina para o experimento 1 não foram realizadas, devido a perda da biomassa que ocorreu através de um erro ao manusear o liofilizador

Os efeitos da qualidade de luz sob o teor de ficocianina na biomassa de *A. platensis* pode ser observado na Figura 18, onde os cultivos foram expostos a diferentes comprimentos de onda sob a mesma intensidade de luz (Experimento 2).

Tanto a intensidade de luz quanto o comprimento de onda ambos podem modificar a concentração de pigmentos na biomassa microalgal. Na presente pesquisa os comprimentos de onda em que os cultivos foram submetidos não influenciaram significativamente para o acúmulo de maiores concentrações de pigmento nos cultivos entre os tratamentos avaliados. De fato, os comprimentos de onda utilizados no experimento 2 também não apresentaram grande influência na variação das taxas de crescimento com a variação da intensidade, como apresentado na Figura 13. Seria interessante novas pesquisas avaliando o teor de ficocianina utilizando comprimentos de onda que apresentaram maior influência como 570nm, 585nm e 630nm.

Porém é possível observar que a mesma região em que houve uma maior atividade fotossintética no experimento 1, conforme demonstrado na Figura 15, também houve uma tendência de apresentar maior concentração de pigmentos, se mostrando uma região de alta influencia para o crescimento e incorporação de pigmentos no cultivo de *A. platensis*.

Figura 18: Concentração de ficocianina na biomassa de *Arthrospira platensis* cultivadas com as diferentes qualidades de luz trabalhada sob a mesma irradiância no experimento 2.



Valores apresentados com média e desvio padrão entre as 3 repetições dos cultivos de *Arthrospira platensis* cultivada em diferentes qualidades de luz sob a mesma intensidade.

Markou (2014) obteve maiores concentração de ficocianina no cultivo sob luz azul, seguido das cores verde, amarelo e vermelho, sendo que estes obtiveram resultados similares estatisticamente. Já para a concentração de proteína não houve diferenças entre os tratamentos avaliados. Similar ao observado no presente trabalhos (18 e 19).

#### 5.4 PROTEÍNAS

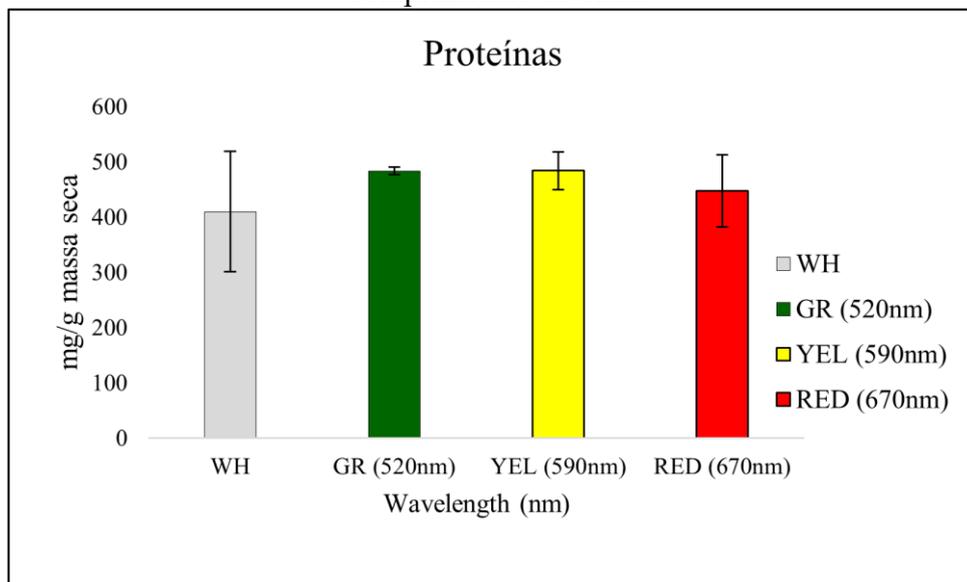
A biomassa derivada de microalgas emerge como uma promissora fonte de proteínas, capaz de satisfazer a crescente necessidade global por essas importantes biomoléculas (Muys et al., 2019; Sierra et al., 2018). Entre as microalgas, a *Spirulina* destaca-se como uma das mais nutritivas, com potencial para alcançar um teor proteico de até 70% da biomassa seca, além de conter uma gama significativa de aminoácidos essenciais (Becker, 2007; Soni et al., 2017). Biomassas de *Spirulina* com alto teor proteico representam uma fonte valiosa na nutrição humana, desempenhando um papel crucial na promoção da saúde (Santos et al., 2016).

Prates et al. (2018) avaliou o uso de (LEDs) e fotoperíodo como fonte de luz nos cultivos de *A. platensis* e obteve uma maior concentração proteica nos cultivos com fotoperíodo de luz integral sob os LEDs vermelho. O mesmo autor em 2020 analisou a influência dos diferentes comprimentos de onda dos LEDs com uma irradiância de  $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  no aumento de proteínas e aminoácidos nos cultivos de *Spirulina* sp. e obteve a melhor produtividade proteica dos cultivos que ficaram sob influência do comprimento de onda da região vermelha.

Nas condições do presente estudo, *Arthrospira platensis* não demonstrou a capacidade de modular os teores de proteína com relação ao comprimento de onda trabalhado. Provavelmente, isso se deve à baixa intensidade de luz trabalhada no experimento 2 ( $163 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). Enquanto no trabalho comparado a irradiância foi cerca de 3 vezes mais alta. Outro fator pode ter sido o comprimento de onda dentro da faixa de luz vermelho escolhido para o experimento 2, que apesar de apresentar boas taxas de crescimento, pode não ser eficaz em estimular respostas fisiológicas e metabólicas na microalga como foi observado no experimento 1. Markou (2014), trabalhando com baixa irradiância sobre os comprimentos de onda também obteve resultado similar ao encontrado na presente pesquisa, onde os cultivos sob influência dos LEDs verdes obtiveram maiores concentrações de proteína, e não diferindo estatisticamente dos outros LEDs avaliados (amarelo, vermelho e branco).

No trabalho de Markou, o menor teor de proteína foi encontrado nos cultivos sob a luz azul (Markou 2014). Com base nas descobertas de Schulze et al. (2014), cianobactérias como a *Spirulina* possuem pigmentos como a clorofila *a* e ficobiliproteínas que possuem picos de absorção na região de 430 e 680 nm para a clorofila *a* e 550 e 620 nm para as ficobiliproteínas. Deste modo, estas cianobactérias utilizam estas regiões para a absorção de energia durante seu cultivo, o que pode justificar o melhor desempenho dos cultivos sob as fontes de luz nas faixas espectrais vermelha e verde serem mais eficientemente aproveitadas por esses microrganismos, levando a um aumento na produtividade de biomassa e proteína, conforme evidenciado neste estudo (Figura 19).

Figura 19: Concentração de proteínas sob irradiância de  $163\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  em diferentes comprimentos de onda.



Valores apresentados com média e desvio padrão

## 6 CONCLUSÃO

Conclui-se que é possível manipular a taxa de crescimento e atividade fotossintética de *Arthrospira platensis* através do uso de diferentes comprimentos de onda e irradiâncias. Sendo que com o objetivo de se obter maior produtividade é indicado o uso de comprimento de onda na faixa de luz vermelha o qual apresentou resultados similares com os cultivos sob luz branca que é comumente utilizada para os cultivos de microalgas.

Considerando a influência do comprimento de onda sobre a taxa de crescimento e a atividade fotossintética quando submetidos a diferentes intensidades de luz, as faixas de luzes 570nm e 730nm foram a que apresentaram maior resposta. Portanto, sugere-se futuras pesquisas com estes comprimentos de onda para avaliar sua influência sobre compostos de interesse alimentício como proteínas e o pigmento ficocianina, buscando melhorar as condições de produção destas biomoléculas.

Nesta pesquisa não foi possível identificar variações nos teores de ficocianina e de proteínas com a variação das cores irradiadas aos cultivos. Sugere-se futuras pesquisas com irradiâncias maiores, bem como, com outros comprimentos de ondas, para determinar a possível influência desses parâmetros sob a produção de ficocianina e proteínas.

## REFERÊNCIAS

- ADJALI, A. et al. Physicochemical degradation of phycocyanin and means to improve its stability: A short review. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, dez. 2021.
- 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, dez. 2012.
- ALMEIDA, L. M. R. et al. Effect of the addition of *Spirulina* sp. biomass on the development and characterization of functional food. **Algal Research**, v. 58, p. 102387, out. 2021.
- ANTELO, F. S. et al. Extraction and purification of C-phycocyanin from *Spirulina platensis* in conventional and integrated aqueous two-phase systems. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 5, p. 921–926, 2010.
- ASHAOLU, T. J. et al. Phycocyanin, a super functional ingredient from algae; properties, purification characterization, and applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 193, p. 2320–2331, dez. 2021.
- ATTA, M. et al. Intensity of blue LED light: A potential stimulus for biomass and lipid content in fresh water microalgae *Chlorella vulgaris*. **Bioresource Technology**, v. 148, p. 373–378, nov. 2013.
- BAER, S. et al. Optimization of spectral light quality for growth and product formation in different microalgae using a continuous photobioreactor. **Algal Research**, v. 14, p. 109–115, 2016.
- BARBOSA, I. M. EFEITOS DA QUALIDADE DE RADIAÇÃO NA FISIOLOGIA DE *Chondracanthus teedei* (GIGARTINALES, RHODOPHYTA). [s.l.] Universidade Federal de Santa Catarina, 2019.
- BATISTA, A. P. et al. Novel foods with microalgal ingredients – Effect of gel setting conditions on the linear viscoelasticity of *Spirulina* and *Haematococcus* gels. **Journal of Food Engineering**, v. 110, n. 2, p. 182–189, maio 2012.
- BECKER, E. W. Micro-algae as a source of protein. **Biotechnology Advances**, v. 25, n. 2, p. 207–210, mar. 2007.
- BECKER, E. W.; VENKATARAMAN, L. V. Production and utilization of the blue-green alga *Spirulina* in India. **Biomass**, v. 4, n. 2, p. 105–125, jan. 1984.
- BERMEJO ROMÁN, R. et al. Recovery of pure B-phycoerythrin from the microalga *Porphyridium cruentum*. **Journal of Biotechnology**, v. 93, n. 1, p. 73–85, jan. 2002.
- BORBA, L. S.; ALMEIDA, V. I. DE; CAMARGO, F. *Biotecnologia e Aplicações*. 2003.
- BOUKID, F.; CASTELLARI, M. *Food and Beverages Containing Algae and Derived*

- Ingredients Launched in the Market from 2015 to 2019: A Front-of-Pack Labeling Perspective with a Special Focus on Spain. **Foods**, v. 10, n. 1, p. 173, 16 jan. 2021.
- 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, n. 2, p. 557–577, fev. 2010.
- CHAIKLAHAN, R. et al. Enhanced biomass and phycocyanin production of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* by a cultivation management strategy: Light intensity and cell concentration. **Bioresource Technology**, v. 343, p. 126077, jan. 2022.
- CHANG, L. et al. Structural organization of an intact phycobilisome and its association with photosystem II. **Cell Research**, v. 25, n. 6, p. 726–737, 22 jun. 2015.
- CHEN, B. et al. Manipulating environmental stresses and stress tolerance of microalgae for enhanced production of lipids and value-added products—A review. **Bioresource Technology**, v. 244, p. 1198–1206, nov. 2017.
- CHEN, H.-B. et al. Modeling on chlorophyll a and phycocyanin production by *Spirulina platensis* under various light-emitting diodes. **Biochemical Engineering Journal**, v. 53, n. 1, p. 52–56, dez. 2010.
- CHIA, S. R. et al. *Spirulina platensis* based biorefinery for the production of value-added products for food and pharmaceutical applications. **Bioresource Technology**, v. 289, p. 121727, out. 2019.
- CHINI ZITTELLI, G. et al. Effects of blue, orange and white lights on growth, chlorophyll fluorescence, and phycocyanin production of *Arthrospira platensis* cultures. **Algal Research**, v. 61, p. 102583, jan. 2022.
- CHRONAKIS, I. S. et al. The behaviour of protein preparations from blue-green algae (*Spirulina platensis* strain *Pacifica*) at the air/water interface. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 173, n. 1–3, p. 181–192, nov. 2000.
- COLLA, L. M.; BERTOLIN, T. E.; COSTA, J. A. V. Fatty Acids Profile of *Spirulina platensis* Grown Under Different Temperatures and Nitrogen Concentrations. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 59, n. 1–2, p. 55–59, 1 fev. 2004.
- COSTA, J. A. V. et al. Operational and economic aspects of *Spirulina*-based biorefinery. **Bioresource Technology**, v. 292, n. July, p. 121946, 2019.
- CROCE, R.; VAN AMERONGEN, H. Natural strategies for photosynthetic light harvesting. **Nature Chemical Biology**, v. 10, n. 7, p. 492–501, 17 jul. 2014.
- CUARESMA, M. et al. Horizontal or vertical photobioreactors? How to improve microalgae photosynthetic efficiency. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 8, p. 5129–5137, abr. 2011.

- DA FONTOURA PRATES, D. et al. Role of light emitting diode (LED) wavelengths on increase of protein productivity and free amino acid profile of *Spirulina* sp. cultures. **Bioresource Technology**, v. 306, p. 123184, jun. 2020.
- DEMARCO, M. et al. Digestibility, bioaccessibility and bioactivity of compounds from algae. **Trends in Food Science & Technology**, v. 121, p. 114–128, mar. 2022.
- DOKE, J. M. An Improved and Efficient Method for the Extraction of Phycocyanin from *Spirulina* sp. **International Journal of Food Engineering**, v. 1, n. 5, 5 dez. 2005.
- FERNÁNDEZ-ROJAS, B.; HERNÁNDEZ-JUÁREZ, J.; PEDRAZA-CHAVERRI, J. Nutraceutical properties of phycocyanin. **Journal of Functional Foods**, v. 11, n. C, p. 375–392, 2014.
- FERREIRA DE OLIVEIRA, A. P.; BRAGOTTO, A. P. A. Microalgae-based products: Food and public health. **Future Foods**, v. 6, p. 100157, dez. 2022.
- FRADIQUE, M. et al. Incorporation of *Chlorella vulgaris* and *Spirulina maxima* biomass in pasta products. Part 1: Preparation and evaluation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 90, n. 10, p. 1656–1664, 15 ago. 2010.
- GRAHL, S. et al. Alternative protein sources in Western diets: Food product development and consumer acceptance of spirulina-filled pasta. **Food Quality and Preference**, v. 84, p. 103933, set. 2020.
- GROBBELAAR, J. U. Upper limits of photosynthetic productivity and problems of scaling. **Journal of Applied Phycology**, v. 21, n. 5, p. 519–522, 4 out. 2009.
- HABIB, M. A. B.; PARVIN, M. **A review on culture, production and use of spirulina as food for humans and feeds for domestic animals and fish.** [s.l: s.n.].
- HO, S.-H. et al. Enhancing lutein productivity of an indigenous microalga *Scenedesmus obliquus* FSP-3 using light-related strategies. **Bioresource Technology**, v. 152, p. 275–282, jan. 2014a.
- HO, S.-H. et al. Perspectives on engineering strategies for improving biofuel production from microalgae — A critical review. **Biotechnology Advances**, v. 32, n. 8, p. 1448–1459, dez. 2014b.
- HO, S.-H. et al. Combining light strategies with recycled medium to enhance the economic feasibility of phycocyanin production with *Spirulina platensis*. **Bioresource Technology**, v. 247, p. 669–675, jan. 2018.
- JEREZ, C. G. et al. Relation between light absorption measured by the quantitative filter technique and attenuation of *Chlorella fusca* cultures of different cell densities: application to estimate the absolute electron transport rate (ETR). **Journal of Applied Phycology**, v. 28, n.

3, p. 1635–1648, 18 jun. 2016.

KANEMOTO, F. T. **Otimização de sistema de cultivo de baixo custo de *Nannochloropsis gaditana* Lunián 1982 para produção de biodiesel.** [s.l.] Universidade de São Paulo, 2012.

KANNAUJIYA, V. K. et al. Phycobiliproteins and Their Commercial Significance. In: **Cyanobacteria.** [s.l.] Elsevier, 2019. p. 207–216.

KAUR, M. et al. Abiotic stress in algae: response, signaling and transgenic approaches. **Journal of Applied Phycology**, v. 34, n. 4, p. 1843–1869, 2 ago. 2022.

KUHNHOLZ, J. et al. Comparison of different methods for extraction of phycocyanin from the cyanobacterium *Arthrospira maxima* (Spirulina). **Journal of Applied Phycology**, 21 mar. 2024.

LAFARGA, T. Effect of microalgal biomass incorporation into foods: Nutritional and sensorial attributes of the end products. **Algal Research**, v. 41, n. March, p. 101566, 2019.

LAFARGA, T. et al. Spirulina for the food and functional food industries. **Food Research International**, v. 137, p. 109356, nov. 2020.

LAMERS, P. P. et al. Carotenoid and fatty acid metabolism in light-stressed *Dunaliella salina*. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 106, n. 4, p. 638–648, 15 jul. 2010.

LAUCERI, R. et al. High Purity Grade Phycocyanin Recovery by Decoupling Cell Lysis from the Pigment Extraction: an Innovative Approach. **Food and Bioprocess Technology**, v. 16, n. 1, p. 111–121, 28 jan. 2023.

LEHMUSKERO, A.; SKOGEN CHAUTON, M.; BOSTRÖM, T. Light and photosynthetic microalgae: A review of cellular- and molecular-scale optical processes. **Progress in Oceanography**, v. 168, n. August, p. 43–56, 2018.

LIMA, A. E. V. **Efeito da luz de led branca, vermelha, azul e verde em parâmetros da fisiologia da cianobactéria *APHANOCAPSA HOLSATICA*: Taxa de crescimento, produção de biomoléculas e biofixação do CO<sub>2</sub>.** [s.l.] Universidade Federal de São Carlos, 2022.

LIMA, G. M. et al. Influence of spectral light quality on the pigment concentrations and biomass productivity of *Arthrospira platensis*. **Algal Research**, v. 31, p. 157–166, abr. 2018.

LISBOA, F. C. **VIABILIDADE TÉCNICA E ANÁLISE DE CUSTOS DE DIFERENTES MEIOS PARA O CULTIVO DE *Arthrospira platensis*.** [s.l.] Universidade Federal do Triângulo Mineiro, 2014.

LUCAS, B. F. et al. Spirulina for snack enrichment: Nutritional, physical and sensory evaluations. **LWT**, v. 90, p. 270–276, abr. 2018.

LUIMSTRA, V. M. et al. Blue light reduces photosynthetic efficiency of cyanobacteria

- through an imbalance between photosystems I and II. **Photosynthesis Research**, v. 138, n. 2, p. 177–189, 19 nov. 2018.
- MACCOLL, R. Cyanobacterial Phycobilisomes. **Journal of Structural Biology**, v. 124, n. 2–3, p. 311–334, dez. 1998.
- MAEHLE, N.; SKJERET, F. Microalgae-based food: Purchase intentions and willingness to pay. **Future Foods**, v. 6, p. 100205, dez. 2022a.
- MAEHLE, N.; SKJERET, F. Microalgae-based food: Purchase intentions and willingness to pay. **Future Foods**, v. 6, p. 100205, dez. 2022b.
- MANIRAFASHA, E. et al. Phycobiliprotein: Potential microalgae derived pharmaceutical and biological reagent. **Biochemical Engineering Journal**, v. 109, p. 282–296, 2016.
- MARKOU, G. Effect of Various Colors of Light-Emitting Diodes (LEDs) on the Biomass Composition of *Arthrospira platensis* Cultivated in Semi-continuous Mode. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 172, n. 5, p. 2758–2768, 17 mar. 2014.
- 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, n. 8, p. 1532–1542, dez. 2013.
- MARTELLI, G. et al. Thermal stability improvement of blue colorant C-Phycocyanin from *Spirulina platensis* for food industry applications. **Process Biochemistry**, v. 49, n. 1, p. 154–159, jan. 2014.
- MILIÃO, G. L. et al. Unconventional food plants: Nutritional aspects and perspectives for industrial applications. **Future Foods**, v. 5, p. 100124, jun. 2022.
- MITRA, M.; MISHRA, S. Multiproduct biorefinery from *Arthrospira* spp. towards zero waste: Current status and future trends. **Bioresource Technology**, v. 291, n. July, p. 121928, nov. 2019.
- MULDERS, K. J. M. et al. Phototrophic pigment production with microalgae: biological constraints and opportunities. **Journal of Phycology**, v. 50, n. 2, p. 229–242, 15 abr. 2014.
- MUNAWAROH, H. S. H. et al. Photostabilization of phycocyanin from *Spirulina platensis* modified by formaldehyde. **Process Biochemistry**, v. 94, p. 297–304, jul. 2020.
- MUYS, M. et al. High variability in nutritional value and safety of commercially available *Chlorella* and *Spirulina* biomass indicates the need for smart production strategies. **Bioresource Technology**, v. 275, p. 247–257, mar. 2019.
- NEZAFATIAN, E. et al. Enhanced production of bioactive compounds from marine microalgae *Tetraselmis tetraele* under salinity and light stresses: A two-stage cultivation strategy. **Bioresource Technology**, v. 376, p. 128899, maio 2023.

- NGUYEN, J. et al. Alternative protein consumption: A systematic review and future research directions. **International Journal of Consumer Studies**, v. 46, n. 5, p. 1691–1717, 10 set. 2022.
- PAGELS, F. et al. Phycobiliproteins from cyanobacteria: Chemistry and biotechnological applications. **Biotechnology Advances**, v. 37, n. 3, p. 422–443, maio 2019.
- PALIWAL, C. et al. Abiotic stresses as tools for metabolites in microalgae. **Bioresource Technology**, v. 244, p. 1216–1226, nov. 2017.
- PAPADAKI, S. et al. Environmental impact of phycocyanin recovery from *Spirulina platensis* cyanobacterium. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 44, p. 217–223, 2017.
- PEZ JAESCHKE, D. et al. Phycocyanin from *Spirulina*: A review of extraction methods and stability. **Food Research International**, v. 143, p. 110314, maio 2021.
- PLAZA, M.; CIFUENTES, A.; IBANEZ, E. In the search of new functional food ingredients from algae. **Trends in Food Science & Technology**, v. 19, n. 1, p. 31–39, jan. 2008.
- PRATES, D. DA F. et al. *Spirulina* cultivated under different light emitting diodes: Enhanced cell growth and phycocyanin production. **Bioresource Technology**, v. 256, p. 38–43, 2018a.
- PRATES, D. DA F. et al. *Spirulina* cultivated under different light emitting diodes: Enhanced cell growth and phycocyanin production. **Bioresource Technology**, v. 256, p. 38–43, maio 2018b.
- RAEISOSSADATI, M.; MOHEIMANI, N. R.; PARLEVLIET, D. Red and blue luminescent solar concentrators for increasing *Arthrospira platensis* biomass and phycocyanin productivity in outdoor raceway ponds. **Bioresource Technology**, v. 291, p. 121801, nov. 2019.
- RICHMOND AMOS. **Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology**. [s.l: s.n.].
- RITCHIE, R. J.; RUNCIE, J. W. A portable reflectance-absorptance-transmittance meter for photosynthetic work on vascular plant leaves. **Photosynthetica**, v. 52, n. 4, p. 614–626, 1 dez. 2014.
- RITO-PALOMARES, M.; NUÑEZ, L.; AMADOR, D. Practical application of aqueous two-phase systems for the development of a prototype process for c-phycocyanin recovery from *Spirulina maxima*. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 76, n. 12, p. 1273–1280, 13 dez. 2001.
- RODRIGUEZ-CONCEPCION, M. et al. A global perspective on carotenoids: Metabolism, biotechnology, and benefits for nutrition and health. **Progress in Lipid Research**, v. 70, p. 62–93, abr. 2018.

- RODRÍGUEZ DE MARCO, E. et al. Effects of spirulina biomass on the technological and nutritional quality of bread wheat pasta. **LWT - Food Science and Technology**, v. 58, n. 1, p. 102–108, set. 2014.
- SALA, L.; MORAES, C. C.; KALIL, S. J. Cell pretreatment with ethylenediaminetetraacetic acid for selective extraction of C-phycoyanin with food grade purity. **Biotechnology Progress**, v. 34, n. 5, p. 1261–1268, 3 set. 2018.
- SALAMA, E.-S. et al. Recent progress in microalgal biomass production coupled with wastewater treatment for biofuel generation. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 79, n. May, p. 1189–1211, nov. 2017.
- SANTOS, A. B. et al. Biogenesis of volatile organic compounds produced by *Phormidium autumnale* in heterotrophic bioreactor. **Journal of Applied Phycology**, v. 28, n. 3, p. 1561–1570, 6 jun. 2016.
- SCHADE, S.; MEIER, T. A comparative analysis of the environmental impacts of cultivating microalgae in different production systems and climatic zones: A systematic review and meta-analysis. **Algal Research**, v. 40, n. March, p. 101485, jun. 2019.
- SCHREIBER, U. et al. Assessment of Photosystem II Photochemical Quantum Yield by Chlorophyll Fluorescence Quenching Analysis. **Functional Plant Biology**, v. 22, n. 2, p. 209, 1995.
- SCHREIBER, U.; SCHLIWA, U.; BILGER, W. Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer. **Photosynthesis Research**, v. 10, n. 1–2, p. 51–62, 1986.
- SCHULZE, P. S. C. et al. Light emitting diodes (LEDs) applied to microalgal production. **Trends in Biotechnology**, v. 32, n. 8, p. 422–430, 2014.
- SCHULZE, P. S. C. et al. Effect of light quality supplied by light emitting diodes (LEDs) on growth and biochemical profiles of *Nannochloropsis oculata* and *Tetraselmis chuii*. **Algal Research**, v. 16, p. 387–398, jun. 2016.
- SEKAR, S.; CHANDRAMOHAN, M. Phycobiliproteins as a commodity: trends in applied research, patents and commercialization. **Journal of Applied Phycology**, v. 20, n. 2, p. 113–136, 16 abr. 2008.
- SEO, Y. C. et al. Stable isolation of phycocyanin from *Spirulina platensis* associated with high-pressure extraction process. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 1, p. 1778–1787, 2013.
- SIDLER, W. A. Phycobilisome and Phycobiliprotein Structures. In: **The Molecular Biology of Cyanobacteria**. Dordrecht: Springer Netherlands, 1994. p. 139–216.

- SILVA GALLINA, E. **Isolamento e seleção de cianobactérias produtoras de pigmentos.** [s.l.] Universidade Federal do Sul da Bahia, 2023.
- SILVA, L. A. Estudo do processo biotecnológico de produção, extração e recuperação do pigmento ficocianina da *Spirulina Platensis*. **Dissertação de Pós-Graduação**, p. 91, 2008.
- SILVEIRA, S. T. et al. Optimization of phycocyanin extraction from *Spirulina platensis* using factorial design. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 8, p. 1629–1634, maio 2007.
- SINGH, R. N.; SHARMA, S. Development of suitable photobioreactor for algae production – A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, n. 4, p. 2347–2353, maio 2012.
- SOLTAN, S. S. A.; SHEHATA, M. M. E. M. The Effects of Using Color Foods of Children on Immunity Properties and Liver, Kidney on Rats. **Food and Nutrition Sciences**, v. 03, n. 07, p. 897–904, 2012.
- SONANI, R. R. et al. Purification and antioxidant activity of phycocyanin from *Synechococcus* sp. R42DM isolated from industrially polluted site. **Bioresource Technology**, v. 245, p. 325–331, dez. 2017.
- SONI, R. A.; SUDHAKAR, K.; RANA, R. S. *Spirulina* – From growth to nutritional product: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 69, n. November 2019, p. 157–171, nov. 2017a.
- SONI, R. A.; SUDHAKAR, K.; RANA, R. S. *Spirulina* – From growth to nutritional product: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 69, p. 157–171, nov. 2017b.
- SOTO-SIERRA, L.; STOYKOVA, P.; NIKOLOV, Z. L. Extraction and fractionation of microalgae-based protein products. **Algal Research**, v. 36, p. 175–192, dez. 2018.
- SU, C.-H. et al. Solid–liquid extraction of phycocyanin from *Spirulina platensis*: Kinetic modeling of influential factors. **Separation and Purification Technology**, v. 123, p. 64–68, fev. 2014.
- SUN, X.-M. et al. Influence of oxygen on the biosynthesis of polyunsaturated fatty acids in microalgae. **Bioresource Technology**, v. 250, p. 868–876, fev. 2018.
- TAN, J. SEN et al. A review on microalgae cultivation and harvesting, and their biomass extraction processing using ionic liquids. **Bioengineered**, v. 11, n. 1, p. 116–129, 1 jan. 2020.
- The response of phycobiliproteins to light qualities in *Anabaena circinalis*. **Journal of Applied Biology & Biotechnology**, 2015.
- TORZILLO, G.; BERNARDINI, P.; MASOJÍDEK, J. ON-LINE MONITORING OF CHLOROPHYLL FLUORESCENCE TO ASSESS THE EXTENT OF PHOTOINHIBITION OF PHOTOSYNTHESIS INDUCED BY HIGH OXYGEN CONCENTRATION AND LOW

- TEMPERATURE AND ITS EFFECT ON THE PRODUCTIVITY OF OUTDOOR CULTURES OF SPIRULINA PLATENSIS (CYANOBACTERIA). **Journal of Phycology**, v. 34, n. 3, p. 504–510, 5 jun. 1998.
- UGWU, C. U.; AOYAGI, H.; UCHIYAMA, H. Photobioreactors for mass cultivation of algae. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 10, p. 4021–4028, jul. 2008.
- VISKARI, P. J.; KINKADE, C. S.; COLYER, C. L. Determination of phycobiliproteins by capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection. **Electrophoresis**, v. 22, n. 11, p. 2327–2335, 2001.
- VOGELMANN, T. C.; SCHEIBE, J. Action spectra for chromatic adaptation in the blue-green alga *Fremyella diplosiphon*. **Planta**, v. 143, n. 3, p. 233–239, 1978.
- WALTER, A. ESTUDO DO PROCESSO BIOTECNOLÓGICO PARA OBTENÇÃO DE FICOCIANINA A PARTIR DA MICROALGA *Spirulina platensis* SOB DIFERENTES CONDIÇÕES DE CULTIVO. **Cambridge university Press**, v. 53, n. 9, p. 1689–1699, 2019.
- WANG, C.-Y.; FU, C.-C.; LIU, Y.-C. Effects of using light-emitting diodes on the cultivation of *Spirulina platensis*. **Biochemical Engineering Journal**, v. 37, n. 1, p. 21–25, out. 2007.
- WEINRICH, R.; ELSHIEWY, O. Preference and willingness to pay for meat substitutes based on micro-algae. **Appetite**, v. 142, p. 104353, nov. 2019.
- WILHELM, C. et al. Light acclimation in diatoms: From phenomenology to mechanisms. **Marine Genomics**, v. 16, p. 5–15, ago. 2014.
- WILHELM, C.; JAKOB, T. From photons to biomass and biofuels: evaluation of different strategies for the improvement of algal biotechnology based on comparative energy balances. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 92, n. 5, p. 909–919, 18 dez. 2011.
- YU, P. et al. Purification and bioactivities of phycocyanin. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, n. 18, p. 3840–3849, 12 dez. 2017.
- YU, Y. et al. A novel two-stage culture strategy to enhance the C-phycocyanin productivity and purity of *Arthrospira platensis*. **LWT**, v. 184, p. 115010, jul. 2023.