

Efecto de los medios KM y BBM usando luz led roja y azul sobre la producción de astaxantina en *Haematococcus pluvialis*

Effect of KM and BBM Media Using Red and Blue LED Light on Astaxanthin Production in *Haematococcus pluvialis*

Natalia Lorena Torres Martínez^{ab}, Mayra Tatiana Cuellar Bogotá^{ac}, Judith Elena Camacho Kurmen^{ad}

^a Grupo de Investigación Bioprocesos y Control, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Colombia

^b nltorres@universidadmayor.edu.co | <https://orcid.org/0009-0004-1395-6025>

^c mtcuellar@universidadmayor.edu.co | <https://orcid.org/0009-0006-0492-718X>

^d jelenacamacho@universidadmayor.edu.co | <https://orcid.org/0000-0002-8880-1501>

Citación: Torres Martínez, N. L. Cuellar Bogotá, M. T. Camacho Kurmen, J. E. (2026). Efecto de los medios KM y BBM usando luz led roja y azul sobre la producción de astaxantina en *Haematococcus pluvialis*. *Mutis*, 16(1), 1- 21.
<https://doi.org/10.21789/22561498.2205>

Recibido: 12 de agosto de 2025

Aceptado: 19 de marzo de 2026

Copyright: © 2026 por los autores. Licenciado para *Mutis*. Este artículo es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos y condiciones de la licencia Creative Commons Attribution (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

RESUMEN

La optimización de la producción biotecnológica de astaxantina a partir de la microalga *Haematococcus pluvialis* Flotow (1848) (*Chlamydomonadales*, *Chlorophyceae*) cuando es sometida a condiciones de estrés, es importante por sus usos como pigmento y compuesto bioactivo en diferentes industrias. Es por esto por lo que se propuso como objetivo determinar el efecto de los medios KM y BBM usando luz LED roja (650 nm) con una irradiancia de 130.65 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ y luz LED azul (450 nm) con una irradiancia de 924.42 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ sobre la producción de astaxantina en *H. pluvialis*. Se realizó el ANOVA (95%) para establecer diferencias significativas entre tratamientos y prueba t.

Las condiciones de cultivo de la microalga *H. pluvialis* establecidas incluyen los medios KM y BBM, que pueden utilizarse para su cultivo usando luces LED, ya que no se presentaron diferencias significativas entre tratamientos (F:2.051; P:0.174; gl:1), siendo el medio de cultivo BBM, en el que se presentó el mayor crecimiento de la microalga llegando a $2,88 \times 10^6$ cel./mL, con una velocidad de crecimiento ($R^2=0,87$, modelo logístico). En la producción de astaxantina, se presentaron diferencias significativas entre tratamientos (F:9.060; P:0.009; gl:1), encontrándose que el medio KM, usando luces LED (t=3,01; P=0.005), produjo mayor acumulación, 20,29 $\mu\text{g}/\text{mL}$, observándose morfológicamente quistes de tonalidad roja por su acumulación. Se concluye que el uso de medio de cultivo KM combinado con luz LED roja (650 nm) con una irradiancia de 130.65 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ y luz LED azul (450 nm) con una irradiancia de 924.42 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ incrementó la acumulación de astaxantina.

Palabras clave: Microalga *H. pluvialis*; luz LED; astaxantina; condiciones de estrés; medio KM y medio BBM; Ciencias naturales.

ABSTRACT

Optimizing the biotechnological production of astaxanthin from the microalga *Haematococcus pluvialis* Flotow (1848) (*Chlamydomonadales*, *Chlorophyceae*) under stress conditions is important due to its use as a pigment and bioactive compound in various industries. Therefore, this study aimed to determine the effect of KM and BBM media, using red LED light (650 nm) with an irradiance of 130.65 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ and blue LED light (450 nm) with an irradiance of 924.42 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$, on astaxanthin production in *H. pluvialis*. An ANOVA (95%) was performed to establish significant differences between treatments, and a t-test was used.

It was established that KM and BBM culture media can be used for the cultivation of the microalga *H. pluvialis* using LED lights, as no significant differences were found between treatments ($F = 2.051$; $P = 0.174$; $df = 1$). The BBM culture medium showed the greatest microalgal growth, reaching 2.88×10^6 cells/mL, with a growth rate ($R^2 = 0.87$, logistic model). Significant differences were found between treatments for astaxanthin production ($F = 9.060$; $P = 0.009$; $df = 1$). The KM medium, using LED lights ($t = 3.01$; $P = 0.005$), produced the greatest accumulation, 20.29 $\mu\text{g}/\text{mL}$, with red cysts observed morphologically due to the accumulation. It is concluded that the use of KM culture medium combined with red LED light (650 nm) with an irradiance of 130.65 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ and blue LED light (450 nm) with an irradiance of 924.42 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ increased the accumulation of astaxanthin.

Keywords: microalga *H. pluvialis*; LED light; astaxanthin; stress conditions; KM media and BBM medium; Natural Sciences.

INTRODUCCIÓN

La astaxantina es un pigmento y compuesto bioactivo que tiene aplicaciones en las áreas industrial, alimenticia, cosmética, nutracéutica, farmacéutica y acuicultura, obtenida de la microalga *H. pluvialis*, quien acumula altas concentraciones de este carotenoide posiblemente entre un 5-6 g peso/peso por biomasa seca, cuando es sometida a condiciones de estrés como luz, color de luz, alta irradiancia, deficiencia de nutrientes (Tocquin et al., 2012; Oslan et al., 2021; Achaempong et al., 2024), deficiencia de nitrógeno (Wang et al., 2013; Scibilia et al., 2015; Zhang et al., 2018; Gómez et al., 2019; Miranda et al., 2019; Samhat et al., 2023), deficiencia de fosfatos (Miranda et al., 2019; Liyanaarachchi et al., 2020; Li et al., 2021; Camacho y Rodríguez, 2024), salinidad (He et al., 2020; Li et al., 2020; Wang et al., 2021), temperatura y CO_2 (Shah et al., 2016; Christian et al., 2018; Pham et al., 2018; Cheirsilp et al., 2022; Mota et al., 2022; Busakorn et al., 2023; Achaempong et al., 2024; Casula et al., 2024). Para la obtención de la astaxantina se busca el crecimiento apropiado de la microalga produciendo una biomasa en calidad y cantidad adecuada. Además de la disponibilidad de la biomasa adecuada de la microalga, el establecimiento de un proceso de producción repetible es indispensable para la aplicación industrial, donde el uso de biorreactores cerrados, proporcionan una operación más controlada y definida, con bajo riesgo de contaminación, una configuración de proceso altamente flexible, controlando de una manera precisa las variables de cultivo, como medios de cultivo; luz, fuentes de luz, color, irradiancia, fotoperiodos, pH, temperatura, agitación y mezclado (Zhang et al., 2016; Sun et al., 2017; Khoo et al., 2019; Zhao et al., 2019; Do

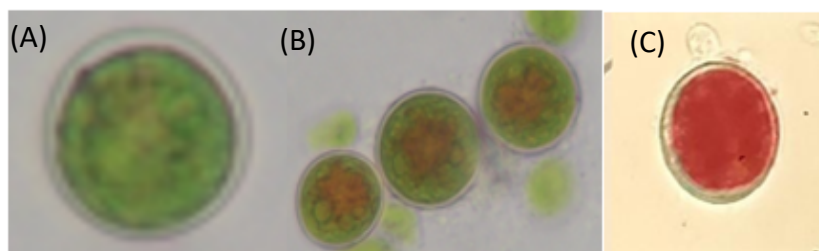
et al., 2021; Oslan et al., 2021; Ren et al., 2021;; Silva et al., 2022; Do et al., 2023; Herrera et al., 2024).

Las propiedades de la luz como su fuente, la longitud de onda y la intensidad, son importantes para el crecimiento de microalgas fotoautótrofas como el *H. pluvialis* y el uso de la combinación de condiciones de estrés como la deficiencia de nutrientes y la alta intensidad de luz y el color usado incrementan la acumulación de astaxantina en esta microalga (Ota et al., 2018; Santos et al., 2022; Samhat et al., 2023; Herrera et al., 2024). Se han utilizado diferentes fuentes de luz para el crecimiento y estrés de la microalga, como la solar, el uso de lámparas fluorescentes blancas, lámparas incandescentes y el uso de luces LED de colores, siendo éstas últimas la fuente de luz más prometedora, ya que consumen menos energía eléctrica, producen más luz, no desperdician energía produciendo la longitud de onda necesaria y son de bajo costo (Tran et al., 2015; Pang et al., 2019; Pereira y Otero2020; Herrera et al., 2024).

Para el incremento de la obtención de astaxantina por la superposición de unas células sobre otras durante el crecimiento de la microalga, se hace importante establecer la trayectoria de la luz adecuada, el fotoperiodo establecido, la fuente de luz, el color, la irradiancia o intensidad adecuada de luz, diseñando un sistema de luz que se adapte de tal manera que todas las células de la microalga reciban el mismo estrés y así incrementar la acumulación de este carotenoide (Mazumdar et al., 2019; Li et al., 2020; Marinho et al., 2021; Mourya et al., 2023).

La astaxantina es uno de los antioxidantes naturales más importante, producido por la microalga *H. pluvialis*, con propiedades como compuesto bioactivo y pigmento con aplicaciones en la nutrición humana y animal y también en la salud como en el tratamiento y prevención de enfermedades del sistema vascular y cardíaco, diabetes, antienvjecimiento, antiinflamatorio y en el cáncer (Rao et al., 2014; Mularczyk et al., 2020; Oslan et al., 2021; Ren et al., 2021; Nemani et al., 2024). Los beneficios que se esperan obtener con la implementación de este colorante natural en la industria es reemplazar los colorantes químicos de origen sintético con impacto negativo a nivel ambiental y salud (Rodriguez et al., 2023), además la astaxantina de origen natural no presenta efectos secundarios como si lo hace la de origen químico y es de mejor calidad que la producida por bacterias y levaduras Mularczyk et al., 2020; Oslan et al., 2021; Achaempong et al., 2024).

Figura 1. Cambio morfológico *Haematococcus pluvialis*



Fuente: Elaboración propia

A) Célula vegetativa. B) Tetrasporofito en período de rápida división. C) Aplanospora, células en etapa posterior en condiciones inducidas.

Una estrategia promisorio para mejorar la producción de astaxantina en el *H. pluvialis*, es el estudio de los factores que afectan su crecimiento como el tipo de nutrientes orgánico o inorgánico utilizado combinado con la luz con el fin de optimizar las condiciones de crecimiento, su desarrollo y producción, ya que la utilización del *H. pluvialis* tiene sus dificultades en el momento del cultivo y de obtener el pigmento en cantidades de interés debido a su ciclo celular complejo. Uno de los principales inconvenientes es que se trata de un producto del metabolismo secundario. Siendo los diodos emisores de luz (LED) las fuentes de luz preferidas debido a su variedad en colores blanco, azul y rojo con amplio espectro de estrecha banda con diversidad en tamaños, además son ligeros, duraderos y eficientes en términos de mayor vida útil y la cantidad de luz que se desprende es mucho mayor en comparación con su consumo de energía (Katsuda et al., 2004; Gao et al., 2014; Ma et al., 2018; Lee et al., 2020; Ortiz et al., 2020; Li et al., 2020; Do et al., 2021; Jin et al., 2024; Herrera et al., 2024). Es por esto por lo que este estudio busca determinar la producción de astaxantina a partir de *H. pluvialis* en medio KM y BBM usando luz LED roja (650 nm) y azul (450 nm), relacionando los parámetros cinéticos de crecimiento con la producción de clorofila y astaxantina, documentando los cambios morfológicos en función de la fase de crecimiento en los medios de cultivo BBM y KM, en donde se utilizan compuestos inorgánicos en el caso de medio BBM y compuestos orgánicos en el caso del medio KM.

MATERIALES Y MÉTODOS

Microorganismo

Se utiliza una cepa de referencia de la microalga *H. pluvialis* UTEX2505 (colección de cultivos de algas, Universidad de Texas, Austin TX, US). La cepa se mantiene en medio sólido y líquido Mes-Volvox (por recomendación de la UTEX) a baja irradiancia y una temperatura entre 15 y 20 °C.

Preparación del inóculo

Para preparar el inóculo se toma una muestra de la solución stock de la cepa de referencia de la UTEX 2505 y se transfirió asépticamente a un Erlenmeyer de 500 mL que contiene 200 mL de medio Volvox-MES fresco y estéril, el cual consiste en Ca(NO₃)₂·4H₂O 11,8 g 100 mL⁻¹, MgSO₄·7H₂O 4 g 100 mL⁻¹, Na₂glicerofosfato·5H₂O 0,05 g L⁻¹, KCl 0,05g/L, MES 1,95 g L⁻¹, solución de metales piv 6 ml L⁻¹, NH₄Cl 0,026 g L⁻¹, Vitamina B12 1ml L⁻¹, HEPES y biotina 1 ml L⁻¹, ajustado a pH 6,7 agitación a 100 rpm, irradiancia 70 μmol/m²s, temperatura de 20 ± 2°C, iluminación con lámparas fluorescentes blancas (T1t 20w/54RS marca Philips), aire filtrado, fotoperíodo de 18 horas luz y 6 horas de oscuridad por 15 días. Cada tres días se hace conteo celular y revisión microscópica del cultivo. Para establecer la cantidad de inóculo a utilizar se realiza un conteo celular y con esta información realizar los cálculos necesarios para saber el volumen a adicionar del inóculo a los biorreactores pequeños en sistema batch utilizando la fórmula $V1C1 = V2C2$.

Efecto de los medios BBM y KM usando luces LED roja (650 nm) y azul (450 nm) sobre la producción de astaxantina

El cultivo de *H. pluvialis* se realiza en sistema Batch, utilizando las siguientes condiciones: Medio BBM, el cual consiste de NaNO₃ 250 mg/L, CaCl₂ 25mg/L, MgSO₄ 75 mg/L, K₂HPO₄ 175 mg/L, KH₂PO₄ 75 mg/L, NaCl 25 mg/L, EDTA 50 g/L, KOH 3.1 g/L, H₃BO₃ 11.42 mg/L, ZnSO₄ 8.82 g/L, MnCl₂ 1.44 g/L, MoO₃ 0.71 g/L, CuSO₄ 1.57 g/L, Co (NO₃)₂

0.49 g/L (Imamoglu, 2007) y Medio Kobayashi (KM) el cual consiste de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,02 g/L, acetato de sodio 1,2 g/L, L-asparagina 0,4 g/L, extracto de levadura 2 g/L, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,2 g/L, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,01 g/L, pH 6,8 (Kobayashi et al., 1993). Los experimentos se llevan a cabo en condiciones controladas de temperatura ($20 \pm 2^\circ\text{C}$), agitación (100 rpm), aire filtrado, iluminación continua con luz LED roja (650 nm) irradiancia $130.65 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ (1700 luxes) por 15 días.

Condiciones de estrés: deficiencia de nutrientes e iluminación continua con luz LED azul (450 nm) con irradiancia de $924.42 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ (8000 luxes) (Ver Figura 2)

Figura 2. Cultivo de *Haematococcus Pluvialis* medio KM y BBM A) Luz LED Roja B) Luz LED Azul



Fuente: Elaboración propia

Generación de las curvas de crecimiento

Se construyen curvas de crecimiento a partir de al menos tres ensayos independientes. Se toman muestras cada siete días para la determinación del número de células por mL por microscopía. Las tendencias de crecimiento se ajustan al modelo logístico mediante la transformación de los valores de Y a los cuales se les calculó su logaritmo en base 10 para obtener \log vs t del crecimiento celular. Se utiliza el Software Dmfit 2.0 para determinación de parámetros cinéticos, según modelo Baranyi- Roberts.

Determinación de clorofila y astaxantina

Se realiza el procedimiento APHA, 2005. Inicialmente, se toma 1 mL de muestra de cada cultivo, los cuales se centrifugan a 12 000 rpm durante 5 min; posteriormente se retira el sobrenadante (medio de cultivo); al paquete celular se le adiciona 1 mL de metanol al 90% y se deja durante 10 min. a 60°C en baño serológico y posteriormente se centrifuga a 12,000 rpm durante 5 min. Para la cuantificación de clorofila y astaxantina se realiza una curva de calibración (absorbancia en función de la concentración expresada en $\mu\text{g}/\text{mL}$) con patrones de referencia, la lectura espectrofotométrica se hace en el equipo Thermo Scientific Evolution 201, a una longitud de onda de 667 nm para clorofila y 477 nm para astaxantina. Cada tratamiento se hace por triplicado.

Cambio morfológico

Los cambios morfológicos se evalúan usando la cámara de Neubauer. Para el monitoreo de la microalga se utiliza un microscopio de luz marca OLYMPUS CX31 para

determinar el color, tamaño, viabilidad y morfología de las células, realizando registro fotográfico a 40x (Do et al., 2021).

Análisis estadístico

El experimento se repite tres veces. Todas las observaciones y cálculos se hacen separadamente para cada set de experimentos y se expresaron en promedio de 6SD. La significancia ($P < 0.05$) de las variables estudiadas se midió usando un análisis de varianza (ANOVA) y test t.

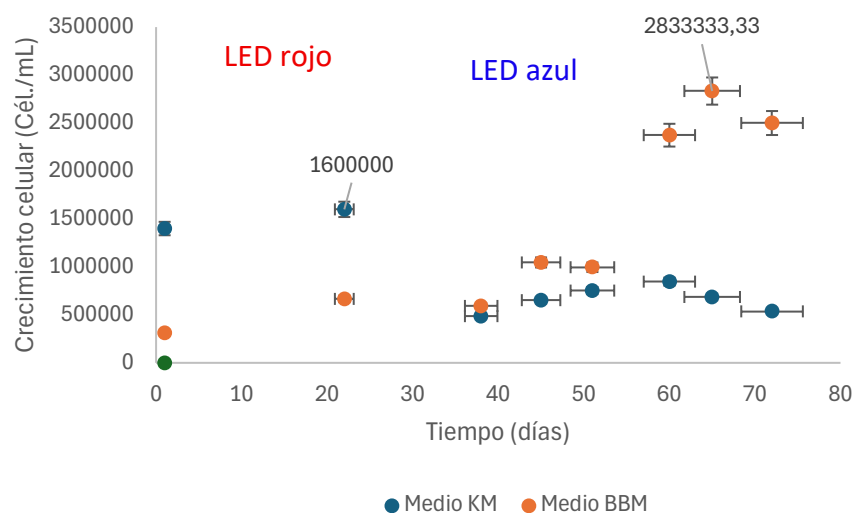
RESULTADOS

Fase 1. Crecimiento de la microalga *H. pluvialis*

Se presenta el crecimiento de la microalga *H. pluvialis* utilizando los medios de cultivo kobayashi (KM) y BBM en la Figura 3, bajo las condiciones de uso de LED roja (650 nm) con una irradiancia de $130.65 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ (1700 luxes) y factor de estrés uso de luz LED azul (450 nm), con una irradiancia de $924.42 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ (8000 luxes). Se observa en el medio KM, bajo iluminación de luz LED roja, un pico máximo de crecimiento para la microalga de $1,6 \times 10^6$ células/ mL al día 22, evidenciando que las condiciones de luz LED roja favorece el crecimiento en un 62,5% en este medio, con respecto al medio BBM, con un valor de 6×10^5 células/ mL al día 22.

En el medio BBM, bajo iluminación combinada LED rojo (650 nm) y LED azul (450 nm), se alcanzó una concentración máxima de $2,88 \times 10^6$ células/ mL al día 65, lo que indica que las condiciones de uso de LED roja y azul favorecen el crecimiento. Según el ANOVA (95%) no hay diferencias significativas entre los tratamientos ($F:2.051$; $P:0.174$; $gl:1$), lo que indica que se pueden utilizar los dos medios de cultivo bajo las condiciones de crecimiento y de estrés trabajadas, sin embargo, el mejor medio para crecimiento de la microalga es el BBM usando luces LED. Se observa que la luz LED roja incrementa el crecimiento en los dos tratamientos, pero cuando se hace cambio a luz LED azul se frena este crecimiento (figuras 3 y 4).

Figura 3. Curva de crecimiento de *H. pluvialis* en los medios KM y BBM



Fuente: Elaboración propia

Crecimiento de la microalga *H. pluvialis* en los medios KM y BBM usando luz LED roja (650 nm) y luz LED azul (450 nm). ANOVA (95%) realizado no indica diferencias significativas entre los tratamientos (F:2.051; P:0.174; gl:1).

Se realizó la medición del pH durante el cultivo de la microalga en los medios KM y BBM, usando luz LED roja (650 nm) y luz LED azul (450 nm), como factor de estrés.

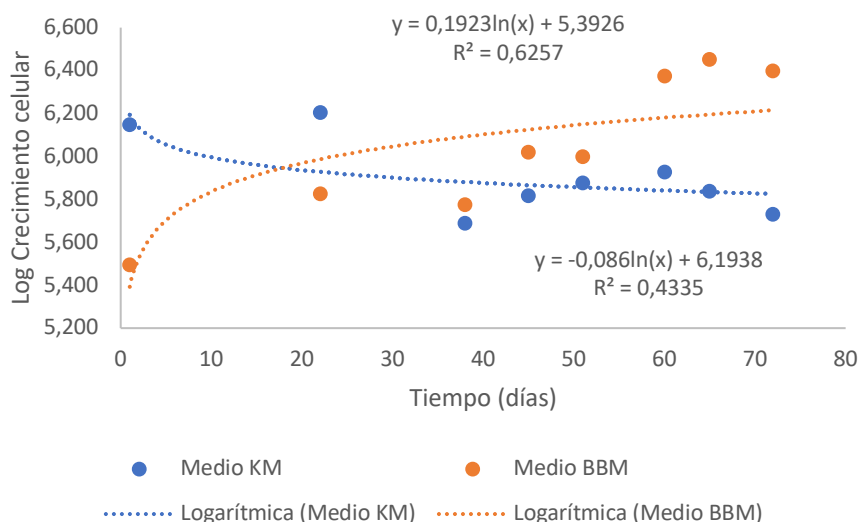
En general, el pH para los dos medios de cultivo bajo las condiciones trabajadas se encontró entre 7,6 y 8,7, valores que se encuentran dentro de lo recomendado para el cultivo de esta microalga, pH 5,0 a 9,0 (Benavente, J et al., 2012, Manrique M., 2019, Cuero k et al., 2019).

El ANOVA (95%) realizado para el pH estableció que si hay diferencias significativas entre tratamientos para los valores de pH de los cultivos realizados para la microalga *H. pluvialis* (F:7.850; P:0.014; gl:1), indicando que el pH obtenido para el cultivo de la microalga bajo las condiciones trabajadas en el KM es significativamente diferente (t= 2,80; P= 0.010) y posiblemente favoreció la producción de astaxantina, ya que bajo estas condiciones se obtuvo su mayor producción (20,29 µg/mL).

Parámetros cinéticos del crecimiento de *H. pluvialis*

El medio de cultivo con la mayor velocidad específica de crecimiento fue el medio BBM con 0,023/día ($R^2 = 0,87$, modelo logístico) (Figura 4). En cuanto a biomasa, el medio KM presentó una menor velocidad de crecimiento de -0,012/día ($R^2 = 0,50$, modelo logístico), lo cual indica mejor adaptación de la microalga a los componentes del medio BBM, destacando los micronutrientes, oligoelementos y nitrógeno inorgánico presente en su composición, por el mayor contenido de nitrato de sodio. Este modelo explica el comportamiento de la microalga en el medio BBM bajo las condiciones de luz LED roja (650 nm) y luz LED azul (450 nm) ($R^2 \sim 1$).

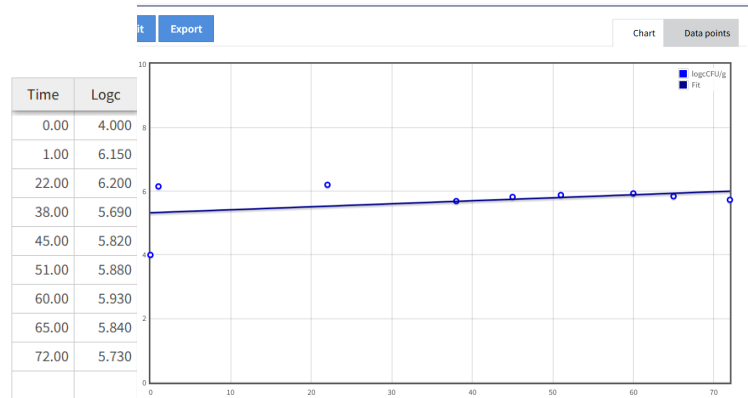
Figura 4. Curva de crecimiento Medio Logístico de *H. pluvialis* en los medios de KM y BBM con luz LED roja (650 nm) y luz azul (450 nm).



Fuente: Elaboración propia

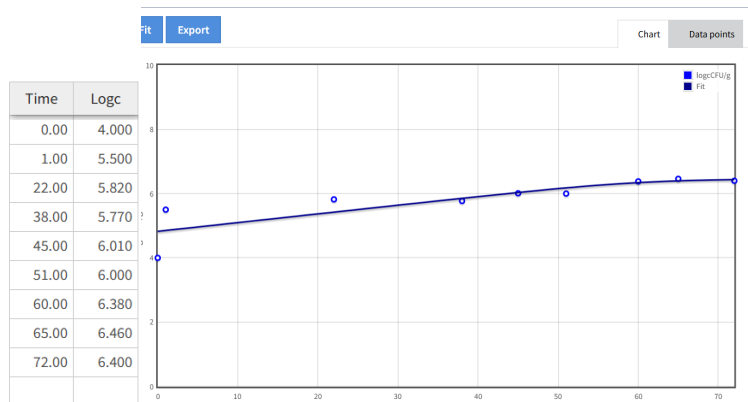
Los resultados del Modelo Baranyi-Roberts (1994) se presentan a continuación (figuras 5 y 6), bajo las condiciones de estrés trabajadas, estableciéndose que este modelo se ajustó mejor a las condiciones de crecimiento de la microalga *H. pluvialis* en el medio BBM bajo las condiciones luz LED roja (650 nm) irradiancia 130.65 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ y de estrés con alta irradiancia 924.42 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ de luz LED azul (450 nm), presentando una velocidad de crecimiento de 0,027 /día ($R^2 = 0,62$) y el mayor crecimiento de la microalga, 2.8×10^6 células/mL.

Figura 5. Modelo Baranyi-Roberts, en el medio KM



Fuente: Elaboración propia

Figura 6. Modelo Baranyi-Roberts, en el medio BBM











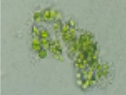




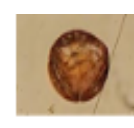
Fuente: Elaboración propia

De acuerdo con los resultados obtenidos, el modelo que más se ajusta al crecimiento de la microalga bajo las condiciones trabajadas fue el modelo logístico ($R^2 = 0,87$), por presentar un R^2 más cercano a 1, utilizando el medio BBM bajo las condiciones de crecimiento luz LED roja (650 nm) irradiancia 130.65 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ y condiciones de estrés con alta irradiancia 924.42 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ de luz LED azul (450 nm).

Cambio morfológico

Se observaron los cuatros fases de crecimiento de la microalga en los días de cultivo (Tabla 1): las primeras dos fases hacen parte del crecimiento vegetativo tales como células verde biflageladas y palmeloide bajo luz LED roja (650 nm) a una irradiancia de 130.65 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$. El cambio a luz LED azul (450 nm) irradiancia de 924.42 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$, se observa en las dos últimas fases caracterizadas por un aumento del tamaño de la microalga con una disminución del crecimiento llegando al enquistamiento presentando un quiste inmaduro y, por último, un quiste maduro (aplanospora).

Tabla 1. Cambio morfológico de *H. pluvialis* medio BBM y KM. Tamaño 40x

Día	Medio BBM	Medio KM
1		
22		
38		
45		
51		
60		
65		

Fuente: Elaboración propia

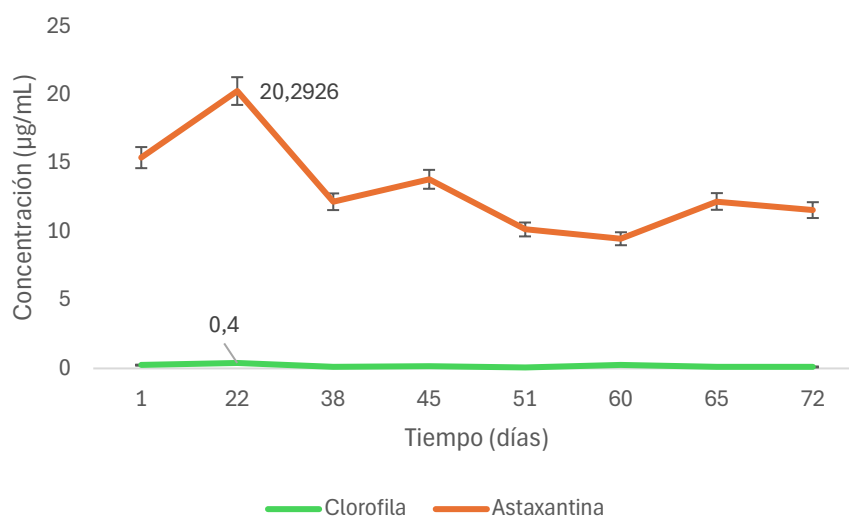
En la Tabla 1 se muestran el cambio morfológico de la microalga *H. pluvialis* durante el tiempo del estudio. En la etapa inicial, se observan las células móviles (zoosporas) con un tamaño pequeño, con forma esférica y dos flagelos, características de la fase vegetativa verde. A medida que avanzaba el tiempo, las células aumentaban en tamaño y se observaban en mayor cantidad bajo las condiciones de estrés alta irradiancia 924.42 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ de luz LED azul (450 nm) y deficiencia de nutrientes,

caracterizada por la formación de quistes o aplanosporas con una capa externa gruesa que les proporciona resistencia a las condiciones adversas acumulando astaxantina.

Concentración de astaxantina y clorofila

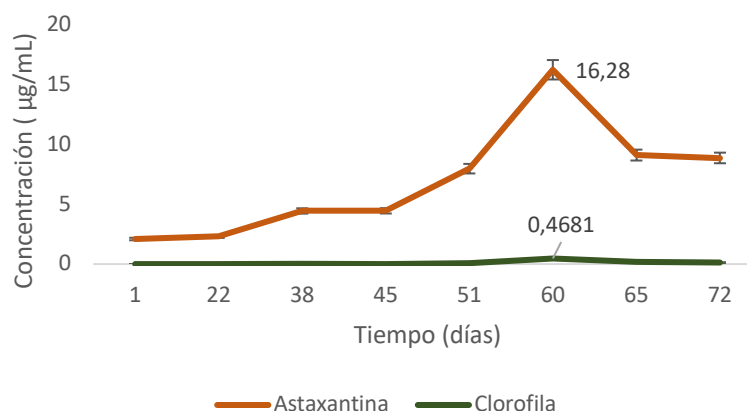
La producción de clorofila, para los dos medios KM y BBM (figuras 7 y 8), se correlaciona con el crecimiento celular (Figura 1), presentándose en el cultivo realizado en el medio KM, llegando a $0,40\mu\text{g}/\text{mL}$ bajo luz LED roja (irradiancia $130.65\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$, 650nm) en el día 22 y para el medio BBM se presentó la mayor producción el día 60 del cultivo con un valor de $0,47\mu\text{g}/\text{mL}$ bajo el uso de luz LED azul y alta irradiancia $924.42\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ y deficiencia de nutrientes, como factor de estrés.

Figura 7. Concentración de clorofila y astaxantina Medio KM



Fuente: Elaboración propia

Figura 8. Concentración de clorofila y astaxantina Medio BBM



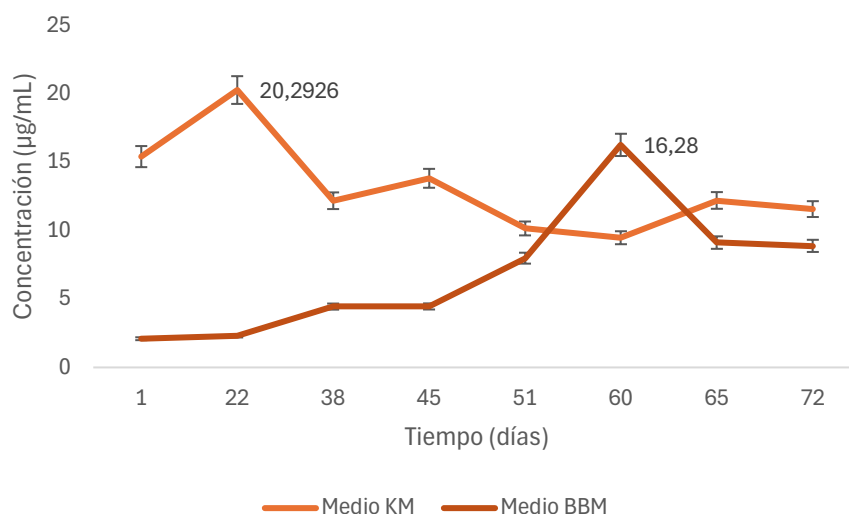
Fuente: Elaboración propia

Concentración de clorofila y astaxantina en la microalga *H. pluvialis* en los medios KM y BBM usando luz LED roja (650 nm) y Luz LED azul (450 nm). ANOVA (95%) realizado no reporta diferencias significativas entre los tratamientos (F:1.343; P:0.266; gl:1) para clorofila. ANOVA (95%) encuentra diferencias significativas entre los tratamientos (F:9.060; P:0.009; gl:1), siendo el mejor medio KM (t=3,01; P=0.005).

El ANOVA (95%) realizado indica que no hay diferencias significativas entre los dos tratamientos con respecto a la concentración de clorofila de la microalga *H. pluvialis* (F:1.343; P:0.266; gl:1) correlacionado con los resultados obtenidos para el crecimiento de la microalga.

Con respecto a la producción de astaxantina, se observa en la Figura 9 la mayor acumulación en el medio KM bajo luz LED roja (irradiancia 130.65 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$, 650 nm), con una concentración máxima de 20,29 $\mu\text{g}/\text{mL}$, para el día 22 con una productividad de $1,27 \times 10^{-5} \mu\text{g}/\text{Cel}$. En el medio BBM, la producción de astaxantina alcanzó 16,28 $\mu\text{g}/\text{mL}$ bajo luz LED azul (450 nm) con una irradiancia de 924.42 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ para el día 60 con una productividad de $5,81 \times 10^{-6} \mu\text{g}/\text{Cel}$.

Figura 9. Concentración de astaxantina.



Fuente: Elaboración propia

Producción de astaxantina en la microalga *H. pluvialis* en los medios KM y BBM usando luz LED roja (650 nm) y luz LED azul (450 nm). ANOVA (95%) realizado si reporta diferencias significativas entre los tratamientos (F:9.060; P:0.009; gl:1), siendo el mejor medio KM (t=3,01; P=0.005).

El ANOVA (95%) realizado encontró diferencias significativas entre tratamientos para la producción de astaxantina (F:9.060; P:0.009; gl:1), siendo las mejores condiciones para su obtención el cultivo de la microalga *H. pluvialis* en el medio KM usando luz LED roja (650 nm) e irradiancia de 130.65 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ y condiciones de estrés con luz LED azul (450 nm) y alta irradiancia 924.42 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ (t=3,01; P=0.005).

A continuación, se presenta un resumen de los tratamientos realizados:

Tabla 2. Tabla resumen de los parámetros analizados y los tratamientos realizados.

Parámetro	Medio KM*	Medio BBM*
Crecimiento celular (cél./mL)	1,6x10 ⁶	2,8x10 ⁶
Velocidad máxima de crecimiento (μmáx.) Modelo Logístico y coeficiente de correlación	-0,012/día R ² :0,50	0,023/día R ² : 0,87
Velocidad máxima de crecimiento (μmax.) Modelo Baranyi-Roberts y coeficiente de correlación	-12,63/día R ² : 0,022	0,027 R ² :0,62
pH	7,6 - 8,7	7,7 - 8,1
Clorofila (μg/mL)	0,40	0,46
Astaxantina (μg/mL)	20,29	16,28
Productividad de astaxantina (μg/cel.)	1,27x 10 ⁻⁵	5,81 x 10 ⁻⁶

*usando luz LED roja (650 nm) y Luz LED azul (450 nm).

Fuente: Elaboración propia

Se observa en general que bajo las condiciones de cultivo y de estrés utilizadas en el medio BBM se presenta el mejor crecimiento de la microalga *H. pluvialis* y la mayor producción de astaxantina se presentó en el medio KM con una productividad de 1,27x 10⁻⁵ μg/Cel. Se puede establecer que el uso de los medios BBM y KM combinados con luz LED roja (650 nm) y luz LED azul (450 nm) favorecen la producción de astaxantina.

DISCUSIÓN

En este estudio se utilizaron los medios de cultivo KM y BBM combinados con luz LED roja (650 nm) irradiancia de 130.65 μmol/m²s y de estrés con alta irradiancia 924.42 μmol/m²s y luz LED azul (450 nm) los cuales brindan las condiciones, factores y nutrientes necesarios para su desarrollo y acumulación. La luz LED tiene muchas ventajas sobre las fuentes de luz convencionales, como su tamaño compacto, su fácil manipulación de longitudes de onda específicas, bajo consumo de energía, son adecuadas para el cultivo en fotobiorreactores, favoreciendo el crecimiento celular y acumulación del pigmento en *H. pluvialis*, la fuente natural más rica (Lee et al., 2018). Además, permite obtener el pigmento de forma natural, para su aplicación en las grandes industrias como la alimentaria, cosmética, farmacéutica es una gran alternativa que asegura que el producto ofrecido es confiable y seguro (Li et al., 2020).

Los resultados indicaron que el medio BBM presentó un mayor crecimiento celular bajo la combinación mixta de luz LED roja y azul en comparación con KM (figura 3). Esto puede deberse a la composición del medio BBM, que contiene mayores concentraciones de nutrientes esenciales para el crecimiento de la microalga como mayor contenido de nitrógeno inorgánico, como nitrato de sodio, cuyo componente lo absorbe la microalga impulsando el crecimiento celular y la actividad enzimática, demostrando los mejores resultados (Mazumdar et al., 2019). Por su parte, el medio

KM presenta fuentes orgánicas de nutrientes como la asparagina, que puede utilizarse como fuente alternativa de carbono y nitrógeno (Kirsch et al., 2022). Se ha informado que *H. lacustris* exhibe actividad asparaginasa, convirtiendo la asparagina en amoníaco y ácido L-aspartico. El ácido L-aspartico resultante se convierte posteriormente en oxaloacetato, que ingresa al ciclo del ácido tricarbóxico (Mazumdar et al., 2019; De Moraes et al., 2025).

El cultivo de *H. pluvialis* en medio BBM y KM se inició con la iluminación LED roja (650 nm) evidenciándose un crecimiento celular exponencial desde el día 0 hasta el día 25 en los dos medios, lo que demuestra el gran aporte que tiene la luz roja en la fase verde, la cual, consiste en producir biomasa verde en condiciones óptimas de crecimiento, al hacer el cambio a luz LED azul (450 nm) se demuestra un descenso en el crecimiento celular en ambos medios, significativo en el medio KM.

Los resultados permiten analizar que la luz LED roja (650 nm) es un factor favorable para el crecimiento de la biomasa de *H. pluvialis*, como se observa en la Figura 3. En ambos medios de cultivo analizados, se evidenció un buen crecimiento bajo la iluminación roja, mientras que al hacer el cambio a la luz azul se produjo un descenso en la biomasa. Este comportamiento coincide con los hallazgos de Xi et al. (2016), quienes indicaron que la luz roja promueve la división celular y, por ende, el aumento de la densidad celular (Xi et al., 2016). Además, Pereira y Otero (2020) también reportaron que la luz azul, aunque puede inducir a la acumulación de astaxantina, no favorece el crecimiento celular, lo que sugiere que la transición a la luz azul puede generar condiciones de estrés que afectan negativamente la proliferación de las células. (Pereira & Otero, 2020)

En un estudio realizado por Zhang et al. (2018) se demostró que la deficiencia de nitrógeno inhibe el crecimiento celular, presentando una reducción de entre el 26% y el 37% en cultivos que no fueron privados de este nutriente. Así mismo, el fosfato, al producir la mayor densidad celular, la tasa de crecimiento aumenta hasta un 86% demostrando que este factor es el componente más influyente en la acumulación de astaxantina (Hazwani et al., 2021; Rodríguez y Camacho, 2024). Además, la relación entre nitrógeno y fósforo es crucial para la división celular, cuya relación en otros estudios se ha asociado con un crecimiento óptimo (Tocquin et al., 2012; Miranda et al., 2019; Gómez et al., 2019; Marinho et al., 2021; Busakorn et al., 2023). Esto además de otros factores que influyen conjuntamente, como la intensidad de la luz y el ambiente de CO₂ que se le brinde al medio.

Teniendo en cuenta lo anterior, la microalga *H. pluvialis* se empieza a enquistar por la condición de estrés del ambiente, lo que reduce la división celular e induce a la acumulación del pigmento. Los resultados muestran que una mezcla de LED rojos y azules en el medio BBM fue más efectiva para promover el crecimiento celular de esta microalga, con un valor de $2,88 \times 10^6$ células/ mL al día 65 (Figura 3). Este crecimiento se debe tanto a las condiciones de luz como a la adecuada disponibilidad de nutrientes en el medio. En el presente estudio se observaron células en la fase de zoosporas (vegetal verde) principalmente en condiciones fotoautotróficas, en los medios BBM. Por otro lado, las células inductoras de astaxantina (palmelas, células intermedias y aplanosporas) se observaron con mayor frecuencia en el medio KM, similar a lo reportado por Marinho et al. (2021). Estos hallazgos se correlacionan con investigaciones realizadas como la de Tran HL et al. (2015), quienes usaron iluminación con LED rojo-azul, un sistema de luz mixto,

obteniendo una gran mejoría en la biomasa de 3,28 g/L, reflejándose que este tipo de iluminación es la fuente de luz más efectiva para el crecimiento de la microalga.

El crecimiento de la microalga *H. pluvialis* bajo las condiciones trabajadas se ajustó al modelo logístico; en particular, se ha determinado que *H. pluvialis*, cultivada en medio BBM bajo las condiciones de crecimiento luz LED roja (650 nm) irradiancia 130.65 $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ (1700 luxes) y de estrés con alta irradiancia 924.42 $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ (8000 luxes) de luz LED azul (450 nm) y deficiencia de nutrientes, presentó una velocidad de crecimiento de 0,023/día, con un coeficiente de determinación (R^2) de 0,87, valor, cercano a 1, proporcionando una base sólida para entender su dinámica de crecimiento en respuesta a factores ambientales (Mazumdar et al., 2019; Ortiz-Moreno et al., 2020).

Durante el cultivo de la microalga *H. pluvialis* bajo las condiciones de crecimiento usando luz led roja (650 nm) y como condición de estrés el uso de luz led azul (450 nm) se observaron sus diferentes fases de crecimiento desde las formas vegetativas biflageladas de color verde hasta el aumento de tamaño y pérdida de flagelos y su enquistamiento formando aplanosporas. Este cambio morfológico se puede presentar por la expresión de los genes *bkt* y *chy*, que forman parte de la sección posterior de la vía biosintética de la astaxantina, ya que estudios demostraron que estos genes fueron significativamente regulados al alza por la irradiación LED azul en comparación con su expresión bajo irradiación blanca bajo control (Gao et al., 2014; Lee et al., 2018; Ma et al., 2018; Wei et al., 2022), relacionándolo con el cambio morfológico y la producción de astaxantina, lo que se refleja en la morfología enquistada roja de la microalga, al tener la exposición a condiciones de estrés los genes se regulan positivamente, inducen a la acumulación de la astaxantina en el quiste donde se puede evidenciar el color característico rojo (Gao et al., 2014; Lee et al., 2018; Ma et al., 2018; Hu et al., 2024; Jin et al., 2024).

La producción de astaxantina, fue significativamente mayor en el medio KM ($t=3,01$; $P=0.005$) bajo luz LED roja (650 nm), alcanzando una concentración máxima de 20,29 $\mu\text{g/mL}$ para el día 22. En contraste, en el medio BBM, la producción del carotenoide fue de 16,28 $\mu\text{g/mL}$ bajo iluminación combinada LED roja (650 nm) a una irradiancia de 130.65 $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$, (1700 luxes). El cambio a luz LED azul (450 nm) irradiancia de 924.42 $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ (8000 luxes) para el día 60, lo que refleja el gran aporte de las condiciones de estrés bajo luces LED roja-azul dando como producto una buena cantidad de astaxantina. Estos hallazgos son consistentes con los reportes de Gao et al. (2014), quienes también observaron que la iluminación con LED azul (450 nm) y rojo (650 nm) influye en la biosíntesis de astaxantina en *H. pluvialis*, sugiriendo que la luz roja favorece el crecimiento celular, mientras que la luz azul induce la acumulación del pigmento (Gao et al., 2014, Tran et al., 2015; Mazumdar et al., 2019).

En el estudio, el medio KM, que presenta asparagina una limitación de nutrientes orgánicas, genera un estrés que promueve la producción de astaxantina de manera más rápida, como se ha documentado en investigaciones previas que destacan la importancia del estrés nutricional en la inducción de la biosíntesis de carotenoides (Xi et al., 2016; Li et al., 2020). Se ha establecido que la asparagina exógena es un regulador del crecimiento que mejora la producción de pigmentos, la absorción de nitrógeno y el crecimiento vegetativo. Los hallazgos en otras investigaciones demostraron que los niveles de astaxantina en *H. lacustris* mejoraron

con la suplementación de aminoácidos (Rayamajhi et al., 2025), lo cual también pudo suceder en esta investigación usando medio KM.

Por otro lado, el medio BBM, que proporciona un entorno más favorable para el crecimiento celular, no induce el mismo nivel de estrés, lo que traduce en una menor acumulación de astaxantina en comparación con el medio KM. Estos hallazgos se alinean con los de Lee et al. (2018), quienes concluyeron que la manipulación de las condiciones de luz y nutrientes es crucial para maximizar la producción de astaxantina en la microalga. Esto también es consistente con otras investigaciones (Li et al., 2020; Scibilia et al., 2015; Gómez et al., 2019; Jin et al., 2024; Hu et al., 2024).

Con respecto a qué pudo afectar la producción de astaxantina en el medio BBM, es la cantidad de biomasa producida en este medio de cultivo causando la posible superposición de células que impiden la entrada de la luz led azul a todas las células de la microalga afectando el enquistamiento y la acumulación de este carotenoide. En los resultados podemos observar que la mayor producción de astaxantina para este medio se dio el día 60; sin embargo, para el día 65 (figura 8) se registró un descenso en la producción del pigmento, lo cual puede atribuirse a un aumento significativo en la biomasa (Figura 3). Este fenómeno se alinea con los hallazgos de Samhat et al. (2023), quienes indican que una alta concentración de células en cultivos de *H. pluvialis* puede generar condiciones de atenuación de luz que limitan la eficiencia fotosintética y, por ende, la acumulación de astaxantina. En su investigación, establece que un mínimo de $7000 \mu\text{mol hv kg}^{-1} \text{s}^{-1}$ de tasa media de absorción de fotones (MRPA) es necesario para que se desencadene esta producción del carotenoide, lo anterior sugiere que la optimización de la densidad celular es crucial para maximizar la producción de este. (Samhat et al., 2023).

También el estudio de Wang et al. (2013) destacó que la densidad inicial de biomasa (IBD) es factor determinante en la producción del carotenoide, señalando que una IBD óptima de 0.8 g/L resultó en la mayor productividad de astaxantina ($17.1 \text{ mgmg L}^{-1} \text{ day}^{-1}$), y llegando a la misma conclusión de que un IBD muy alto puede limitar la luz disponible para las células, y así reduciendo la producción del pigmento (Wang et al., 2013). Otros estudios también respaldan estos hallazgos (Li et al., 2020; Oslan et al., 2021). Por lo tanto, el tener un balance adecuado en cuanto a la biomasa también es crucial para la producción del pigmento.

Las condiciones de cultivo de la microalga *H. pluvialis* establecidas para la obtención de astaxantina son el uso de medio KM y luz LED roja (650 nm) usando una irradiancia de $130.65 \mu\text{mol/m}^2\text{s}$ (1700 luxes) en la etapa de crecimiento y para la etapa de estrés se usó una alta irradiancia de $924.42 \mu\text{mol/m}^2\text{s}$ (8000 luxes) y luz LED azul (450 nm) aumentando su producción en un 20% llegando a $20,29 \mu\text{g/mL}$ en el día 22. Los niveles de pH son fundamentales para la producción de una biomasa adecuada de la microalga para su enquistamiento, siendo importante mantener un pH cercano a la neutralidad (5.0 a 9.0), ya que si no puede conllevar a la disminución del crecimiento celular (Shah et al., 2016; Achaempong et al., 2024).

En general, el pH para los dos medios de cultivo bajo las condiciones trabajadas se encontró entre 7,6 y 8,7, valores que se encuentran dentro de lo recomendado para el cultivo de esta microalga, pH 5,0 a 9,0. (Benavente, J et al., 2012, Manrique M., 2019, Cuero k et al., 2019). En el cultivo realizado en el medio BBM el pH fluctuó de 7,5 a 8 y en el cultivo realizado en el medio KM fluctuó de 7.5 a

8.7, siendo este último significativamente diferente ($t= 2,80$; $P= 0.010$) y favoreciendo la producción de astaxantina, ya que bajo estas condiciones se obtuvo su mayor producción (20,29 $\mu\text{g/mL}$). El pH tiende a aumentar durante el cultivo de la microalga *H. pluvialis* dado por la acumulación de minerales y la oxidación de compuestos y por el proceso fotosintético de la microalga (Shah et al., 2016; Oslan et al., 2021, Achaempong et al., 2024).

CONCLUSIONES

Los parámetros evaluados de crecimiento, velocidad de crecimiento, ciclo de vida, biomasa, clorofila y astaxantina se vieron directamente influenciados por el medio de cultivo y las condiciones de crecimiento y estrés utilizado. Los resultados obtenidos sugieren que el medio BBM es más eficiente en la acumulación de biomasa con $2,8 \times 10^6$ células/mL y de clorofila con 0,46 $\mu\text{g/mL}$, mientras que el medio KM bajo las condiciones de crecimiento luz LED roja (650 nm) irradiancia 130.65 $\mu\text{mol/m}^2\text{s}$ (1700 luxes) y de estrés con alta irradiancia 924.42 $\mu\text{mol/m}^2\text{s}$ (8000 luxes) de luz LED azul (450 nm) favorece la síntesis de astaxantina 20,29 $\mu\text{g/mL}$ con una productividad de $1,27 \times 10^{-5}$ $\mu\text{g/Cel}$.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, especialmente al semillero de Investigación y grupo de investigación Bioprocesos y Control por brindarnos los espacios, insumos y herramientas para la ejecución de esta investigación.

REFERENCIAS

Achaempong, A., Li, L., Elsherbiny, S. M., Wu, Y., Swallah, M. S., Bondzie-Quaye, P., & Huang, Q. (2024). A crosswalk on the genetic and conventional strategies for enhancing astaxanthin production in *Haematococcus pluvialis*. *Critical Reviews in Biotechnology*, 44(6), 1018-1039. <https://doi.org/10.1080/07388551.2023.2240009>

American Public Health Association. (2005). *Standard methods for the examination of water and wastewater* (21st ed.). American Public Health Association.

Busakorn, W., Chan, S. S., Ling, T. C., Show, P. L., Ng, E. P., Woranart, J., et al. (2023). Advancement of carotenogenesis of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*: Recent insight and way forward. *Molecular Biotechnology*, 66(3), 402–423. <https://doi.org/10.1007/s12033-023-00768-1>

Camacho Kurmen, J. E., & Rodríguez Rodríguez, N. (2024). Producción de astaxantina en *Haematococcus pluvialis* bajo el efecto de la deficiencia de fosfatos y alta intensidad de luz. *Revista ION*, 37(2), 49–64. <https://doi.org/10.18273/revion.v37n2-2024004>

Casula, M., Fais, G., Manis, C., Scano, P., Concas, A., Cao, G., et al. (2024). The production of FAHFA is enhanced when *Haematococcus pluvialis* is grown in CO_2 . *Food Chemistry*, 449, 139165. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.139165>

Cheirsilp, B., Wantip, K., Chai-issarapap, N., Maneechote, W., Pekkoh, J., Duangjan, K., et al. (2022). Enhanced production of astaxanthin and co-bioproducts from microalga *Haematococcus* sp. integrated with valorization of industrial wastewater under two-stage LED light illumination strategy. *Environmental Technology & Innovation*, 28, 102620. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2022.102620>

Christian, D., Zhang, J., Sawdon, A. J., & Peng, C. A. (2018). Enhanced astaxanthin accumulation in *Haematococcus pluvialis* using high carbon dioxide concentration and light illumination. *Bioresource Technology*, 256, 548–551. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.02.074>

De Moraes, L. B. S., Mota, G. C. P., Molina-Miras, A., Sánchez-Mirón, A., Cerón-García, M. D. C., Olivera Gálvez, A., et al. (2025). Enhancing high-value metabolite production and asparaginase activity in *Haematococcus pluvialis*: impact of different organic carbon sources and feeding strategies. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 1-14. <https://doi.org/10.1007/s13399-025-06779-z>

Do, T. T., Quach-Van, T. E., Nguyen, T. C., Show, P. L., Nguyen, T. M. L., Huynh, D. H., et al. (2023). Effect of LED illumination cycle and carbon sources on biofilms of *Haematococcus pluvialis* in pilot-scale angLED twin-layer porous substrate photobioreactors. *Bioengineering*, 10(5), 596. <https://doi.org/10.3390/bioengineering10050596>

Do, T. T., Tran-Thi, B. H., Ong, B. N., Le, T. L., Nguyen, T. C., Quan, Q. D., et al. (2021). Effects of red and blue light emitting diodes on biomass and astaxanthin of *Haematococcus pluvialis* in pilot scale angLED twin-layer porous substrate photobioreactors. *Life Sciences | Biotechnology*, 2020(3–5). <https://doi.org/10.3390/biology8030068>

Gao, Z., Meng, C., Li, Y., Liu, L., Deng, S., Shen, Y., et al. (2014). Impact of blue light from LED on astaxanthin accumulation and transcription of key carotenogenetics in *Haematococcus pluvialis*. *Algal Research*, 8(5), 1–9.

Gómez, L., Orozco, M. I., Quiroga, C., Díaz, J. C., & Huérfano, J. (2019). Producción de astaxantina y expresión de genes en *Haematococcus pluvialis* (Chlorophyceae, Volvocales) bajo condiciones de estrés por deficiencia de nitrógeno y alta irradiancia. *Revista Mutis*, 9(2), 7–24. <https://doi.org/10.21789/22561498.1532>

Hazwani, N., Shoparwe, N., Yusoff, A. H., Rahim, A. A., Chang, C. S., Tan, J. S., et al. (2021). A review on *Haematococcus pluvialis* bioprocess optimization of green and red stage culture conditions for the production of natural astaxanthin. *Biomolecules*, 11(2), 256. <https://doi.org/10.3390/biom11020256>

He, B., et al. (2020). Ultrastructural changes of *Haematococcus pluvialis* (Chlorophyta) in process of astaxanthin accumulation and cell damage under condition of high light with acetate. *Algae*, 35(3), 253–262. <https://doi.org/10.4490/algae.2020.35.5.22>

Herrera, A. D. G., Martínez, I. M. G., & Kurmen, J. E. C. (2024). Revisión: efecto del factor estrés, color e intensidad de luz sobre la producción de astaxantina en *Haematococcus pluvialis*. *Revista Mutis*, 14(2), 1-33. <https://doi.org/10.21789/22561498.2108>

Hu, Q., Hu, Z., Yan, X., Lu, J., & Wang, C. (2024). Extracellular vesicles involved in growth regulation and metabolic modulation in *Haematococcus pluvialis*. *Biotechnology for Biofuels and Bioproducts*, 17(1), 24. <https://doi.org/10.1186/s13068-024-02462-z>

İmamoğlu, E. (2007). Effect of different culture media and light intensities on growth of *Haematococcus pluvialis*. *International Journal of Natural and Engineering Sciences*, 1(3), 5–9.

Jin, C., Zhou, Z., Zhu, Y., et al. (2024). Photosynthetic activity and astaxanthin production of *Haematococcus pluvialis* regulated by manipulated light quality. *Aquaculture International*, 32, 3617–3635. <https://doi.org/10.1007/s10499-023-01341-y>

Katsuda, T., Lababpur, S., Shimahara, K., & Katoh, S. (2004). Astaxanthin production by *Haematococcus pluvialis* under illumination with LEDs. *Biotechnology Advances*, 35(1), 107602. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107602>

Khoo, K. S., Lee, S. Y., Ooi, C. W., Fu, X., Miao, X., Ling, T. C., et al. (2019). Recent advances in biorefinery of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*. *Bioresource Technology*, 288, 121606. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121606>

Kirsch, B. J., Bennun, S. V., Mendez, A., Johnson, A. S., Wang, H., Qiu, H., Li, N., Lawrence, S. M., Bak, H., & Betenbaugh, M. J. (2022). Metabolic analysis of the asparagine and glutamine dynamics in an industrial Chinese hamster ovary fed-batch process. *Biotechnology and Bioengineering*, 119(3), 807–819. <https://doi.org/10.1002/bit.27993>

Kobayashi, M., Kakizono, T., & Nagai, S. (1993). Enhanced carotenoid biosynthesis by oxidative stress in acetate-induced cyst cells of a green unicellular alga, *Haematococcus pluvialis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 59(3), 867–873. <https://doi.org/10.1128/aem.59.3.867-873.1993>

Lee, J., Ahn, Y., Kim, J., Kim, Y., & Choi, Y. (2018). Comparative transcriptome analysis of *Haematococcus pluvialis* on astaxanthin biosynthesis in response to irradiation with red or blue light. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 34(96). <https://doi.org/10.1007/s11274-018-2459-y>

Li, F., Zhang, N., Zhang, Y., Lian, Q., Qin, C., Qian, Z., et al. (2021). NaCl promotes the efficient formation of *Haematococcus pluvialis* nonmotile cells under phosphorus deficiency. *Marine Drugs*, 19(6), 337. <https://doi.org/10.3390/md19060337>

Li, K., Ye, Q., Li, Q., Xia, R., Guo, W., & Cheng, J. (2020). Effects of the spatial and spectral distribution of red and blue light on *Haematococcus pluvialis* growth. *Algal Research*, 51, 102045. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.102045>

Li, X., Wang, X., Duan, S., Yi, S., Gao, Z., Xiao, C., et al. (2020). Biotechnological production of astaxanthin from the microalga *Haematococcus pluvialis*. *Biotechnology Advances*, 43, 107602. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107602>

Liyanaarachchi, V. C., Nishshanka, G. K. S. H., Premaratne, R. G. M. M., Ariyadasa, T. U., Nimarshana, P. H. V., & Malik, A. (2020). Astaxanthin accumulation in the green microalga *Haematococcus pluvialis*: Effect of initial phosphate concentration and stepwise/continuous light stress. *Biotechnology Reports*, 28, e00538. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00538>

Ma, R., Thomas-Hall, S. R., Chua, E. T., Eltanahy, E., Netzel, M. E., Netzel, G., et al. (2018). Blue light enhances astaxanthin biosynthesis metabolism and extraction efficiency in *Haematococcus pluvialis* by inducing haematocyst germination. *Algal Research*, 35, 215–222. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.08.023>

Marinho, Y. F., Malafaia, C. B., de Araújo, K. S., et al. (2021). Evaluation of the influence of different culture media on growth, life cycle, biochemical composition, and astaxanthin production in *Haematococcus pluvialis*. *Aquaculture International*, 29, 757–778. <https://doi.org/10.1007/s10499-021-00655-z>

Mazumdar, N., Novis, P., Visnovsky, G., & Gostomski, P. (2019). Effect of culturing parameters on the vegetative growth of *Haematococcus alpinus* (strain LCR-CC-261F) and modeling of its growth kinetics. *Journal of Phycology*, 55, 1071–1081. <https://doi.org/10.1111/jpy.12894>

Miranda, A., Ossa, E., Vargas, G., & Sáez, A. (2019). Efecto de las bajas concentraciones de nitratos y fosfatos sobre la acumulación de astaxantina en *Haematococcus pluvialis* UTEX 2505. *Información Tecnológica*, 30(1), 25–34. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642019000100023>

Mota, G. C. P., Moraes, L. B. S., Oliveira, C. Y. B., Oliveira, D. W. S., Abreu, J. L., Dantas, D. M. M., et al. (2022). Astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*: Processes, applications, and market. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 52(5), 598–609. <https://doi.org/10.1080/10826068.2021.1966802>

Mourya, M., Khan, M. J., Sirotiya, V., Ahirwar, A., Schoefs, B., Marchand, J., Varjani, S., & Vinayak, V. (2023). Enhancing the biochemical growth of *Haematococcus pluvialis* by mitigation of broad-spectrum light stress in wastewater cultures. *RSC Advances*, 13(26), 17611–17620. <https://doi.org/10.1039/d3ra01530k>

Mularczyk, M., Michalak, I., & Marycz, K. (2020). Astaxanthin and other nutrients from *Haematococcus pluvialis*—Multifunctional applications. *Marine Drugs*, 18(9), 459. <https://doi.org/10.3390/md18090459>

Nemani, N., Dehnavi, S. M., & Pazuki, G. (2024). Extraction and separation of astaxanthin with the help of pre-treatment of *Haematococcus pluvialis* microalgae biomass using aqueous two-phase systems based on deep eutectic solvents. *Scientific Reports*, 14, 5420. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-55630-4>

Ortiz-Moreno, M. L., Cárdenas-Poblador, J., Agredo, J., & Solarte-Murillo, L. V. (2020). Modeling the effects of light wavelength on the growth of *Nostoc ellipsosporum*. *Universitas Scientiarum*, 25(1), 113–148. <https://doi.org/10.11144/Javeriana.SC25-1.mteo>

Oslan, S. N. H., Shoparwe, N. F., Yusoff, A. H., Rahim, A. A., Chang, C. S., Tan, J. S., et al. (2021). A review on *Haematococcus pluvialis* bioprocess optimization of green and red stage culture conditions for the production of natural astaxanthin. *Biomolecules*, 11(2), 256. <https://doi.org/10.3390/biom110202>

Ota, S., Morita, A., Ohnuki, S., et al. (2018). Dinámica de carotenoides y gotas lipídicas que contienen astaxantina en respuesta a la luz en el alga verde *Haematococcus pluvialis*. *Scientific Reports*, 8, 5617. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23854-w>

Pang, N., Fu, X., Martinez, J. S., & Chen, S. (2019). Multilevel heuristic LED regime for stimulating lipid and bioproducts biosynthesis in *Haematococcus pluvialis* under mixotrophic conditions. *Bioresource Technology*, 288, 121525. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121525>

Pereira, S., & Otero, A. (2020). Haematococcus pluvialis bioprocess optimization: Effect of light quality, temperature and irradiance on growth, pigment content and photosynthetic activity. *Algal Research*, 51, 102027. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.102027>

Pham, K. T., Nguyen, T. C., Luong, T. H., Dang, P. H., Vu, D. C., Do, T. N., et al. (2018). Influence of inoculum size, CO₂ concentration and LEDs on the growth of green microalgae Haematococcus pluvialis Flotow. *Vietnam Journal of Science, Technology and Engineering*, 60(4), 59–65. [https://doi.org/10.31276/VJSTE.60\(4\).59-65](https://doi.org/10.31276/VJSTE.60(4).59-65)

Shah, M., Liang, Y., Cheng, J., & Daroch, M. (2016). Astaxanthin-producing green microalga Haematococcus pluvialis: From single cell to high-value commercial products. *Frontiers in Plant Science*, 7, 531. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00531>

Rayamajhi, V., Byeon, H., An, Y., Kim, T., Lee, J., Lee, J., ... & Jung, S. (2025). Enhanced production of astaxanthin, chlorophyll, and biomass in Haematococcus lacustris (Chlorophyta) using inorganic and organic carbon sources. *Phycologia*, 1-11. <https://doi.org/10.1080/00318884.2025.2577083>

Rao, A. R., Siew, M., Ravi, S., & Gokare, A. (2014). Astaxanthin: Sources, extraction, stability, biological activities and its commercial applications—A review. *Marine Drugs*, 12(1), 128–152. <https://doi.org/10.3390/md12010128>

Ren, Y., Deng, J., Huang, J., Wu, Z., Yi, L., Bi, Y., et al. (2021). Using green alga Haematococcus pluvialis for astaxanthin and lipid co-production: Advances and outlook. *Bioresource Technology*, 340, 125736. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125736>

Rodríguez-Amaya, D. B., Esquivel, P., & Meléndez-Martínez, A. J. (2023). Actualización integral sobre colorantes carotenoides provenientes de plantas y microalgas: Retos y avances desde los laboratorios de investigación hasta la industria. *Foods*, 12(22), 4080. <https://doi.org/10.3390/foods12224080>

Samhat, K., Kazbar, A., Takache, H., Ismail, A., & Pruvost, J. (2023). Influence of light absorption rate on the astaxanthin production by the microalga Haematococcus pluvialis during nitrogen starvation. *Bioresources and Bioprocessing*, 10(1), 70. <https://doi.org/10.1186/s40643-023-00700-0>

Santos, B., da Conceição, D. P., Corrêa, D. O., et al. (2022). Changes in gene expression and biochemical composition of Haematococcus pluvialis grown under different light colors. *Journal of Applied Phycology*, 34, 729–743. <https://doi.org/10.1007/s10811-022-02696-0>

Scibilia, L., Girolomoni, L., Berteotti, S., Alboresi, A., & Ballottari, M. (2015). Photosynthetic response to nitrogen starvation and high light in Haematococcus pluvialis. *Algal Research*, 12, 170–181. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.08.024>

Silva, D. L., de Moraes, L. B. S., Oliveira, C. Y. B., da Silva Campos, C. V. F., de Souza Bezerra, R., & Gálvez, A. O. (2022). Influence of culture medium on growth and protein production by Haematococcus pluvialis. *Acta Scientiarum. Technology*, 44, e59590. <https://doi.org/10.4025/actascitechnol.v44i1.59590>

Sun, H., Liu, B., Lu, X., Cheng, K. W., & Chen, F. (2017). Staged cultivation enhances biomass accumulation in the green growth phase of Haematococcus pluvialis. *Bioresource Technology*, 233, 326–331. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.03.011>

Tocquin, P., Fratamico, A., & Franck, F. (2012). Screening for a low-cost *Haematococcus pluvialis* medium reveals an unexpected impact of a low N/P ratio on vegetative growth. *Journal of Applied Phycology*, 24(3), 365–373. <https://doi.org/10.1007/s10811-011-9771-3>

Tran, H. L., Lee, K. H., & Hong, C. H. (2015). Efectos de la irradiación con LED en el crecimiento y la producción de astaxantina de *Haematococcus lacustris*. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 12(2), 1153–1159. <https://doi.org/10.13005/bbra/1778>

Wang, Q., Wang, H., Ning, Y., Luo, Q., Yang, X., Huang, Y., et al. (2021). Transcription factors from *Haematococcus pluvialis* involved in the regulation of astaxanthin biosynthesis under high light–sodium acetate stress. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 2021. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.650178>

Wang, J., Sommerfeld, M. R., Lu, C., & Hu, Q. (2013). Combined effect of initial biomass density and nitrogen concentration on growth and astaxanthin production of *Haematococcus pluvialis* (Chlorophyta) in outdoor cultivation. *Algae*, 28(2), 193–202. <https://doi.org/10.4490/algae.2013.28.2.193>

Wei, Z., Sun, F., Meng, C., Xing, W., Zhu, X., Wang, C., et al. (2022). Transcriptome analysis of the accumulation of astaxanthin in *Haematococcus pluvialis* treated with white and blue lights as well as salicylic acid. *BioMed Research International*, 2022, 4827595. <https://doi.org/10.1155/2022/4827595>

Xi, T., Kim, D. G., Roh, W., Choi, J. S., & Choi, Y. E. (2016). Enhancement of astaxanthin production using *Haematococcus pluvialis* with novel LED wavelength shift strategy. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100, 6231–6238. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7301-6>

Zhang, L., Su, F., Zhang, C., Gong, F., & Liu, J. (2016). Changes of photosynthetic behaviors and photoprotection during cell transformation and astaxanthin accumulation in *Haematococcus pluvialis* grown outdoors in tubular photobioreactors. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(1), 33. <https://doi.org/10.3390/ijms18010033>

Zhang, W., Zhou, X., Zhang, Y., Cheng, P., Ma, R., Cheng, W., et al. (2018). Enhancing astaxanthin accumulation in *Haematococcus pluvialis* by coupled light intensity and nitrogen starvation in column photobioreactors. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(12), 2019–2028. <https://doi.org/10.4014/jmb.1807.07008>

Zhao, Y., Yue, C., Geng, S., Ning, D., Ma, T., & Yu, X. (2019). Role of media composition in biomass and astaxanthin production of *Haematococcus pluvialis* under two-stage cultivation. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 42, 1–3. <https://doi.org/10.1007/s00449-018-02064-8>