

CULTIVO DA CIANOBACTÉRIA *Spirulina platensis* A PARTIR DE EFLUENTE SINTÉTICO DE SUÍNO

Culture of the cyanobacteria *Spirulina platensis* using synthetic swine wastewater

Tanise Boeira Pelegrini Bertolin¹, Jorge Alberto Vieira Costa², Telma Elita Bertolin³,
Luciane Maria Colla³, Marcelo Hemkemeier³

RESUMO

Estudou-se o cultivo da cianobactéria *Spirulina platensis* utilizando-se efluente sintético de suíno a fim de avaliar o crescimento das cepas LEB 52 e PARACAS dessa cianobactéria, em função da diluição do meio (0 e 50%) e da concentração de bicarbonato de sódio (0 e 3g/L). Nesta etapa foi utilizado um Planejamento Fatorial Completo 2³. Na Segunda etapa, diluiu-se o meio em 80, 50 e 20% e utilizou-se um Planejamento Fatorial Multiníveis 3¹ x 2¹. Os cultivos foram realizados a 30°C, com fotoperíodo de 12 horas. As variáveis utilizadas como resposta nas duas etapas foram a concentração máxima de biomassa e a velocidade específica máxima de crescimento, sendo os resultados avaliados mediante de Análise de Variância. Na primeira etapa, os maiores valores de concentração celular, 0,55 g/L, foram obtidos com a cepa LEB-52 em efluente sintético diluído a 50% em água destilada e sem a adição de bicarbonato de sódio, como suplementação da fonte de carbono. Na otimização da diluição, o maior valor de concentração celular foi de 0,35 g/L utilizando-se cepa PARACAS e diluição de 80%. As duas cepas estudadas de *Spirulina platensis* podem crescer em efluente sintético de suíno e o seu crescimento é favorecido pela diluição do meio.

Termos para indexação: *Spirulina platensis*, cianobactéria, efluente suíno.

ABSTRACT

The growth of LEB-52 and PARACAS strains of *Spirulina platensis* cyanobacteria was studied using synthetic swine wastewater. The effects of medium dilution (0 and 50%) and sodium bicarbonate addition to the medium (0 and 3g/L) were initially investigated. In this step, it was used a complete Factorial Planning 2³. In the second step, the medium was diluted at 80, 50 and 20% and it was used a Factorial Planning 3¹x2¹. The cultivation was carried out at 30°C, with photophase of 12 hours. The maximum biomass concentration and maximum specific growth rate were assessed, with the results being evaluated through Analysis of Variance. In first step, the greater biomass concentration (0.55g/L) was obtained with strain LEB-52, in synthetic swine wastewater diluted at 50% and without the sodium bicarbonate addition, as supplementation of the carbon source. In the second step, the greater biomass concentration was 0.35g/L using strain PARACAS and synthetic swine wastewater diluted at 80%. The two strains studied can grow in the synthetic swine wastewater and cyanobacteria growth is enhanced by medium dilution.

Index terms: *Spirulina platensis*, cyanobacteria, swine.

(Recebido para publicação em 17 de dezembro de 2003 e aprovado em 1º de julho de 2004)

INTRODUÇÃO

A suinocultura é uma atividade econômica importante no meio rural, tanto do ponto de vista social, como econômico, gerando multiplicação de renda e emprego em vários setores da economia. Na Região Sul do país, uma das maiores produtoras de suínos, grande volume de dejetos são lançados na natureza sem tratamento adequado, causando problemas de contaminação ambiental, eutrofização de rios e lagos, aumento das doenças vinculadas à água e ao solo e contaminação de insetos (DETTMER, 2003).

Os dejetos de suínos apresentam concentrações elevadas de Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), sólidos em suspensão e macronutrientes. A maioria dos suinocultores utilizam sistemas de produção que geram

quantidade alta de efluente, variando de 1,4 a 27 L/dia/animal (de 10 a 12 vezes o volume gerado pelo homem e 4 vezes mais concentrado), dependendo da fase produtiva (DARTORA et al., 1998). A edição das leis de crimes ambientais e de gerenciamento de recursos hídricos, bem como a pressão dos órgãos sanitários no sentido do licenciamento ambiental deste tipo de atividade, estão possibilitando a aplicação de tecnologias que agreguem valor aos dejetos e, ou, que minimizem os danos ambientais causados (DETTMER, 2003).

A *Spirulina platensis* é uma cianobactéria filamentosa que habita meios como solos, pântanos, lagos alcalinos e águas salobras, marinhas e doces (RICHMOND, 1990). Por meio de fotossíntese, converte os nutrientes em matéria celular e libera oxigênio.

1. Acadêmica do Curso de Ciências Biológicas, ICB/UPF – tanise@annex.com.br

2. Professor do Curso de Engenharia dos Alimentos, FURG – dqmjorge@furg.br

3. Professores do Curso de Engenharia dos Alimentos, Faculdade de Engenharia e Arquitetura/FEAR/UPF – marceloh@upf.br

Em lagos naturais o aporte limitado de nutrientes pode regular os ciclos de crescimento, sendo que a densidade celular cresce rapidamente, alcança concentração máxima e retrocede quando os nutrientes se esgotam. A liberação de nutrientes por parte das células mortas ou o aporte de nutrientes fora do lago iniciam um ciclo (VONSHAK, 1997; RICHMOND, 1990). Essa cianobactéria tem-se tornado uma das principais fontes de estudos biotecnológicos, devido à sua importância econômica, ecológica e nutricional, sendo pesquisada por vários anos no Japão, França e Estados Unidos (TESKE e TRENTINI, 2001).

A cianobactéria *Spirulina platensis* pode ser vantajosa, pois utiliza os macronutrientes, convertendo-os em biomassa e esta pode ser utilizada como ração animal. Segundo Canizares-Villanueva et al. (1995), efluentes de origem suína podem ser utilizados como substrato para o crescimento de cianobactérias após a estabilização destes por processos aeróbios ou anaeróbios. Desta forma, ressalta-se a importância de estudar a produção de *Spirulina* tomando-se por base efluente de origem suína, minimizando danos ecológicos e utilizando a sua biomassa como fonte de alimento para outros animais.

Objetivou-se neste trabalho avaliar a utilização de efluente sintético de suíno no crescimento da cianobactéria *Spirulina platensis* e determinar a diluição ideal deste, como alternativa para a complementação dos sistemas de tratamento de efluentes já existentes.

MATERIAL E MÉTODOS

Microrganismo e meio de cultivo

O trabalho foi realizado no Laboratório de Fermentações do Centro de Pesquisa em Alimentação/CEPA da UPF. As cepas utilizadas foram LEB-52 e PARACAS da cianobactéria *Spirulina platensis*, forne-

cidas pelo Laboratório de Engenharia Bioquímica da Fundação Universidade de Rio Grande/FURG. Para o preparo e manutenção do inóculo, utilizou-se meio sintético, cuja composição é descrita na Tabela 1, diluído 50% com o meio Zarrouk, padrão para o cultivo desta cianobactéria. O efluente sintético de suíno (meio sintético) foi desenvolvido considerando o meio sintético descrito por Bergmann et al. (2000). O meio Zarrouk apresentou a seguinte composição em (g/L): $\text{NaHCO}_3 = 16,8$; $\text{K}_2\text{HPO}_4 = 0,5$; $\text{NaNO}_3 = 2,5$; $\text{K}_2\text{SO}_4 = 1,0$; $\text{NaCl} = 1,0$; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} = 0,2$; $\text{CaCl}_2 = 0,04$; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} = 0,01$; $\text{EDTA} = 0,08$; 1mL de Solução A₅ e 1mL de Solução B₆ (ZARROUK, 1966). Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico.

A concentração inicial de biomassa foi de 0,1 g/L, agitação por meio de aeração por bombas de diafragma, intensidade luminosa de 2.000 lux realizada por meio de lâmpadas fluorescentes, fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 30° C (COSTA et al., 2002).

Planejamento experimental

Os experimentos foram divididos em duas etapas, sendo a primeira a avaliação do crescimento da cianobactéria *Spirulina platensis* em função das variáveis cepa, diluição do meio de cultivo e concentração de bicarbonato de sódio, enquanto na segunda etapa, definiu-se a diluição ideal para o crescimento da cianobactéria. Na avaliação do cultivo da *Spirulina platensis* foi utilizado Planejamento Fatorial Completo 2³, com 3 variáveis (X₁: cepa; X₂: diluição do efluente sintético; X₃: concentração de bicarbonato de sódio) em dois níveis de variação, resultando 8 condições de cultivo. Verifica-se na Tabela 2 a matriz dos valores codificados e os níveis das variáveis utilizadas no Planejamento Fatorial Completo 2³.

TABELA 1 – Composição do efluente sintético de suíno.

Componente	Concentração	Componente	Concentração
1. NaHCO_3	0,600 g/L	10. $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0,0135 g/L
2. K_2HPO_4	0,500 g/L	11. $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$	0,005 g/L
3. NaNO_3	0,001 g/L	12. MoO_3	0,00003 g/L
4. K_2SO_4	0,400 g/L	13. $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	0,0001 g/L
5. $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,400 g/L	14. NH_4OH	0,420 mL/L
6. CaCl_2	0,050 g/L	15. NH_4Cl	0,668 g/L
7. $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0,040 g/L	16. EDTA	0,100 g/L
8. H_3BO_4	0,005 g/L	17. Na_2SO_4	0,600 g/L
9. $\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	0,003 g/L		

Para definir a diluição ideal do cultivo da *Spirulina platensis* foi utilizado Planejamento Fatorial Multiníveis $3^1 \times 2^1$, em que a variável X_1 (diluição do meio) foi variada em três níveis e X_2 (cepa) em dois níveis e mais 2 padrões com 100% de meio sintético, resultando 8 condições de cultivo. Observa-se pela

Tabela 3 a matriz dos valores codificados e os níveis das variáveis utilizadas no Planejamento Fatorial Multiníveis $3^1 \times 2^1$. Foi utilizada água destilada estéril para as diluições. Os cultivos dos experimentos 15 e 16 (cepa LEB-52 e PARACAS) foram realizados sem diluição do efluente sintético de suíno.

TABELA 2 – Matriz dos valores codificados e níveis das variáveis utilizadas no Planejamento Fatorial 2^3 , utilizado no cultivo da cianobactéria *Spirulina platensis*.

Experimentos	Variáveis Codificadas			Variáveis Reais		
	X_1	X_2	X_3	X_1	X_2	X_3
1	-1	-1	-1	LEB-52	0	0
2	+1	-1	-1	PARACAS	0	0
3	-1	+1	-1	LEB-52	50%	0
4	+1	+1	-1	PARACAS	50%	0
5	-1	-1	+1	LEB-52	0	3g/L
6	+1	-1	+1	PARACAS	0	3g/L
7	-1	+1	+1	LEB-52	50%	3g/L
8	+1	+1	+1	PARACAS	50%	3g/L

X_1 : cepa; X_2 : diluição do efluente sintético; X_3 : concentração de bicarbonato de sódio,

TABELA 3 – Matriz dos valores codificados e níveis das variáveis utilizadas no Planejamento Fatorial Multiníveis $3^1 \times 2^1$ e mais 2 padrões com 100% de efluente sintético utilizado no cultivo da cianobactéria *Spirulina platensis*.

Experimentos	Variáveis Codificadas		Variáveis Reais	
	X_1	X_2	X_1	X_2
9	-1	-1	80%	LEB-52
10	0	-1	50%	LEB-52
11	+1	-1	20%	LEB-52
12	-1	+1	80%	PARACAS
13	0	+1	50%	PARACAS
14	+1	+1	20%	PARACAS

X_1 : diluição do efluente sintético; X_2 : cepa

Análise dos resultados

Pelos resultados de concentração de biomassa foram construídas curvas de crescimento do microrganismo versus tempo, das quais foram obtidas as concentrações máximas de biomassa e a velocidade específica máxima de crescimento para cada experimento.

As concentrações máximas de biomassa foram obtidas mediante os gráficos de concentração de biomassa versus tempo. A velocidade específica máxima de crescimento foi calculada considerando a integração da equação 1, na fase exponencial de crescimento, utilizando-se o Software Grapher 1.32.

$$\mu = \left(\frac{1}{x}\right) \times \left(\frac{dx}{dt}\right) \quad (1)$$

em que: μ = velocidade específica de crescimento (h^{-1})

X = concentração de células biomassa (g/L)

t = tempo(h)

Os tempos de geração foram calculados mediante as velocidades específicas máximas de crescimento da equação 2, o qual foi definido como tempo necessário para a duplicação da biomassa.

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

Em que: tg = tempo de geração (h)

$\mu_{\text{máx}}$ = velocidade específica máxima de crescimento (h^{-1})

Os resultados de $X_{\text{máx}}$ e $\mu_{\text{máx}}$ obtidos foram analisados por Análise de Variância utilizando-se Software Estatística 6.0 for Windows.

Determinações analíticas

A concentração de biomassa foi determinada a cada 24 horas, por meio de uma relação pré-estabelecida entre esta e a absorvância a 670 nm nas duas etapas. A velocidade específica máxima de crescimento celular ($\mu_{\text{máx}}$) foi determinada segundo a exponencial na fase logarítmica de crescimento celular.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Comparando-se as Figuras 1(a) e 1(b) verificou-se, que estas apresentaram mesmo padrão de crescimento, tendo sido obtidas as maiores concentrações de biomassa nos experimentos de 1 a 4, indicando que a adição de bicarbonato de sódio ao meio de cultivo foi prejudicial ao crescimento da cianobactéria. Isto pode ser explicado pelo fato de o microrganismo ter sido adaptado em meio com baixa concentração de bicarbonato. Deve-se salientar que a concentração de bicarbonato de sódio adicionada em nível superior de variação (3g/L) foi inferior a concentração deste sal no meio Zarrouk, con-

siderado padrão para o cultivo desta cianobactéria, que é de 16,8 g/L. Reinehr (2003), em experimentos realizados em cultivo semi-contínuo da *Spirulina platensis*, obteve melhores resultados de velocidade específica de crescimento e produtividades em cultivos, utilizando meio com 20% de meio padrão Zarrouk. Além disso, segundo Richmond (1990), os custos relacionados ao bicarbonato de sódio são os mais elevados em cultivos abertos de *Spirulina*. Desta forma, a obtenção de melhores respostas de concentração de biomassa sem a adição deste nutriente foi importante por representar diminuição nos custos de produção da cianobactéria, além daquela já ocasionada devido à utilização de um efluente como meio de cultivo.

Os experimentos 2 e 6 (cepa PARACAS e sem diluição do meio de cultivo) e o experimento 8 (cepa PARACAS, com diluição do meio) apresentaram morte celular com poucas horas de cultivo, indicando que o efluente sintético deve ser diluído para a realização do cultivo da cianobactéria. Apenas um dos experimentos realizados com a cepa PARACAS apresentou crescimento (experimento 4), o qual foi realizado com a diluição de 50% do efluente sintético e sem a adição de bicarbonato de sódio. Resultados similares foram encontrados por Ayala e Vargas (1987), que concluíram que a maioria dos efluentes suínos foram tóxicos para a cianobactéria quando usados sem diluição, sendo a disponibilidade de nitrogênio um dos fatores limitantes mais importantes para o crescimento da mesma. Segundo Canizares-Villanueva et al. (1995), a diluição do efluente também foi necessária para reduzir o efeito tóxico da amônia no crescimento da *Phormidium* sp.

Os experimentos 1 (cepa LEB, sem diluição do meio de cultivo e sem adição de bicarbonato de sódio) e 5 (cepa LEB, sem diluição do meio de cultivo e com a adição de 3 g/L de bicarbonato de sódio) apresentaram os maiores valores de velocidade específica de crescimento ($\mu_{\text{máx}}$) 0,022 e 0,031 h^{-1} , respectivamente, entretanto, mantiveram-se em fase exponencial de crescimento somente por 72 horas, resultando em baixas concentrações de biomassa (0,31 e 0,19 g/L). Já os experimentos 3 (cepa LEB, efluente sintético diluído 50% com água destilada e sem adição de bicarbonato de sódio) e 7 (cepa LEB, efluente sintético diluído 50% com água destilada e com adição de 3 g/L de bicarbonato de sódio) apresentaram resultados de $\mu_{\text{máx}}$ em torno de 0,004 h^{-1} , ambos com uma fase de adaptação de 96 horas e concentrações de biomassa de 0,55 e 0,43 g/L, respectivamente. O experimento 4 apresentou velocidade específica superior aos experimentos 3 e 7 (0,0057 h^{-1}), entretanto, apresentou fase de adaptação de 240 horas e concentração de biomassa de 0,45 g/L.

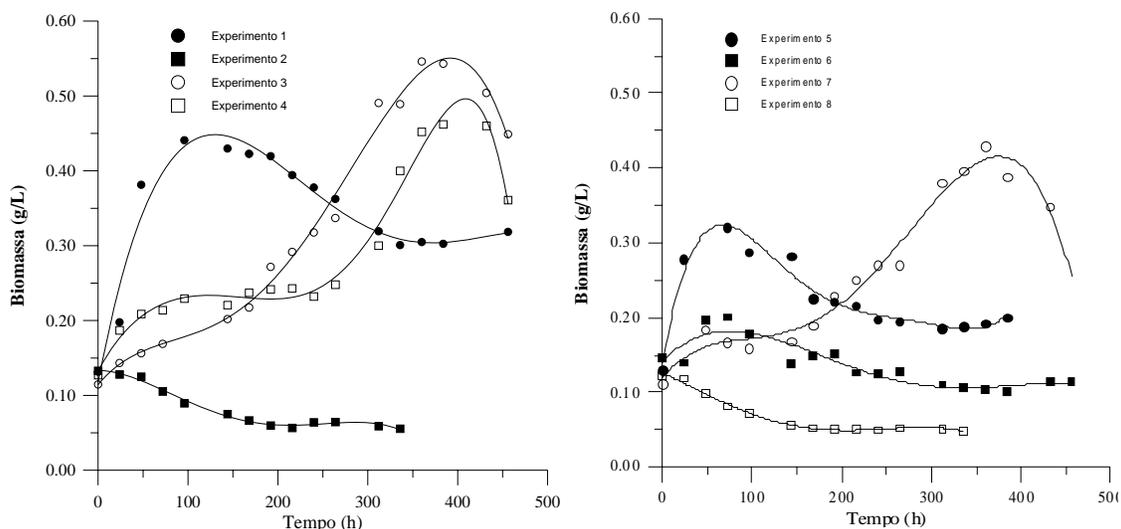


FIGURA 1 – Curvas de concentração de biomassa (g/L) versus tempo, para os experimentos do Planejamento Fatorial Completo 2^3 , do cultivo da *Spirulina platensis* utilizando efluente sintético.

A análise de variância dos resultados para concentração celular máxima (X_{max}) dos experimentos do Planejamento Fatorial Completo 2^3 indicou que todas as variáveis estudadas foram significantes ($p < 0,00001$), sendo que a interação entre essas variáveis também apresentou nível de significância inferior a 0,00001, devendo portanto ser analisada. Verifica-se na Figura 2 o gráfico de interação de médias para as variáveis cepa, diluição e concentração de bicarbonato de sódio sobre a concentração máxima de biomassa. Verificou-se que para a cepa LEB, independentemente da concentração de bicarbonato de sódio do meio de cultivo, as maiores concentrações de biomassa foram obtidas com a diluição do efluente com 50% de água destilada. Já para a cepa PARACAS a maior concentração de biomassa foi obtida com diluição do meio e sem adição de bicarbonato de sódio. Observa-se também que os maiores resultados de concentração de biomassa foram obtidos com a cepa LEB.

Na Figura 3 podem ser observadas as superfícies de resposta obtidas para as interações das variáveis estudadas. Verificou-se que as melhores condições para a utilização do efluente sintético para o cultivo de *Spirulina platensis* foram a cepa LEB, diluição do eflu-

ente com 50% de água destilada e sem a adição de bicarbonato de sódio.

Na segunda etapa deste estudo, os experimentos 11 (LEB, diluição 20%), 15 (LEB, sem diluição), 13 (PARACAS, diluição 50%), 14 (PARACAS, diluição 20%) e 16 (PARACAS, sem diluição) apresentaram morte celular em poucas horas de cultivo, indicando que para a cepa LEB o crescimento foi observado para as diluições nos níveis central (50%) e superior (80%) e para a cepa PARACAS somente para o nível superior (80%). O experimento 10 (LEB, diluição 50%) apresentou crescimento celular de 0,20 g/L, inferior aos experimentos 9 (LEB, diluição 80%) e 12 (PARACAS, diluição 80%), que apresentaram crescimento celular de 0,25 e 0,35 g/L, respectivamente, sendo esses os experimentos de maiores concentrações de biomassa. Estes resultados podem ser observados na Figura 4. Resultados similares foram encontrados por Beltrão (1992), que reportou a necessidade de diluição da ordem de 1:3 de resíduos da indústria de suco de laranja utilizando a cianobactéria *Chorella vulgaris*. Segundo Gantar et al. (1991), o conhecimento da diluição ideal dos dejetos para a produção da alga é fundamental para o seu adequado crescimento.

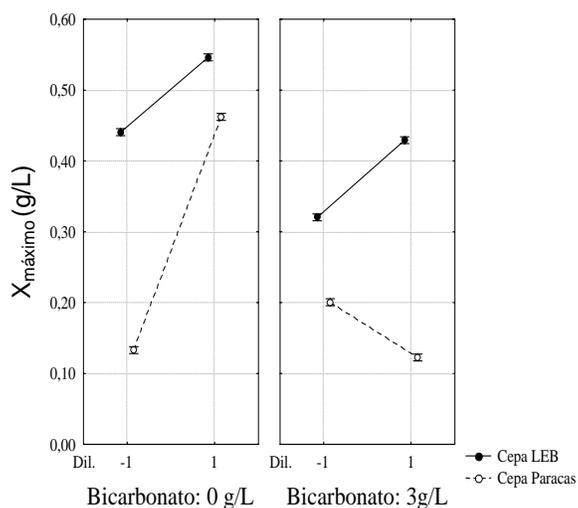


FIGURA 2 – Interação das médias para as variáveis cepa, diluição do meio sintético e concentração de bicarbonato de sódio do Planejamento Fatorial Completo 2^3 sobre a resposta concentração máxima de biomassa (X_{max})

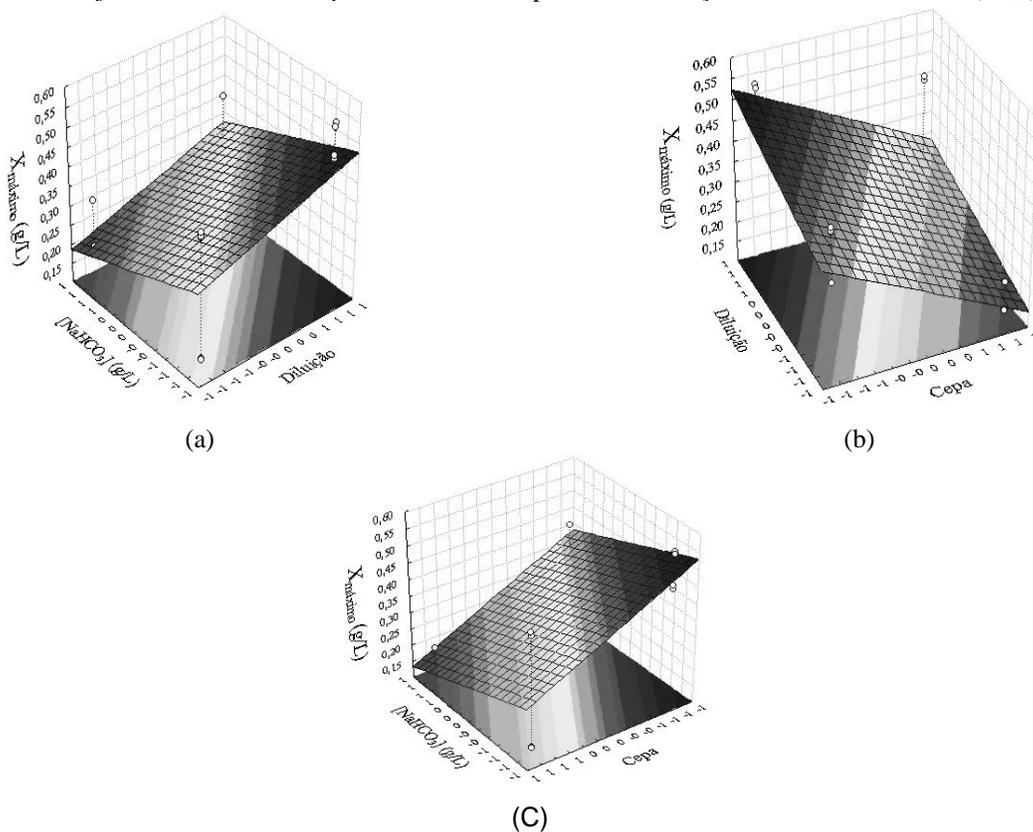


FIGURA 3 – Superfícies de resposta obtidas pela análise do Planejamento Fatorial Completo 2^3 sobre a variável resposta concentração máxima de biomassa: (a) diluição do efluente sintético e concentração de bicarbonato de sódio; (b) cepa e diluição do efluente sintético; (c) cepa e concentração de bicarbonato de sódio.

O experimento 9 (cepa LEB com 80% de diluição) apresentou o maior valor de velocidade específica de crescimento ($0,017 \text{ h}^{-1}$). Os experimentos 10 (cepa LEB com 50% de diluição) e 12 (cepa PARACAS com 80% de diluição) apresentaram resultados de μ_{max} de $0,006$ e $0,0039 \text{ h}^{-1}$, respectivamente. Embora o experimento 9 tenha apresentado o maior valor de μ_{max} , foi também o que apresentou o menor intervalo de crescimento exponencial (48h). Os experimentos 11 (cepa LEB com 20% de diluição), 13 (cepa PARACAS com

50% de diluição) e 14 (cepa PARACAS com 20% de diluição) apresentaram μ_{max} nulo.

A análise de variância dos resultados de concentração máxima dos experimentos do Planejamento Fatorial Multiníveis $3^1 \times 2^1$ mostrou que a cepa influenciou significativamente no μ_{max} quando utilizou-se diluição a partir de 50%. Para a diluição 20% não foi observada diferença significativa entre as cepas, visto que as duas apresentaram morte celular, conforme pode ser observado na Figura 5.

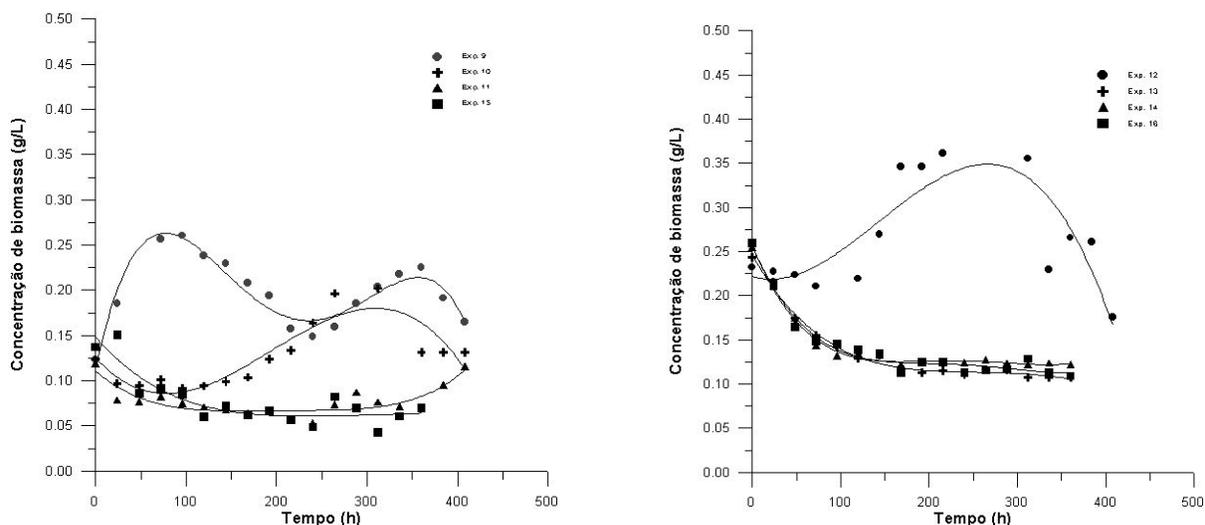


FIGURA 4 – Curvas de Concentração de Biomassa (g/L) versus tempo para os experimentos do Planejamento Fatorial Multiníveis $3^1 \times 2^1$ do Cultivo da *Spirulina platensis* utilizando o efluente sintético.

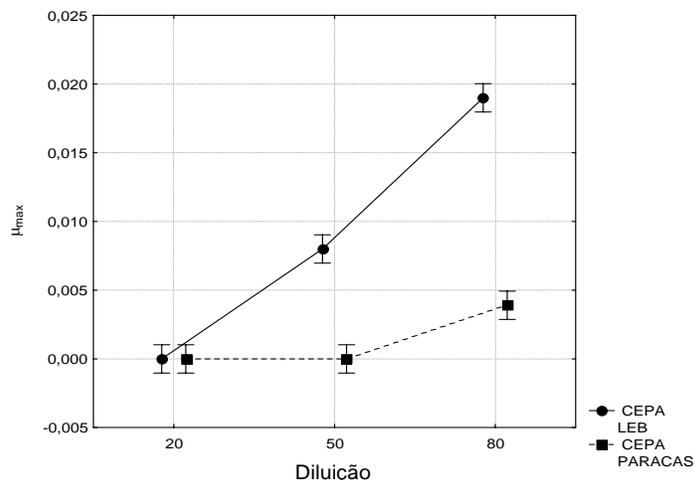


FIGURA 5 – Interação das médias para as variáveis cepa, diluição do meio sintético do Planejamento Fatorial Multiníveis $3^1 \times 2^1$ sobre a resposta (μ_{max}).

CONCLUSÕES

As cepas LEB-52 e PARACAS da *Spirulina platensis* cresceram em efluente sintético de suíno diluído e sem adição de bicarbonato de sódio. A diluição ideal para esse crescimento foi de 80%, sendo observado aumento significativo de biomassa a partir de 50% de diluição.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AYALA, F.; VARGAS, T. Experiments on *Spirulina* culture on waste-effluent media and at the pilot plant. **Hydrobiology**, [S.l.], v. 151-152, p. 91-93, 1987.
- BELTRÃO, M. I. **Cultivo de algas clorofíceas (*Ankistrodesmus densus*, *Chorella vulgaris* e *Scenedesmus bijugatus*) em resíduos líquidos de indústria de suco de laranja concentrado**. 1992. 120 f. Mestrado (Dissertação) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 1992.
- BERGMANN, B. A. et al. In vitro selection of duckweed geographical isolates for potencial use in swine lagoon effluent enovation. **Bioresource Technonology**, Essex, v. 73, p. 13-20, 2000.
- CANIZARES-VILANUEVA, R. O. et al. Chemical composition of cyanobacteria grown in diluted, aerated swine wastewater. **Bioresource Technology**, Essex, v. 51, p. 111-116, 1995.
- COSTA, J. A. V. et al. Modelling of *Spirulina platensis* growth in fresh water using response surface methodology. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Oxford, v. 18, n. 7, p. 603-607, 2002.
- DARTORA, V.; PERDOMO, C. C.; TUMELERO, I. T. **Manejo de dejetos suínos**. Concórdia: EMBRAPA-CNPSA/EMATER/RS, 1998. 41 p.
- DETTMER, C. A. **Destino dos dejetos suínos em algumas propriedades rurais do município de nova boa vista r/s, sob a ótica ambiental**: estudo de caso. 2003. 32 f. Monografia (Especialização em Tecnologia Ambiental) – Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2003.
- GANTAR, M.; OBREHT, Z.; DALMACIJA, B. Nutrient removal and algal sucesión durinf the growth of *Spirulina platensis* and *Scenedesmus quadricauda* on Swine Wastewater. **Bioresouce Technology**, Essex, v. 36, p. 167-171, 1991.
- REINEHR, C. O. **Cultivo da Cianobactéria *Spirulina platensis* em Modo Semicontínuo**. 2003. 96 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Alimentos) - Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2003.
- RICHMOND, A. **Handbook of microalgal mass culture**. Boston: CRC, 1990.
- TESKE, M.; TRENTINI, A. M. M. **Herbarium**: compêdio de ficoterapia. Curitiba: Herbarium, 2001. 317 p.
- VONSHAK, A. *Spirulina platensis* (Arthrospira). **Physiology, Cell Biology and Biotechnology**. London: Taylor & Francis, 1997. p. 17-66.
- ZARROUK, C. **Contribution à l'étude d'une cyanophycée**: influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de *Spirulina maxima*. 1966. Thesis (Ph.D.) – University d' Paris, Paris, 1966.