

CULTIVO DA MICROALGA *Spirulina platensis* EM FONTES ALTERNATIVAS DE NUTRIENTES

Culture of microalga *Spirulina platensis* in alternative sources of nutrients

Michele da Rosa Andrade¹, Jorge Alberto Vieira Costa²

RESUMO

O Brasil gera cerca de 18 milhões de toneladas de melaço por ano, com aproximadamente 50% de açúcares e carece de maior quantidade de alimentos que auxiliem no combate à desnutrição. *Spirulina platensis* é uma microalga que pode conter 74% de proteínas e, embora seja um microrganismo autotrófico, a complementação do meio de cultivo com carbono orgânico pode estimular seu crescimento. *S. platensis* foi cultivada em modo autotrófico com bicarbonato de sódio, e mixotrófico com 0,25; 0,50; 0,75 e 1,00 g.L⁻¹ de melaço em pó (MEP) ou melaço líquido (MEL). A presença de MEL ou MEP resultou em crescimento por, no mínimo 35 dias, e melhores parâmetros de crescimento que os cultivos autotróficos que cresceram durante 30 dias. Utilizando MEP 0,25 g.L⁻¹ a maior concentração de biomassa foi 2,59 g.L⁻¹ e produtividade 0,066 g.L⁻¹.dia⁻¹, enquanto cultivos autotróficos alcançaram 1,44 g.L⁻¹ e 0,045 g.L⁻¹.dia⁻¹. A máxima concentração de biomassa (2,83 g.L⁻¹) e produtividade (0,098 g.L⁻¹.dia⁻¹) foram obtidas em MEL 0,50 g.L⁻¹. Os resultados demonstram que o potencial brasileiro de produção de melaço pode ser explorado também para obtenção de altas concentrações de biomassa no cultivo da microalga *Spirulina platensis*.

Termos para indexação: Cianobactéria, cultivo mixotrófico, melaço.

ABSTRACT

Brazil produces approximately 18,000,000 tons of molasses per year, containing 50% of sugars. This country needs more food help for the malnourishment disease. *Spirulina platensis* is a microalga that contains up to 74% proteins. It grows photoautotrophically, but the medium complementation with organic carbon may stimulate its growth. *S. platensis* was grown autotrophically and mixotrophically with 0.25; 0.50; 0.75 and 1.00 g.L⁻¹ of powder molasses (MEP) or liquid molasses (MEL). Cultures with MEL or MEP have grown for more long time (minimum 35 days) and have reached higher biomass concentration and productivity than autotrophic one, that grew during 30 days. Cultures with MEP 0.25 g.L⁻¹ have reached biomass concentration of 2.59 g.L⁻¹ and productivity of 0.066 g.L⁻¹.day⁻¹. Maximum biomass concentration (2.83 g.L⁻¹) and productivity (0.098 g.L⁻¹.day⁻¹) were reached in cultures with MEL 0.50 g.L⁻¹. Autotrophic cultures reached 1.44 g.L⁻¹ and 0.045 g.L⁻¹.day⁻¹. Results showed that the Brazilian potential of molasses production may be also exploited to obtain higher biomass concentration in the culture of microalga *Spirulina platensis*.

Index terms: Cyanobacteria, mixotrophic culture, molasses.

(Recebido em 2 de julho de 2007 e aprovado em 7 de abril de 2008)

INTRODUÇÃO

Microalgas são microrganismos fotossintéticos com requerimentos nutricionais relativamente simples e cuja biomassa pode ser empregada para obtenção de biocompostos, como suplemento alimentar humano, alimento animal ou fonte de biocombustíveis.

Spirulina platensis é uma microalga com composição apropriada para uso como complemento alimentar, podendo ser empregada no combate à desnutrição (FOX, 1996). Em sua composição destacam-se os altos teores de proteínas (64 – 74%), ácidos graxos poliinsaturados e vitaminas (COHEN, 1997), além de

compostos antioxidantes (COLLA et al., 2007). Essa microalga é classificada como GRAS (Generally Recognized as Safe) pelo FDA (Food and Drug Administration), o que garante seu uso como alimento sem riscos à saúde.

Em cultivos de microalgas, a fonte de nutrientes consiste no segundo maior componente dos custos de produção (VONSHAK, 1997). A fonte de carbono no meio padrão de crescimento de *Spirulina* é o bicarbonato de sódio (ZARROUK, 1966), que fornece CO₂ para a fotossíntese. Recentemente outras fontes de carbono, como CO₂ têm sido estudadas para o cultivo de microalgas (MORAIS & COSTA, 2007). Embora utilize a fotossíntese

¹Engenheira Química, Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos – Escola de Química e Alimentos/EQA – Universidade Federal do Rio Grande/FURG – Rua Engenheiro Alfredo Huch, 475 – Centro – Cx. P. 474 – 96201-900 – Rio Grande, RS – michelerosaandrade@yahoo.com.br

²Engenheiro de Alimentos, Doutor em Engenharia de Alimentos – Escola de Química e Alimentos/EQA – Universidade Federal do Rio Grande/FURG – Rua Engenheiro Alfredo Huch, 475 – Centro – Cx. P. 474 – 96201-900 – Rio Grande, RS – jorgealbertovc@terra.com.br

como metabolismo principal para obtenção de carbono, a *Spirulina* é capaz de assimilar substratos orgânicos nos cultivos mixotróficos (ANDRADE & COSTA, 2007; MARQUEZ et al., 1993).

A estimulação do crescimento de *Spirulina* foi verificada em meio suplementado com glicose (CHOJNACKA & NOWORYTA, 2004; MARQUEZ et al., 1993). Além disso, a presença de um substrato orgânico pode contribuir para a redução da perda noturna de biomassa (TORZILLO et al., 1991), que acontece durante o período escuro, quando a demanda energética celular é suprida pela respiração.

A indústria açucareira brasileira gera cerca de 18 milhões de toneladas de melaço anualmente, utilizado na produção de álcool e vinagre, como alimento animal e para a adubação do solo. O melaço contém mais de 50% de açúcares, o que lhe confere potencial de utilização como fonte de carbono para a suplementação do meio de cultivo de microalgas. O melaço tem sido utilizado no cultivo de microrganismos (LAZARIDOU et al., 2002; LEE & KIM, 2001), contudo, não são encontrados registros atuais de sua utilização no cultivo de microalgas.

Além da disponibilidade de melaço, o Brasil apresenta abundância de água e clima apropriado na maioria de sua extensão para o cultivo de *Spirulina* e, por outro lado, problemas de desnutrição e de acesso a alimentos pela parcela mais carente da população. Ainda assim, o país não produz a microalga em grande escala, estando sua produção concentrada em países como China, Estados Unidos, Japão e Israel (MARQUEZ et al., 1993).

Objetivou-se, neste trabalho, avaliar o crescimento de *Spirulina platensis* em meio de cultivo complementado com melaço líquido (MEL) e melaço em pó (MEP).

MATERIAL E MÉTODOS

Foi utilizada a microalga *Spirulina platensis* LEB-52 (COSTA et al., 2004), em meio de cultivo Zarrouk (ZARROUK, 1966), diluído com água destilada estéril a 20% v/v (ANDRADE & COSTA, 2007) e complementado com 0,00; 0,25; 0,50; 0,75 e 1,00 g.L⁻¹ de MEL ou MEP.

Os cultivos foram realizados assepticamente em Erlenmeyers de 2 L, mantidos em estufa termostatizada a 30°C, fotoperíodo de 12h claro/escuro e 2500 Lux de iluminância fornecidos por lâmpadas fluorescentes de 40W. A agitação das culturas foi realizada pela injeção de ar estéril a uma vazão específica de 0,5 vvm (volume de ar por volume de meio por minuto) por bombas de diafragma (COSTA et al., 2000). A concentração inicial de *S. platensis* foi 0,15 g.L⁻¹. Os ensaios foram realizados em duplicatas.

O crescimento da biomassa foi monitorado diariamente pela densidade ótica das culturas a 670 nm em espectrofotômetro (Femto 700 – Plus, Brasil) através de uma curva padrão previamente construída relacionando peso seco e densidade óptica; a concentração inicial de biomassa também foi determinada por esse procedimento. O pH das culturas foi determinado a cada 3 dias em medidor digital de pH (Quimis Q400HM, Brasil).

Foram avaliadas a concentração máxima de biomassa ($X_{máx}$, g.L⁻¹), a produtividade máxima ($P_{máx}$, g.L⁻¹.dia⁻¹) obtida segundo a equação $P = (X_t - X_0)/(t - t_0)$, onde X_t é a concentração de biomassa (g.L⁻¹) no tempo t (dia), e X_0 a concentração de biomassa (g.L⁻¹) no tempo t_0 (dia) (SCHMIDELL et al., 2001); e a velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{máx}$, dia⁻¹) por regressão exponencial aplicada à fase de crescimento logarítmica (BAILEY & OLLIS, 1986).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As Figuras 1 e 2 mostram as concentrações de biomassa de *S. platensis* durante os cultivos com MEP e MEL, respectivamente. Os valores médios de concentração máxima de biomassa, produtividade máxima e velocidade específica máxima de crescimento são apresentados na Tabela 1.

A concentração máxima de biomassa obtida nos ensaios autotróficos foi 1,44 g.L⁻¹, com queda na biomassa a partir de 30 dias de cultivo (Figura 2). A maior concentração de biomassa nos cultivos com MEP foi 2,59 g.L⁻¹ alcançada em 0,25 g.L⁻¹ do substrato orgânico. Neste ensaio não houve fase de adaptação, apresentando crescimento desde a inoculação em taxa aproximadamente constante, de modo que a curva de crescimento assemelha-se a uma reta, onde não é evidente uma fase exponencial. Outros cultivos de *S. platensis* com melaço demonstraram comportamento semelhante da fase exponencial (ANDRADE & COSTA, 2007).

A concentração máxima de biomassa (Tabela 1) diminuiu com o aumento da concentração de MEP. Houve fase de adaptação da biomassa de aproximadamente 5 dias em 0,50 g.L⁻¹ MEP, 11 dias em 0,75 g.L⁻¹ MEP, e 17 dias de crescimento lento nos cultivos com 1,00 g.L⁻¹ MEP. Após a fase de adaptação, as células iniciaram crescimento exponencial.

O tempo em que as células permaneceram em crescimento foi semelhante, cerca de 35 dias nos cultivos com 0,50; 0,75 e 1,00 g.L⁻¹ MEP e cerca de 40 dias no cultivo com 0,25 g.L⁻¹ MEP. A partir de cerca de 25 dias, a concentração de biomassa apresentou variações na tendência de crescimento, principalmente devido à formação de aglomerados celulares. Esse fenômeno foi mais acentuado nos cultivos com 0,50; 0,75 e 1,00 g.L⁻¹ MEP.

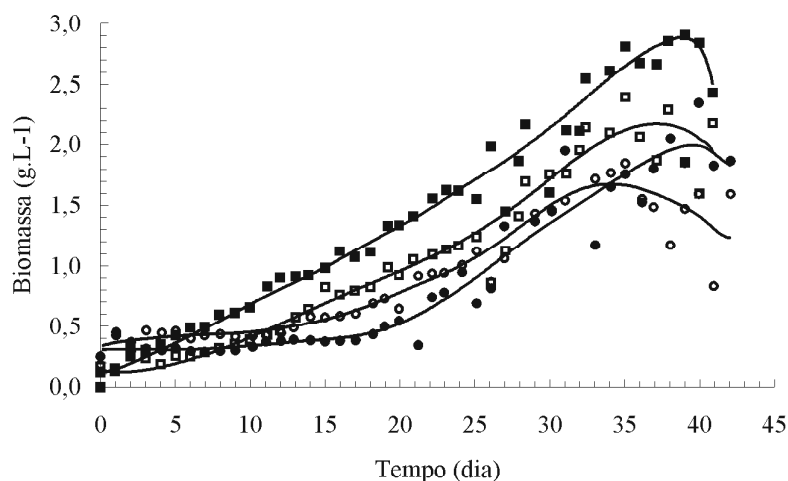


Figura 1 – Crescimento da biomassa de *S. platensis* em meio complementado com melão em pó (MEP). (■) MEP 0,25 g.L⁻¹; (□) MEP 0,50 g.L⁻¹; (●) MEP 0,75 g.L⁻¹; (○) MEP 1,00 g.L⁻¹.

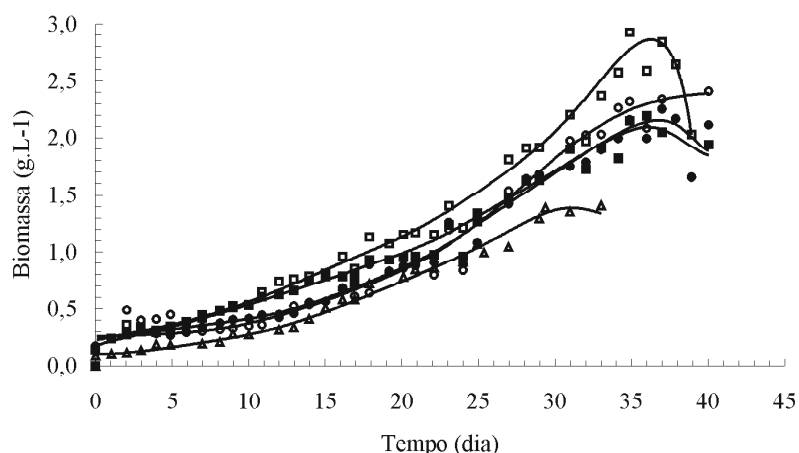


Figura 2 – Crescimento da biomassa de *S. platensis* em meio autotrófico (Δ) ou complementado com melão líquido (MEL). (■) MEL 0,25 g.L⁻¹; (□) MEL 0,50 g.L⁻¹; (●) MEL 0,75 g.L⁻¹; (○) MEL 1,00 g.L⁻¹.

As produtividades nos cultivos com MEP diminuíram com o aumento na concentração do substrato orgânico, porém foram ainda maiores que no cultivo autotrófico (Tabela 1).

Os melhores resultados de crescimento obtidos na menor concentração (0,25 g.L⁻¹) de MEP podem ser devidos ao excesso de nutrientes no meio nas maiores concentrações do substrato orgânico, principalmente porque o MEP utilizado apresenta, inclusive, minerais que compõem o meio Zarrouk (ZARROUK, 1966).

Quanto aos cultivos com MEL, a Figura 2 indica que até 17 dias não houve diferença entre o crescimento nos cultivos com 0,25 e 0,50 g.L⁻¹ de MEL. Após, a

biomassa no ensaio com 0,50 g.L⁻¹ MEL foi maior e alcançou 2,83 g.L⁻¹ sendo esse valor superior a todos os demais ensaios realizados. Durante o ensaio, as concentrações de biomassa foram maiores nos meios complementados com MEL do que no ensaio autotrófico.

As maiores concentrações de biomassa nos cultivos mixotróficos de *Spirulina* comparadas às obtidas em cultivos autotróficos estão de acordo com Marquez et al. (1993) que obtiveram 1,8 e 2,5 g.L⁻¹ em cultivo auto e mixotrófico respectivamente; e Chen & Zhang (1997) que obtiveram 2,0 e 2,4 g.L⁻¹ em cultivo auto e mixotrófico respectivamente.

Tabela 1 – Concentração de biomassa máxima ($X_{\text{máx}}$), produtividade máxima ($P_{\text{máx}}$) e velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{\text{máx}}$) em cultivos autotróficos, com melão em pó (MEP) e com melão líquido (MEL) (média \pm desvio-padrão).

Substrato orgânico (g.L ⁻¹)	$X_{\text{máx}}$ (g.L ⁻¹)	$P_{\text{máx}}$ (g.L ⁻¹ .dia ⁻¹)	$\mu_{\text{máx}}$ (dia ⁻¹)
0,00	1,44 \pm 0,04	0,045 \pm 0,002	0,117 \pm 0,013
MEP 0,25	2,59 \pm 0,13	0,066 \pm 0,004	0,071 \pm 0,011
MEP 0,50	2,17 \pm 0,04	0,054 \pm 0,004	0,070 \pm 0,027
MEP 0,75	1,96 \pm 0,13	0,053 \pm 0,013	0,131 \pm 0,044
MEP 1,00	1,83 \pm 0,08	0,050 \pm 0,006	0,075 \pm 0,022
MEL 0,25	2,13 \pm 0,10	0,077 \pm 0,023	0,096 \pm 0,004
MEL 0,50	2,83 \pm 0,13	0,098 \pm 0,015	0,085 \pm 0,033
MEL 0,75	2,37 \pm 0,16	0,070 \pm 0,001	0,071 \pm 0,003
MEL 1,00	2,17 \pm 0,34	0,067 \pm 0,012	0,080 \pm 0,003

Uma fase de lento crescimento inicial foi observada até 5 dias nos cultivos com 0,75 g.L⁻¹ MEL e até 8 dias nos cultivos com 1,00 g.L⁻¹ MEL. Entre 18 e 24 dias houve uma fase estacionária de crescimento nos cultivos com 0,25 g.L⁻¹ MEL, que pode ser devida ao esgotamento do MEL e uma adaptação a um novo regime estritamente autotrófico. Duas fases de crescimento também foram encontradas em cultivos mixotróficos da microalga *Chlorella pyrenoidosa* (MARTÍNEZ et al., 1997) e de *S. platensis* (ANDRADE & COSTA, 2007).

Em média, as máximas produtividades (0,066 e 0,098 g.L⁻¹.dia⁻¹ em MEP e MEL, respectivamente) ocorreram em cultivos que alcançaram as maiores concentrações de biomassa (2,59 e 2,83 g.L⁻¹ em MEP e MEL, respectivamente). Comparando-se os cultivos com MEL e MEP, as produtividades foram maiores nos cultivos com MEL, e nesses não houve a formação de aglomerados celulares como verificado nos cultivos com MEP.

Os valores de velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{\text{máx}}$) não apresentaram aumento ou queda em função da concentração de MEP ou MEL utilizada, alcançando aproximadamente 0,1 dia⁻¹. Os cultivos que apresentaram as menores $\mu_{\text{máx}}$ alcançaram as maiores concentrações de biomassa (Tabela 1). A mesma cepa de *S. platensis* utilizada neste trabalho apresentou $\mu_{\text{máx}}$ de aproximadamente 0,1 dia⁻¹ em cultivo autotrófico semicontínuo (REICHERT et al., 2006) ou em água alcalina da Lagoa Mangueira no Sul do Brasil (REINEHR & COSTA, 2006).

Nos cultivos complementados com fonte orgânica de carbono houve manutenção do crescimento por mais tempo que no autotrófico (Figuras 1 e 2). Essa característica

pode ser explorada para o cultivo de microalgas que requerem operação asséptica dos cultivos, como *Haematococcus lacustris* utilizada para produção de astaxantina. A esterilização do reator e do meio e a operação asséptica do cultivo adicionam custos à produção, de modo que, para que sejam economicamente viáveis, os cultivos devem atingir altas concentrações de biomassa.

A utilização de um substrato que possibilite atingir maiores concentrações de biomassa, como MEP ou MEL, apresenta como vantagem a redução de sucessivas operações de bombeamento para a colheita das células, o que implica em custo energético e, no caso específico da *Spirulina*, pode causar quebra dos tricomas diminuindo seu tamanho e dificultando a operação de filtração ou centrifugação para colheita da microalga (VONSHAK, 1997). Além disso, a presença de um composto orgânico no meio pode permitir que o crescimento não seja estritamente dependente da luz e que a profundidade dos tanques de cultivo seja maior, proporcionando melhor aproveitamento das áreas disponíveis para produção de microalgas (BELAY, 1997; VONSHAK, 1997).

Os valores de pH variaram entre 9,3 e 10,2 nos cultivos com MEL e entre 9,0 e 10,4 nos cultivos com MEP. A faixa ótima de pH para o crescimento da microalga *Spirulina* é de 9,5 a 10,5 (PELIZER et al., 2003; RICHMOND & GROBBELAAR, 1986). Fora desse intervalo os cultivos podem ser suscetíveis à contaminação por outras microalgas (BELAY, 1997). Elevações do pH podem ocorrer em função do metabolismo autotrófico, onde o íon bicarbonato do meio se desidrata formando CO₂ para a fotossíntese e OH⁻ (SHIRAIWA et al., 1993), quedas no pH ocorrem devido à liberação respiratória de CO₂. Embora

o MEL apresente pH em torno de 6,0, sua adição nas diferentes concentrações utilizadas não causou quedas no pH, e mesmo sem controle adicional o pH esteve dentro da faixa ótima para o crescimento da microalga *S. platensis* durante os cultivos.

CONCLUSÃO

O enriquecimento do meio de cultivo com melão líquido (MEL) ou melão em pó (MEP) resultou em crescimento da *S. platensis* por, no mínimo, 35 dias e atingindo maiores concentrações e produtividades que em cultivo autotrófico, que manteve crescimento por 30 dias. Entre todos os ensaios realizados, a maior concentração de biomassa foi 2,83 g.L⁻¹ e produtividade 0,098 g.L⁻¹.dia⁻¹ em cultivos com MEL 0,50 g.L⁻¹. Nos cultivos com MEP a maior concentração foi 2,59 g.L⁻¹ e produtividade 0,066 g.L⁻¹.dia⁻¹, em ensaios com 0,25 g.L⁻¹ do substrato orgânico, enquanto nos cultivos autotróficos a maior concentração de biomassa foi 1,44 g.L⁻¹ e produtividade 0,045 g.L⁻¹.dia⁻¹. A velocidade específica de crescimento não apresentou relação com a concentração de MEL ou MEP no meio. Assim, os resultados indicam que o potencial brasileiro de produção de MEL ou MEP pode ser aproveitado para a obtenção de biomassa da microalga *S. platensis* com melhores resultados que o cultivo autotrófico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, M. R.; COSTA, J. A. V. Mixotrophic cultivation of microalga *Spirulina platensis* using molasses as organic substrate. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 264, p. 130-134, 2007.

BAILEY, J. E.; OLLIS, D. F. **Biochemical engineering fundamentals**. 2. ed. Singapore: McGraw-Hill, 1986. 984 p.

BELAY, A. Mass culture of *Spirulina* outdoors: the Earthrise farms experience. In: VONSHAK, A. ***Spirulina platensis (Arthrospira) physiology, cell-biology and biotechnology***. London: Taylor & Francis, 1997. 233 p.

CHEN, F.; ZHANG, Y. High cell density mixotrophic culture of *Spirulina platensis* on glucose for phycocyanin production using a fed-batch system. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 20, p. 221-224, 1997.

CHOJNACKA, K.; NOWORYTA, A. Evaluation of *Spirulina* sp. growth in photoautotrophic, heterotrophic and mixotrophic cultures. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 34, p. 461-465, 2004.

COHEN, Z. The chemicals of *Spirulina*. In: VONSHAK, A. ***Spirulina platensis (Arthrospira) physiology, cell-biology and biotechnology***. London: Taylor & Francis, 1997. 233 p.

COLLA, L. M.; REINEHR, C. O.; REICHERT, C.; COSTA, J. A. V. Production of biomass and nutraceutical compounds by *Spirulina platensis* under different temperature and nitrogen regimes. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 7, p. 1489-1493, May 2007.

COSTA, J. A. V.; COLLA, L. M.; DUARTE FILHO, P. F. Improving *Spirulina platensis* biomass yield using a fed-batch process. **Bioresource Technology**, v. 92, p. 237-241, 2004.

COSTA, J. A. V.; LINDE, G. A.; ATALA, D. I. P. Modelling of growth conditions for cyanobacterium *Spirulina platensis* in microcosms. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 16, p. 15-18, 2000.

FOX, R. D. ***Spirulina production & potential***. Paris: Edisud, 1996. 232 p.

LAZARIDOU, A.; ROUKAS, T.; BILIADERIS, C. G.; VAIKOUSI, H. Characterization of pullulan produced from beet molasses by *Aureobasidium pullulans* in a stirred tank reactor under varying agitation. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 31, p. 122-132, 2002.

LEE, B.; KIM, J. K. Production of *Candida utilis* biomass on molasses in different culture types. **Aquaculture Engineering**, v. 25, p. 111-124, 2001.

MARQUEZ, F. J.; SASAKI, K.; KAKIZONO, T.; NISHIO, N.; NAGAI, S. Growth characteristics of *Spirulina platensis* in mixotrophic and heterotrophic conditions. **Journal of Fermentation Bioengineering**, v. 5, p. 408-410, 1993.

MARTÍNEZ, M. E.; CAMACHO, F.; JIMÉNEZ, J. M.; ESPÍNOLA, J. B. Influence of light intensity on the kinetic and yield parameters of *Chlorella pyrenoidosa* mixotrophic growth. **Process Biochemistry**, v. 32, n. 3, p. 93-98, 1997.

MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Biofixation of carbon dioxide by *Spirulina* sp. and *Scenedesmus obliquus* cultivated in a three-stage serial tubular photobioreactor. **Journal of Biotechnology**, v. 129, n. 3, p. 439-445, May 2007.

- PELIZER, L. H.; DANESI, E. D.; RANGEL, C. O.; SASSANO, C. E. N.; CARVALHO, J. C. M.; SATO, S.; MORAES, I. O. Influence of inoculum age and concentration in *Spirulina platensis* cultivation. **Journal of Food Engineering**, v. 56, p. 371-375, 2003.
- REICHERT, C. C.; REINEHR, C. O.; COSTA, J. A. V. Semicontinuous cultivation of the cyanobacterium *Spirulina platensis* in a closed photobioreactor. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 23, p. 23-28, 2006.
- REINEHR, C. O.; COSTA, J. A. V. Repeated batch cultivation of the microalga *Spirulina platensis*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 22, p. 937-943, 2006.
- RICHMOND, A.; GROBBELAAR, J. U. Factors affecting the output rate of *Spirulina platensis* with reference to mass cultivation. **Biomass**, v. 10, p. 253-264, 1986.
- SCHMIDELL, W.; LIMA, A. U.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Biotechnologia Industrial**. São Paulo: E. Blücher, 2001. v. 2, 254 p.
- SHIRAIWA, Y.; GOYAL, A.; TOLBERT, N. E. Alkalization of the medium by unicellular green algae during uptake of dissolved inorganic carbon. **Plant Cell Physiology**, v. 34, n. 5, p. 649-657, 1993.
- TORZILLO, G.; SACCHI, A.; MATERASI, R. Temperature as an important factor affecting productivity and night biomass loss in *Spirulina platensis* grown outdoors in tubular photobioreactors. **Bioresource Technology**, v. 38, p. 95-100, 1991.
- VONSHAK, A. *Spirulina platensis (Arthrospira) physiology, cell-biology and biotechnology*. London: Taylor & Francis, 1997. 233 p.
- ZARROUK, C. **Contribution à l'étude d'une cyanophycée: influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et photosynthèse de *Spirulina maxima* Geitler**. 1966. Thesis (Ph.D.) - University of Paris, Paris, 1966.