

Revisión: efecto del factor estrés, color e intensidad de luz sobre la producción de astaxantina en *Haematococcus pluvialis*

Review: Effect of the Stress Factor, Color and Light Intensity on the Astaxanthin Production of *Haematococcus pluvialis*

Angie Daniela Gamboa Herrera ^{ab}, Ingrid Margarita Guerrero Martínez ^{ac}, Judith Elena Camacho Kurmen ^{ad}

^a Semillero de Investigación Bioprocesos y Control, Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Colombia

^b adgamboa@unicolmayor.edu.co | <https://orcid.org/0009-0004-4253-2950>

^c imguerrero@unicolmayor.edu.co | <https://orcid.org/0009-0006-5632-4161>

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

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

Recibido: 23 de agosto de 2023
Aceptado: 15 de marzo de 2024

Copyright: © 2024 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

Haematococcus pluvialis es una microalga de agua dulce, productora principalmente de astaxantina. Este carotenoide es usado como pigmento y compuesto bioactivo en diferentes industrias como la alimenticia, nutracéutica, farmacéutica, cosmética, acuicultura y textil. En este estudio se determinaron las variables relacionadas con la luz como las fuentes usadas, uso de fotobiorreactores, el fotoperiodo adecuado, el valor exacto de irradiancia y de color relacionándolos con la expresión de genes para la obtención de astaxantina en mayor cantidad. Este carotenoide presentó su mayor producción entre 81, 19 mg/L a 167,97 mg/L cuando se utilizaron lámparas fluorescentes blancas con irradiancias entre 150 y 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Con el uso de ledes de color rojo y azul con led blanca, usando irradiancias entre 135 y 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ se obtuvieron concentraciones de $82,82 \pm 3,29 \text{ mg/L}$ y de $151,8 \text{ mg/L}$, de astaxantina, respectivamente. El uso de led de color azul y blanco incrementó la expresión de los genes *psy* y *CrtO/bkt*, importantes en la acumulación de astaxantina. Esta investigación aporta a la factibilidad tecnológica del uso de ledes por las ventajas que presenta, la diversidad en tamaños desde el pequeño, ligero, duradero y eficiente en términos de mayor vida útil, además de que la cantidad de luz que se desprende es mucho mayor en comparación con su consumo de energía, como aporte a los avances tecnológicos y biotecnológicos en la producción de astaxantina para adaptarlos al uso de los fotobiorreactores y optimizar las condiciones de cultivo y producción de astaxantina en *H. pluvialis*.

Palabras clave: microalga; carotenoide; genes; estrés lumínico; ledes; ciencias naturales.

ABSTRACT

Haematococcus pluvialis is a freshwater microalgae that primarily produces astaxanthin. This carotenoid is used as a pigment and as a bioactive compound in different industries such as food, nutraceutical, pharmaceutical, cosmetics, aquaculture and textiles. In this study, the variables related to light – such as the sources used, the use of photobioreactors, the appropriate photoperiod, the exact value of irradiance and color – were determined and then related to the expression of genes for obtaining astaxanthin in greater quantities. This carotenoid presented its highest production

between 81.19 mg/L and 167.97 mg/L, when white fluorescent lamps with irradiances between 150 and 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ were used. With the use of red and blue LEDs with white LED, using irradiances between 135 and 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, astaxanthin concentrations of 82.82 ± 3.29 mg/L and 151.8mg/L were obtained, respectively. The use of blue and white LEDs increased the expression of the *psy* and *CrtO/bkt* genes, significant for accumulating astaxanthin. This research contributes to the technological feasibility of using LEDs due to the advantages they present, the diversity of their sizes (from small), their lightness, durability and efficiency in terms of longer useful life. Furthermore, the amount of light they give off is much greater compared to their energy consumption. Our contribution to technological and biotechnological advances related to the production of astaxanthin can be adapted to the use of photobioreactors, to optimize the cultivation conditions and production of astaxanthin in *H. pluvialis*.

Keywords: Microalgae; Carotenoid; Genes; Light stress; LEDs; Natural sciences.

INTRODUCCIÓN

Haematococcus pluvialis es una microalga de agua dulce descubierta en 1844 por J. Von Flotow, distribuida mundialmente en regiones templadas, presentando cambios morfológicos de células verdes biflageladas y activas a células rojas inmóviles, productora de diversos metabolitos como carotenoides, principalmente astaxantina (Camacho et al., 2013; Niño et al., 2017; Gómez et al., 2019; Le-Feuvre et al., 2020; Torres et al., 2022; Li et al., 2020). La astaxantina (3,3-dihidroxi- β , β -caroteno-caroteno-4,4'-diona) se clasifica como un pigmento cetocarotenoide rojo y tiene una actividad antioxidante superior en comparación con otros carotenoides, considerándose un compuesto bioactivo por ser usado para el tratamiento de varias enfermedades como neuroprotector, antiapoptótico, anticancerígeno, cardioprotector, inmunomodulador, antidiabético, hepatoprotector, entre otros (Lee et al., 2018; Huang, et al., 2021). Estas propiedades como pigmento y compuesto bioactivo hacen que se aplique en diferentes industrias como la farmacéutica, nutracéutica, cosmética, alimenticia, acuicultura, textil y avícola (Lee et al., 2018; Ma et al., 2018; Song, et al., 2021; Hernández et al., 2023).

Debido a la creciente demanda de la astaxantina, en especial la de origen natural, con un mercado esperado de US \$ 3.4 billones para 2027, principalmente a través del mercado de cápsulas, ingredientes para cosméticos, bebidas y alimentos funcionales, por sus beneficios y ventajas frente a la astaxantina sintética, ya esta no ha sido aprobada para el consumo humano directo en alimentos o suplementos, solo se puede utilizar como aditivo para la alimentación de peces con fines de pigmentación, debido a que se obtiene de petroquímicos y a la diferencia en la estructura molecular con relación al producto natural que incluye una mezcla de isómeros (3S,3'S), (3S,3R) y (3R,3'R) en una proporción de 1:2:1 (Lee et al., 2018; Ahirwar et al., 2021), por lo que se ha visto la necesidad de incrementar y optimizar la producción de este carotenoide a partir de fuentes naturales para suplir el aumento de su demanda global, siendo la microalga *H. pluvialis* la más eficiente frente a levaduras y plantas, ya que acumula el 6% de su peso seco, haciéndola una fuente ideal de bioastaxantina comercial (Le-Feuvre et al., 2020).

El ciclo de vida de esta microalga es complejo y se compone de dos etapas: verde-móvil y roja-inmóvil. Cuando las células verdes vegetativas móviles son sometidas a condiciones de estrés como alta intensidad de luz, color de luz blanco o rojo-azul, fuentes de luz, temperaturas altas, deficiencia de nutrientes como nitrógeno y fósforo, pH extremos, concentración salina alta, uso de hormonas, sustancias oxidativas, uso de biorreactores y fotobiorreactores, producen un cambio en la morfología celular a células rojas enquistadas no móviles conocidas como aplanosporas, que acumulan el carotenoide astaxantina (Ma et al., 2018; Le-Feuvre et al., 2020) (Figura 4).

Uno de los factores de estrés más importantes de regular la expresión de genes y producción de astaxantina en *H. pluvialis* es el lumínico, el cual provoca daño fotooxidativo, por lo que es necesaria la producción del carotenoide con la finalidad de garantizar la fotosíntesis durante el proceso y la supervivencia de la microalga. Las microalgas son organismos fotoautotróficos que convierten la energía de la luz en energía química, por lo tanto, la luz es un factor importante en el cultivo y la producción de metabolitos de interés en la industria de las microalgas. Durante el cultivo de las microalgas se han utilizado diferentes fuentes de luz como la luz solar, lámpara fluorescente, lámpara incandescente y los diodos emisores de luz (led). Las luces led son las fuentes de luz preferidas para los biorreactores y los fotobiorreactores debido a su variedad en colores blanco, azul y rojo con amplio espectro de estrecha banda. Asimismo, las ventajas de los ledes son la diversidad en tamaños desde el más pequeño, son ligeros, duraderos y eficientes con una vida útil prolongada; además, la cantidad de luz que desprenden es mayor que su consumo de energía, emitiendo menos calor con una alta eficiencia de radiación fotosintéticamente activa (ERA), y debido a su variabilidad en tamaños los ledes se pueden utilizar para construir fotobiorreactores o adaptarlos a ellos (Blanken et al., 2013; Ma et al., 2018).

El uso de estos tipos de luz, colores, longitudes de onda, fotoperiodos, irradiancia, uso de fotobiorreactores (FBR) y su combinación con otros factores de estrés, ha producido una variación en el proceso de obtención de astaxantina (Zhang et al., 2018; Gómez et al., 2019;). Es así como Lv Hexin et al. (2016), estudiaron el efecto de acumulación de astaxantina por la inducción de luz alta en un cultivo de *H. pluvialis*, utilizando medio BBM, irradiancia de 24 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, temperatura de 24 °C, CO₂ 5%, pH 7.5, fotoperiodo de 16 horas luz y 6 oscuridad, cantidad 3 litros, encontrándose una producción alta de astaxantina de 14.6 veces de acuerdo al inóculo inicial durante 28 días de experimentación. También Xi Tianqui et al. (2016), estudiaron el efecto de dos diferentes colores led para aumentar la producción de astaxantina utilizando medio OHM, irradiancia de 50 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, temperatura de 25 +/- 0,5°C, aire filtrado o estéril a un caudal de 100 mL/minuto, pH 7.5 – 8,0, fotoperiodo 20 horas oscuridad y 4 horas de luz, cantidad 10 litros, encontrándose una producción de biomasa de 3,5 x 10⁵ células/mL con led roja y 2,3 x 10⁵ células/ mL con led azul durante 16 días de experimentación.

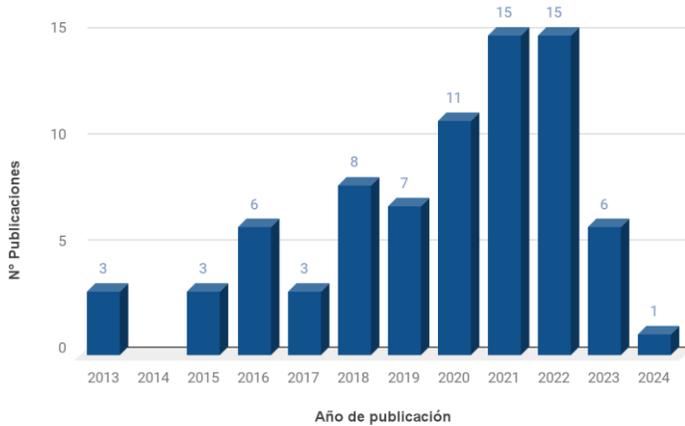
Gao et al. (2017), investigaron el modelo Tipo II basado en la distribución de luz, para determinar la necesidad de esta condición en el cultivo de *H. pluvialis* bajo la irradiancia con ledes rojos. Los resultados de la validación demostraron que el modelo puede predecir la intensidad de la luz para cultivos de *H. pluvialis* en estado verde.

Ma et. al. (2018) encontraron en su investigación que la biosíntesis de la astaxantina y sus ésteres monos y di-ésteres fue estimulada significativamente por debajo de 150 $\mu\text{mol}^{-2} \text{s}^{-1}$ de led blanco (150W) en comparación con las intensidades de luz más bajas, pero las cantidades más altas de astaxantina se produjeron por debajo de 70 $\mu\text{mol}^{-2} \text{s}^{-1}$ de led azul (B-70). Las transcripciones de los genes de biosíntesis de astaxantina *psy*, *crtO* y *bkt2* fueron reguladas por debajo de 150 W, mientras que *psy*, *lcy*, *crtO*, y *crtR-B* fueron reguladas por led azul. Christian et. al. (2018) encontraron que estresando las células con una combinación de luz alta y niveles elevados de dióxido de carbono (5 o 15%), el rendimiento de astaxantina es de 2 a 3 veces mayor que usando cualquiera de los dos factores de estrés solo, y esto sugiere que este método es óptimo para la inducción a la producción de este pigmento.

Pereira y Otero (2020), determinaron que el uso de luz roja monocromática a 20 °C fue óptimo para la producción de células verdes en *H. pluvialis*, mientras que la acumulación de astaxantina fue mayor con mezcla de luz roja y azul a 30 °C, alcanzando 25 mg/ L día. La irradiancia afectó el contenido de astaxantina, y se estableció que el uso de led para ajustar la composición de la luz ha demostrado ser una herramienta poderosa para mejorar la producción de metabolitos. Es así como Borowiak et al. (2021) utilizaron un fotobiorreactor airlift con iluminación led roja, azul y blanca y CO₂ en el cultivo de *H. pluvialis*, encontrando que, manteniendo un mecanismo de estrés mediado por la luz y el CO₂, produce hasta un 3,2% de astaxantina natural en términos de biomasa seca. Zhao et al. (2022) demostraron en un cultivo de *H. pluvialis* que el uso de luz azul sola o con luz roja, promovió la división celular, mientras que la luz roja pura o la luz blanca permitieron aumentar el tamaño de las células, el pigmento celular, el contenido de almidón y lípidos, y la producción de biomasa. Cheirsilp et al. (2022) establecieron que la iluminación con luz led en dos etapas que involucra led rojo (600–700 nm) durante 5 días y luego led azul (400–500 nm) durante los siguientes 5 días, con una intensidad de luz continua de 40 $\mu\text{mol} \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, presentó el mejor rendimiento en *Haematococcus* sp. con la mayor producción de astaxantina, de 2,55 mg / L, que fue de 1,22 a 2,07 veces mayor que la del cultivo en una etapa. Considerando lo anterior, esta revisión tiene como objetivo determinar las variables relacionadas con el cultivo de la microalga sobre la luz, sus fuentes, el fotoperiodo utilizado, el valor exacto de irradiancia y de color en la luz como el led relacionándolos con la expresión de genes para la obtención de astaxantina en mayor cantidad en la microalga *H. pluvialis*.

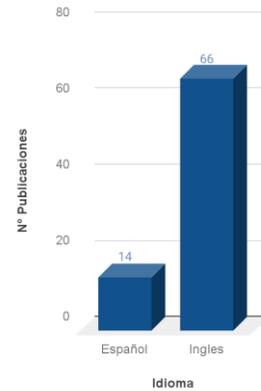
Los datos fueron analizados usando Microsoft Office Excel 2019® con diferentes variables por analizar, incluyendo año de publicación, idioma, temas de estudio y enfoque del estudio. Finalmente, se acudió a estadística descriptiva para analizar los resultados. Los indicadores bibliométricos analizados y utilizados fueron citación, idioma de la publicación, contenido y metodología (figuras 1, 2 y 3).

Figura 1. Relación de publicaciones revisadas por año de publicación.



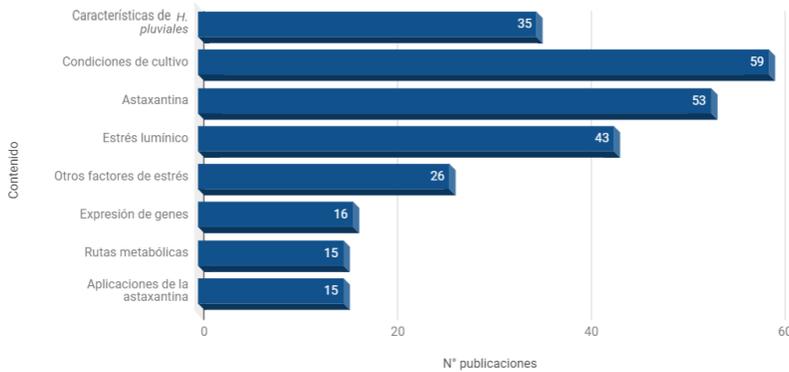
Fuente: elaboración propia.

Figura 2. Idioma de las publicaciones revisadas.



Fuente: elaboración propia.

Figura 3. Contenido y metodología.



Fuente: elaboración propia.

Respecto al indicador de colaboración, en los 50 artículos revisados, 211 autores fueron relacionados. Para el caso del indicador de citación, el artículo que presenta la mayor citación es el de Shah et al. (2016) con un valor de 729. Se encontró en los artículos revisados que solo un 10% no presentaban todavía citación.

HAEMATOCOCCUS PLUVIALIS

Haematococcus pluvialis es un alga verde unicelular fotosintética de agua dulce (Gómez et al., 2019), de amplia distribución mundial, perteneciente a la clase *Chlorophyceae*, orden *Volvocales* y familia *Haematococcaceae*; es de fácil adaptación, ya que se ha podido encontrar en condiciones extremas de luz, temperatura y altas concentraciones de sal, cuya resistencia se le atribuye a su capacidad de enquistarse de

forma rápida (Shah et al., 2016). Además, se considera de los principales microorganismos productores de astaxantina.

H. pluvialis mide aproximadamente 22 a 34 μm en su etapa quística, aunque el tamaño celular de los distintos tipos de *H. pluvialis* varía en un rango de 8 a 50 μm (Li et al., 2019), en su interior contiene gránulos de almidón en el citoplasma, micro compartimentos subcelulares de pirenoides y astaxantina depositados en glóbulos de aceite extra plastidiales, y este espacio está cubierto por una membrana lipídica que tiene un grosor de masomenos 5 nm. En su parte exterior está cubierta por una pared celular de aplanospora con un grosor de 2-3 μm , compuesta por una pared exterior primaria, secundaria y terciaria, consideradas fuertes y rígidas, ya que actúan como una barrera a distintas tensiones físicas y químicas externas y le proporcionan una alta resistencia contra distintas condiciones ambientales extremas. (Gherabli et al., 2023).

El cultivo de esta microalga se inicia desde la célula móvil o fase verde, la cual marca el inicio de su ciclo de vida y consta de cuatro estadios morfológicos: el macrozoóide se caracteriza por tener una estructura compuesta por una matriz extracelular gelatinosa de tamaño variable, cloroplastos con una gran cantidad de pirenoides y numerosas vacuolas. El *H. pluvialis* puede presentarse en forma elipsoidal, esférica o piriforme, y posee dos flagelos en su parte anterior. Los cuatro estadios morfológicos son: A) Célula verde vegetativa móvil; B) Célula pálmela vegetativa verde; C) Célula pálmela con acumulación de carotenoides extraplastídicos e incremento de tamaño en transición a aplanospora; y D) Célula aplanospora con aumento de tamaño con quistes-rojos (Shah et al., 2016). Se identificaron tres fases para obtener una visión de los cambios metabólicos que tienen lugar durante este proceso. La primera fase consiste en eventos mitóticos repetidos, en los que la célula comienza a expandirse (fase I, 0-12 h). A continuación, la célula inicia la citocinesis para formar las zoosporas dentro de la célula madre inmóvil y se prepara para su liberación (fase II, 12-17 h). Después de 17 h de inducción, la pared celular de la célula madre no móvil se rompe y se liberan las nuevas células móviles (fase III, 17-22 h) (Li et al., 2022).

Figura 4. *Haematococcus pluvialis*.



Fuente: Hernández y Otálora (2022).

En general el ciclo de vida de la microalga *H. pluvialis*, se divide en dos etapas: en su primera etapa es una célula biflagelada y móvil de color verde, con un rápido crecimiento celular, pero una acumulación lenta de biomasa; luego pasa a la segunda etapa, perdiendo sus dos flagelos volviéndose una célula de quiste inmóvil o inactiva

de color rojo, de mayor tamaño y pared rígida con un crecimiento celular mucho más lento y una mayor acumulación de astaxantina (Zhao et al., 2022) (Figura 4), como respuesta a factores de estrés como cambios de la temperatura, alta intensidad de luz, fotoperiodos, deficiencia de nutrientes, fósforo y nitrógeno, salinidad y cambios de pH para proteger a la microalga, ya que al ser una especie fotosintética es capaz de convertir la energía luminosa en energía biológica (Shah et al., 2016; Wei et al., 2022).

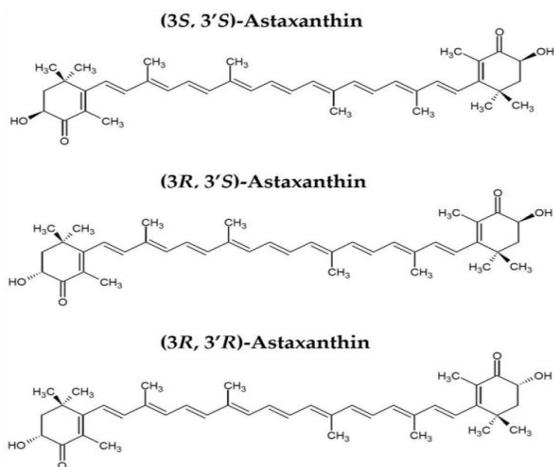
ASTAXANTINA

La astaxantina es un carotenoide sintetizado de forma natural por levaduras, bacterias, microalgas y, en una cantidad más baja, por las plantas (Hu, Song, et al., 2021), también la podemos encontrar en algunos animales como crustáceos, peces y aves, debido a que consumen a los productores primarios, pero son incapaces de sintetizarla por sí mismos (Huang et al., 2019).

El mayor mercado para la astaxantina es como fuente de pigmentación en la acuicultura, principalmente en salmón y trucha (Li et al., 2022). La astaxantina se vende aproximadamente en US\$ 2500/Kg, con el mercado mundial de acuicultura estimado en alrededor de US\$ 200 millones. Aunque el 95% de este mercado consume el derivado sintético de astaxantina, la demanda de consumo para productos naturales hace que los pigmentos sintéticos sean menos deseables y proveen una oportunidad para la producción de astaxantina natural por *Haematococcus* sp. (Richmond y Hu, 2013).

La molécula de astaxantina tiene dos carbonos asimétricos localizados en las posiciones 3 y 3' sobre los dos anillos bencénicos al final de la molécula (He et al., 2018). Los diferentes enantiómeros de la molécula son resultantes de la unión de los grupos hidroxilo a los átomos de carbono, que son centros de asimetría (ver figura 5).

Figura 5. Fórmula estructural de astaxantina.



Fuente: Li et al. (2020).

La astaxantina tiene tres estereoisómeros: 3S,3'S, 3R, 3'S, o 3R,3'R. La astaxantina sintetizada y la forma extraída de la microalga *H. pluvialis* pueden diferenciarse por los estereoisómeros. La astaxantina sintética consiste en una mezcla de isómeros (3R,3'R), (3R,3'S) y (3S,3'S) presentándose en un radio de 1:2:1 (Jannel et al., 2020), mientras la astaxantina natural, es usualmente esterificada y predominante en la configuración (3S,3'S), presentándose como los 3S,3'S estereoisómeros y primariamente como monoésteres (>90%), con diésteres incluyendo el 8% y como molécula libre alrededor del 1% (Richmond y Hu, 2013). La astaxantina otorga el color rojizo naranja a la microalga, estas pertenecen a la familia de las xantofilas, que son derivados oxigenados de los carotenoides. La estructura molecular de esta contiene trece dobles enlaces conjugados que le confieren propiedades antioxidantes, ya que puede neutralizar radicales libres y eliminar especies reactivas de oxígeno. Este carotenoide se puede encontrar de manera libre, sensible a la oxidación, conjugada con proteínas o lipoproteínas, o esterificada en los grupos hidroxilo con uno o dos ácidos grasos, en cuya última forma la hidrofobicidad aumenta y, por lo tanto, la solubilidad en glóbulos hechos de triacilgliceroles (Huang et al., 2019); es por esto que es importante establecer el método de extracción adecuado del carotenoide.

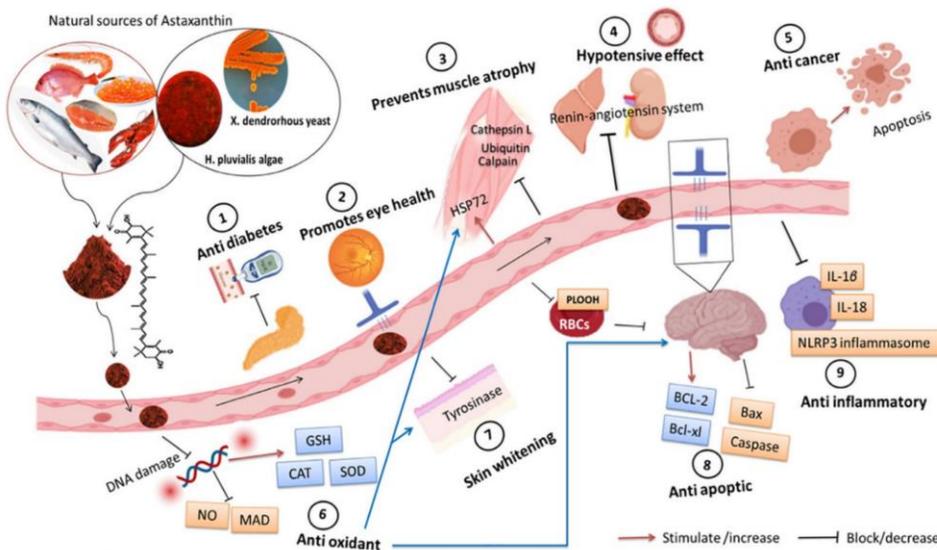
Para conservar las características ecoamigables de este carotenoide se han utilizado diferentes métodos de extracción, como el de interrupción celular, el cual puede utilizar diferentes técnicas físicas, químicas y biológicas. Estos sirven como pretratamiento para romper las paredes celulares de la célula (Jannel et al., 2020). Los tratamientos físicos incluyen métodos mecánicos y térmicos que se aplican principalmente para la ruptura celular y la separación de los biocompuestos y astaxantina. Los métodos mecánicos tradicionales usan molienda de perlas, trituración, homogeneización a alta presión y prensado hidráulico y de tornillo. Estos, por lo general, no son selectivos, no tóxicos y adecuados para producción a gran escala y con aplicación en diferentes industrias, como es el caso de la acuicultura. La disrupción celular mecánica necesita de un alto aporte de energía, mientras que los tratamientos térmicos usan el calentamiento conductivo, radiofrecuencia, autoclave o aplicación de congelación-descongelación (Gherabli et al., 2023).

Los tratamientos químicos usados para la extracción de astaxantina a partir de la microalga *H. pluvialis* usan ácidos, detergentes, sales, surfactantes, nanopartículas, polímeros, solventes, líquidos iónicos y tratamientos de choque oxidativo y osmótico. Por su parte, los tratamientos biológicos usan enzimas, virus y bacterias alguicidas. Estos tratamientos para extraer el carotenoide se pueden aplicar de manera individual aunque, para mejorar la disrupción y aumentar la selectividad, se pueden combinar diferentes técnicas (Koopmann et al., 2022). Para la obtención del carotenoide también se requiere una parte de extracción en donde se usa agua subcrítica, fluidos supercríticos, solventes y aceites, aunque el método que se considera más eficiente para la extracción de astaxantina a partir de la microalga *H. pluvialis* es el uso de dióxido de carbono supercrítico (S-CO₂), el cual es ampliamente utilizado en aplicaciones industriales seguido de la purificación aplicando métodos como la electroforesis, filtración por ultra o electro membrana, ultracentrifugación y flotación multifásica líquida (Gherabli et al., 2023).

PRODUCCIÓN Y MERCADO

La astaxantina, al ser un pigmento y compuesto bioactivo, es utilizada en diferentes industrias como la alimentaria, la cosmética debido a sus propiedades antioxidantes y como pigmento, en la acuicultura como colorante y aditivo alimentario para salmónidos, camarones, y otros crustáceos de cría; además, se ha visto un efecto favorable en cuanto a crecimiento, reproducción y pigmentación de invertebrados ornamentales (Bas et al., 2021). En la industria farmacéutica y nutracéutica se ha utilizado debido a las propiedades antioxidantes para tratamiento de varias enfermedades como inmunomodulador (figura 6) y se usa también en la industria textil como pigmento (Ma et al., 2018; Jannel et al., 2020) (figura 6).

Figura 6. Diferentes efectos de la Astaxantina.



Fuente: Raza et al. (2021).

La producción industrial de astaxantina natural se realiza principalmente en Norteamérica, Asia y Europa, a partir de microorganismos como *H. pluvialis* destacándose Norteamérica como el mayor productor, según el Análisis global de la industria de la astaxantina para 2027 (figura 7). El aumento en la demanda del mercado de este carotenoide es debido a la preferencia de los consumidores por productos saludables. Para el año 2028, el mercado de la astaxantina natural alcanzará los 4 750 millones de dólares, experimentando una tasa de crecimiento anual del 7.6% durante el período comprendido entre 2022 y 2028 (Mussagy et al., 2023). Además, se ha observado un notable aumento de astaxantina en la producción en países desarrollados, llegando a incrementarse hasta un 40% entre 2011 y 2016 con un estimado de producción de astaxantina para el 2024 de 190 toneladas métricas. En lo que respecta a los costos, la astaxantina natural puede llegar a un precio hasta 7 veces mayor que la sintética (Tamaño del Mercado de Astaxantina, Tendencia, Análisis de la Demanda hasta 2032, s.f.).

En América Latina, se encuentran empresas productoras de biomasas, de microalga y de productos biotecnológicos derivados. Las especies más cultivadas son *Spirulina sp*, *Chlorella sp*, *Dunaliella sp* y *Haematococcus sp*. Los países productores en Latinoamérica incluyen a Chile, México, Ecuador, Cuba, Colombia, Brasil, líder en la región y Perú (*Meticulous Research, 2023; Markets & Markets, 2021; Factiva. 2021*). En Perú se encuentra una empresa llamada Andexs Biotechnology, que produce suplementos alimenticios de astaxantina en cápsula y polvo a partir de *H. pluvialis* (Angulo & Mérida, 2017). En las universidades de estos países se han llevado a cabo estudios para producir metabolitos de interés biotecnológico como los carotenoides y lípidos y aprovechar las aguas residuales de las industrias cárnicas en el cultivo de microalgas, lo que permite ahorrar costos de producción en regiones como la nuestra. En Colombia se destacan la Universidad de Antioquia, Universidad de la Sabana, Universidad Nacional, Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Universidad Jorge Tadeo Lozano, Universidad EAFIT y centros de investigación dedicados al cultivo de las microalgas y a la investigación de la obtención de productos de interés biotecnológico a partir de estos microorganismos (Lancheros et al., 2021; Gómez et al., 2019; Miranda et al., 2019). En Colombia en el mercado se observa una alta demanda de carotenoides, lo que ha resultado en la importación de 150 toneladas al año de astaxantina desde Estados Unidos, Francia, Guatemala, Honduras, México y Panamá, por lo que se llevó a cabo un estudio para evaluar la viabilidad de la producción en cinco ciudades del país: Barranquilla, Cartagena, Santa Marta, Barrancabermeja y Cúcuta, y se determinó que Santa Marta sería la ciudad más adecuada, con un valor actual neto (VAN) de 5.970.986 US, un período de recuperación de la inversión (PP) de 1.9 años y una tasa interna de retorno (TIR) del 50% para la astaxantina, mediante un sistema híbrido utilizando un panel de luz plano y un estanque abierto FBR, con un precio de venta de 1659,87 US/Kg en concentración al 5% (Morales-Carvajal et al., 2018).

Figura 7. Segmentation of the global astaxanthin market by source, product, application and geographic region.



Fuente: Mussagy et al. (2023).

CONDICIONES DE ESTRÉS EN CULTIVO DE *H. PLUVIALIS*

Los cultivos de microalgas están expuestos a una variedad de condiciones de estrés como cambios en los ciclos luz/oscuridad, variación en luz, temperatura, pH, factores nutricionales en calidad y cantidad (nitrógeno, fósforo, hierro), turbulencia, salinidad y fuentes de carbono (dióxido de carbono). Es importante, además, tener en cuenta los efectos sinérgicos de la combinación de factores químicos y físicos sobre la composición celular (Shah et al., 2016). Se han utilizado fuentes de carbono para el cultivo mixotrófico o heterótrofo, como el acetato de sodio que sirve como condición de estrés porque aumenta la frecuencia respiratoria y suprime la actividad fotosintética en las células; además, proporciona energía para la biosíntesis de astaxantina y ácidos grasos (Song, et al., 2021). A continuación, se presentan las principales condiciones de estrés y sus fundamentos:

Luz

La intensidad lumínica es una de las principales condiciones a considerar en un cultivo. En ausencia de limitación por nutrientes, la fotosíntesis se incrementa con el aumento de la intensidad lumínica, hasta alcanzar la máxima tasa de crecimiento específica para cada especie en el punto de saturación por luz, alcanzando la fotoinhibición, con resultados perjudiciales para la misma célula e incluso la muerte, implicando pérdida de eficiencia fotosintética y productividad del cultivo (Shah et al, 2016).

Los cultivos con mayor densidad celular (> 3 g L⁻¹) son capaces de utilizar la luz incidente con mayor eficiencia en comparación con cultivos convencionales diluidos. En el uso de fotobiorreactores (FBR) el autosombreado se presenta debido a que las células más cercanas a la superficie dan sombra a las capas inferiores, con células más alejadas de la superficie. Es por esto que un sistema de agitación eficiente en FBR permitirá un acceso periódico de todas las células a la luz, favoreciendo el crecimiento y la producción de astaxantina, ya que la intensidad lumínica decrece con el aumento de la turbidez. En sistemas de estanques donde las microalgas presentan altas tasas de crecimiento, el uso de mecanismo de paletas para agitar el cultivo provee una eficiente mezcla vertical permitiendo una exposición intermitente de las células a la luz. Los efectos de la luz en la composición bioquímica de la microalga fotosintética son controlados por un proceso llamado fotoaclimatación o fotoadaptación. En este proceso las células sufren cambios dinámicos en su composición con alteraciones en las propiedades ultraestructurales, biofísicas y fisiológicas para aumentar la fotosíntesis y crecimiento de la microalga. Una respuesta común a la disminución en la intensidad de luz es el incremento de la clorofila a y otros pigmentos antena tales como clorofila b, clorofila c, ficobiliproteínas y carotenoides primarios (Ricmond y Hu, 2013). La irradiancia óptima para la acumulación de astaxantina se sitúa entre 1 500 y 2 000 $\mu\text{moles de fotones/m}^2 \text{ s}$ (Jannel et al., 2020).

En respuesta a la alta intensidad de luz la clorofila a y otros pigmentos involucrados en la fotosíntesis disminuyen, mientras los carotenoides secundarios (zeaxantina, β -caroteno, astaxantina) se incrementan, los cuales sirven como agentes fotoprotectores. Estos carotenoides a menudo se acumulan en estructuras especiales tales como plastoglóbulos de plástidos o cuerpos lipídicos citoplasmáticos,

desempeñando roles en prevenir el exceso de la energía lumínica del alcance de la maquinaria fotosintética.

Las microalgas requieren luz como fuente de energía para convertir el CO₂ y el agua en carbohidratos y O₂ en el proceso de fotosíntesis. Tres variables importantes de luz para una fotosíntesis adecuada son la intensidad, la calidad espectral y el fotoperíodo. La baja intensidad de la luz causa la fotodentelación y una mayor intensidad de la luz causa la fotoinhibición. La fotosíntesis tuvo lugar bajo PAR (radiación fotosintéticamente activa) que consiste en fotones entre 400 y 700 nm de longitud de onda y representa el 43% de la radiación solar. En función de la PAR, las algas pueden absorber diferentes longitudes de onda de luz en función de los tipos de pigmentos que exhiben. Las algas verdes contienen clorofila-a y clorofila-b en la proporción 3:1. La clorofila-a tiene dos picos de absorción; es decir, uno a 430 nm (luz azul/violeta) y otro a 660 nm (luz roja profunda). La clorofila-b tiene un pico de absorción a 460 nm (luz azul) y el otro a 630 nm (luz roja). Dependiendo de los pigmentos presentes en las algas, se debe elegir la luz de la longitud de onda correcta. Aunque el fotoperíodo varía de un organismo a otro, 12-15 h de iluminación se considera como el período óptimo (Shah et al., 2016).

Fotoperíodo

Las condiciones de luz afectan directamente el crecimiento y la fotosíntesis de microalgas (duración e intensidad). Las microalgas necesitan un régimen de luz/oscuridad para llevar a cabo la fotosíntesis, necesitan la luz para la fase fotoquímica para producir Adenosín Trifosfato (ATP) y nicotinamida adenina dinucleótido fosfato oxidasa (NADPH), mientras que en la oscuridad se necesita para llevar a cabo la fase bioquímica donde se sintetizan moléculas esenciales para el crecimiento (Shah et al., 2016).

Temperatura

Una óptima temperatura para el crecimiento de la microalga es cuando la célula tiene el mínimo tamaño celular y el mínimo contenido celular de carbono y nitrógeno, mientras en una temperatura baja o alta del nivel óptimo quizás se incrementa el volumen celular y el contenido bioquímico, lo cual quiere decir que se necesita más carbono y nutrientes para producir una célula a la misma tasa de crecimiento a una temperatura no óptima. La temperatura óptima de crecimiento de la microalga *H. pluvialis* está entre 15 a 35 °C (Richmond y Hu, 2013; Shah et al., 2016; Jannel et al., 2020).

CO₂

Una fuente de carbono es necesaria para obtener biomasa de alta productividad y astaxantina. La introducción de CO₂ o fuentes orgánicas de carbono, como el acetato, altera el equilibrio C/N, creando una deficiencia relativa de nitrógeno que estimula la acumulación de astaxantina y la formación de quistes (Christian et al., 2018). En cultivos fotoautótrofos, la adición de CO₂ a un nivel comprendido entre el 1,5% y el 5% en el aire tiene un efecto beneficioso sobre el crecimiento vegetativo (Jannel et al., 2020).

FACTORES NUTRICIONALES

Nitrógeno

El nitrógeno se encuentra generalmente en alrededor del 7 a 10% de la célula por peso seco y es un constituyente esencial de todas las proteínas, tanto funcionales como estructurales en las células del alga. En general, la microalga tiene una limitada habilidad para producir materiales almacenados de nitrógeno cuando crece bajo condiciones suficientes de nitrógeno. Cuando la microalga está creciendo bajo condiciones limitadas de nitrógeno, el efecto más notable es la degradación específica y activa de ficobilisomas (Ricmond y Hu, 2013; Shah et al., 2016; Jannel et al., 2020).

Fósforo

El fósforo es otro macronutriente que juega un importante rol en el proceso metabólico celular por la formación de algunos componentes estructurales y funcionales requeridos para el crecimiento normal y desarrollo de la microalga. Los ortofosfatos son incorporados como componentes orgánicos a través de la fosforilación. El fosfato inorgánico se presenta en las células en forma de polifosfatos, acumulándose en gránulos de polifosfato, que a menudo aparecen en crecimiento celular normal bajo suficiente fosfato, pero desaparecen en deficiencia de fosfato (Ricmond y Hu, 2013; Shah et al., 2016; Jannel et al., 2020).

Hierro

El hierro desempeña un rol importante en la composición bioquímica celular por sus propiedades redox y su implicación en procesos fundamentales como la fotosíntesis, respiración, fijación de nitrógeno y síntesis de ADN. La deficiencia de hierro puede inducir varios cambios bioquímicos (Ricmond y Hu, 2013; Jannel et al., 2020).

Salinidad

Algunas microalgas son capaces de acumular pequeñas moléculas de sustancias osmorreguladoras (osmotocantes) como respuesta a un incremento en la salinidad o presión osmótica del ambiente. Las cantidades de osmotocantes encontrados en las microalgas son polioles, de los cuales los más comunes son glicerol, manitol, galactitol, sorbitol, sucrosa, trehalosa y glicerol galactosidasa (Ricmond y Hu, 2013; Jannel et al., 2020).

A continuación, se presenta el efecto de las condiciones de estrés color e intensidad de luz relacionadas con la producción de astaxantina en *H. pluvialis*.

Tabla 1. Condiciones de estrés color e intensidad de luz relacionadas con la producción de astaxantina en *H. pluvialis*.

Estudio	Condiciones de cultivo		Tipo de luz	Factores de estrés adicionales incluidos en el estudio	Intensidad de luz	Peso seco	Recuperación de Astaxantina	Astaxantina en peso seco
	T°	MC						
Li, et al. (2022)	T°	25 ± 1 °C	Fluorescente blanca (380 – 760 nm)	Variaciones de nitrógeno	150 µmol m ⁻² s ⁻¹	1,11 ± 0,05 g L	3,04 ± 0,04 mg L	0,27 % DW
	MC	3N-BBM líquido						
Hu, et al. (2021)	T°	22 °C	Fluorescente blanca (380 – 760 nm)	Ácido salicílico combinado con estrés por acetato de sodio	20 µmol·m ⁻² ·s ⁻¹	0,24 ± 0,02 g L	1,16 ± 0,01 mg L	0,48 % DW
	MC	Bold Basal Medium						
Hu, et al. (2021)	T°	22 °C	Fluorescente blanca (380 – 760 nm)	Ácido salicílico	350 µmol m ⁻² s ⁻¹	0,15 ± 0,01 g L	0,89 ± 0,12 mg L	0,59 % DW
	MC	Bold Basal Medium						
Zhang, et al. (2018)	T°	25 °C	Fluorescente blanca (380 – 760 nm)	Privación de nitrógeno	400 µmol m ⁻² s ⁻¹	3,43 ± 0,06 g L	81,19 ± 3,26 mg L	2,37% DW
	MC	BG11						
Lee, et al. (2022)	T°	23 °C	Fluorescente blanca (380 – 760 nm)	Deficiencia de nitrógeno, rayos UV	200 µmol m ⁻² s ⁻¹	-	55,12 ± 4,12 mg g	-
	MC	NIES-C						
Butler, et al. (2018)	T°	3N-BBM+V	Fluorescente blanca (380 – 760 nm)	Medio de cultivo sin nitrato	240 µmol m ⁻² s ⁻¹	0,47 g/L	12,88 mg L	2,74 % DW
	MC	15 °C						
Liyanaarachchi, et al. (2020)	T°	30 ± 2 °C	Fluorescente blanca (380 – 760 nm)	Limitación de fosfato	5000 lux	0,47 ± 0,01 g L	19,0 ± 0.3 mg L	4,04 % DW
	MC	BBM						
Feng li, et al.(2019)	T°	25 ± 1 °C	Luces led rojas (620–630 nm), verdes (520–530 nm) y azules (465–475 nm)	Burbujeo continuo con 1,5% (v/v) de CO ₂	150 µmol m ⁻² s ⁻¹	2,13 g L	82,82 ± 3,29 mg L	3,89 % DW
	MC	BBM						
Feng li, et al.(2019)	T°	25 ± 1°C	Fluorescente blanca (380 – 760 nm)	Deficiencia de fosfato	80 µmol m ⁻² s ⁻¹	-	48,42 ± 3,13 mg L	-
	MC	BBM						
Wang, et al.(2020)	T°	25 °C	Fluorescente blanca (380 – 760 nm)	3-metiladenina (inhibe la formación de autofagosoma)	700 µmol m ⁻² s ⁻¹	0,226 mg mL	1,38 mg L	0,612 %DW
	MC	BG11						
Christian, et al. (2018)	T°	25 °C	Fluorescente blanca (380 – 760 nm)	Exposición a CO ₂	300 µmol m ⁻² s ⁻¹	878±62 mg L	36.23±5.48 mg g	-
	MC	MES-Volvox						
Pang, et al. (2019)	T°	25 °C	Luz led blanca-azul (450 nm)	Gluconato de sodio	135 µmol m ⁻² s ⁻¹	4,6 g/L	151.8 mg L	3,3 %DW
	MC	BG-11						
Lancheros, et al. (2021)	T°	20±2°C	Fluorescente blanca (380 – 760 nm)	Acetato de sodio y cloruro de sodio	70 µmol m ⁻² s ⁻¹	-	7,3 µg ml	-
	MC	RM						
Pereira, et al. (2020)	T°	30 °C	Luz led roja (670 nm) y azul mixta	Privación de nitrato, iluminación continua y suministro de carbón	150 µmol m ⁻² s ⁻¹	2,5 g L	50 mg g	2 % DW
	MC	OHM						

			(450 nm)					
Huang et al., (2019)	T°	25 ± 1 °C	Fluorescente blanca (380 – 760 nm)	Deficiencia de nitrógeno	400 μmol m ⁻² s ⁻¹	10,18 g L ⁻¹	167,97 mg L	1,65 % DW
	MC	mBBM						
Gómez et al., (2019)	T°	25 ± 1 °C	Fluorescente blanca (380 – 760 nm)	Deficiencia de nitrógeno 4%, CO ₂ 5%	140 μmol m ⁻² s ⁻¹ 80 μmol m ⁻² s ⁻¹	-	3,52x10 ⁻⁶ μg /cel. x mL	-
	MC	RM						
Lv Hexin et al., (2016)	T°	24 °C	Fluorescente blanca (380 – 760 nm)	CO ₂ 5%, pH 7.5, fotoperiodo 16 horas luz: 6 oscuridad, cantidad 3 litros	80 μmol m ⁻² s ⁻¹	-	12 ± 0.2 mg/g	-
	MC	BBM						
Xi Tianqui et al., (2016)	T°	25 ± 0,5 °C	Luz led roja (670 nm) y luz led azul (450 nm)	Aire filtrado o estéril a un caudal de 100 mL/minuto, pH 7.5 – 8,0, fotoperiodo 20 horas oscuridad y 4 horas de luz, cantidad 10 litros.	50 μmol m ⁻² s ⁻¹	Producción de biomasa de 2,3 x 10 ⁵ células/mL con led azul durante 16 días	led rojo: 10.5 ± 0.5 mg/L led azul: 16.4 ± 0.5 mg/L	-
	MC	OHM						
Ma et. al., (2018)	T°	25 °C	Luz led azul (440 nm)	Aireación constante con aire filtrado (0,22 μm) y mezclado suave con 1 mM de NaH CO ₃ como fuente de carbono.	50 μmol m ⁻² s ⁻¹	-	37.24 mg g ⁻¹	-
	MC	BBM2						
Borowiak et al., (2021)	T°	22 °C	Luz led roja (670 nm) y luz led azul (450 nm), Luz led blanca (380 – 760 nm)	Fotobiorreactor con iluminación led roja, azul y blanca y CO ₂	180 μmol m ⁻² s ⁻¹	-	-	3.2% DW
	MC	N-BBM						
Cheirsilp et al., (2022)	T°	30 °C	luz led rojo (600–700 nm), luz led azul (400–500 nm)	aireación con 0,02 (vvm) durante 7 días. Fotoperiodo de luz de 16:8 h	40 μmol m ⁻² s ⁻¹	-	2,55 mg / L	-
	MC	Modified Chu 13 medium						

T°: Temperatura MC: Medio de cultivo, %DW: Porcentaje de peso seco.

Fuente: elaboración propia.

En la tabla 1 se observan las condiciones de estrés como color e intensidad de luz relacionadas con la producción de astaxantina en *H. pluvialis* destacándose el uso de medio basal de Bold (BBM), la deficiencia de concentraciones de fosfato, nitrógeno y el uso de vitaminas. La temperatura entre 22 y 30 °C fue utilizada en los cultivos de la microalga, observándose que en temperaturas de 25 °C combinadas con luces led rojas, verdes y azules y luz led blanca azul y gluconato de sodio se obtuvo una mayor producción de astaxantina con valores de 82,82 ± 3,29 mg/ L (Feng li, et al.,2019) y 151,8mg/L, respectivamente (Pang et al.,2019) y el uso de lámparas fluorescentes blancas combinadas con deficiencia de nitrógeno en medio BBM produjo 167,97 mg/L, de astaxantina (Huang et al., 2019). Los resultados muestran que una mezcla de ledes rojos y azules fue más efectiva para promover el crecimiento celular de esta microalga, con un valor de 9,6 x 10⁵ Cel./mL (Nilanjana et al. 2019) y que la luz roja es mejor para aumentar la biomasa, mientras que la luz led azul ayuda a aumentar la acumulación de astaxantina en *Haematococcus* (Ahirwar et al. 2021). La mezcla de ledes rojos y azules

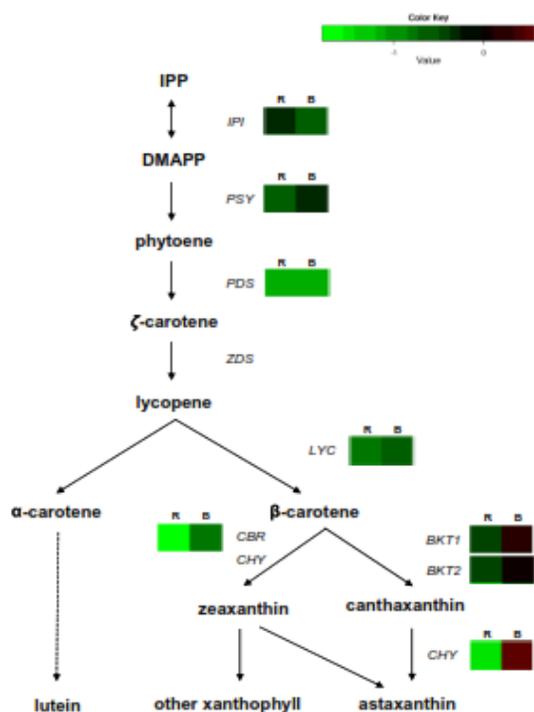
produce 34,44 mg/L de astaxantina. Tran et al. (2015) y Gómez et al. 2019 establecieron en Medio RM con deficiencia de nitrógeno al 4% fotoperíodo de 20:4 y 140 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}$ de irradiancia usando luz blanca fluorescente obteniendo 7.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de astaxantina.

Las intensidades de luz recomendadas oscilaron entre 40 y 90 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. No obstante, tal como se mencionó previamente y verificando en las investigaciones, el uso de irradiancias de luz muy altas permitió una mayor concentración de astaxantina en peso seco. (He et al., 2018). También se observa que la eficiencia fotosintética aumenta al proporcionar selectiva y simultáneamente luz roja (670 nm) y azul (450 nm), lo que proporciona los rangos de longitud de onda necesarios para la fotosíntesis. Por lo tanto, las tasas de producción de biomasa y astaxantina son más altas que solo para la luz roja, solo la luz azul o la luz fluorescente (Tran et al. 2015). Se observa también en la tabla 1 que las irradiancias entre 150 y 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ son las utilizadas en las investigaciones donde se obtuvo la mayor obtención de astaxantina, usando lámparas fluorescentes blancas (Zhang, et al.,2018; Huang, et al., 2019) con obtención entre 81, 19 mg/L a 167,97 mg/L de astaxantina. Cuando se utilizaron irradiancias entre 135 y 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ usando luces led roja y azul con led blanca se obtuvieron valores de $82,82 \pm 3,29 \text{ mg/L}$ (Feng li, et al.,2019) y de 151,8mg/L, de astaxantina (Pang et al.,2019), respectivamente. Estos resultados sugieren seguir usando luces led combinando colores rojo y azul con blanco para incrementar la producción de astaxantina en cultivos de *H. pluvialis*, bajo las irradiancias establecidas, por las ventajas que presenta las luces led frente al el uso de lámparas fluorescentes blancas.

Biosíntesis de la astaxantina

La síntesis de astaxantina está relacionada con el depósito de reservas celulares en gotas de lípidos en condiciones de estrés celular. La astaxantina se sintetiza por la ruta de los carotenoides a partir del gliceraldehído-3-fosfato y el piruvato, que son derivados de la fotosíntesis y/o la glucólisis dependiendo de las condiciones de cultivo (Tapiero et al., 2024). Estos dos derivados entran a la vía del no mevalonato (MEP) para generar un pirofosfato de isopentenilo (IPP) que es un intermediario importante en la síntesis de los carotenoides, el cual se puede originar por la vía del mevalonato (MVA) que se realiza en el citosol o la vía MEP realizada en el cloroplasto (Shah et al., 2016; Ahirwar et al. 2021). En el paso siguiente, el IPP se isomeriza a difosfato de dimetilalilo.

Figura 8. Expresiones génicas de biosíntesis de carotenoides de *H. pluvialis* en longitudes de onda blanca, roja y azul. PDS: fitoeno desaturasa; BKT: β -caroteno cetolasa; CBR: proteína relacionada con la biosíntesis de caroteno; CHY: hidroxilasa carotenoides; IPP: pirofosfato de isopentenilo; LCY: licopeneno β ciclasa; PSY : fitoeno sintasa; IPI: isopentenil pirofosfato isomerasa.



Fuente: Lee et al. (2018).

El aumento de la cadena isoprenoide se inicia con una molécula de dimetilalildifosfato (DMAPP) y una posterior adición lineal de tres moléculas de Isopentenilpirofosfato (IPP), catalizadas por una enzima geranylgeranyl pirofosfato sintasa (GGPS). En la biosíntesis de carotenoides, el primer paso es la condensación del geranyl-geranyl difosfato (GGPP) a fitoeno, modificado por la enzima fitoeno sintasa (PSY), como se observa en la figura 8. (Lee et al., 2018)

La expresión del gen fitoenosintasa (*psy*) se aumenta en *Haematococcus* estresadas con luz alta, produciendo cambio de las células de estado “verde” a “rojo” (Hu et al., 2023; Wei et al., 2022). Siguiendo la formación de un compuesto altamente insaturado por cuatro pasos de desaturación catalizada por dos fitoendesaturasa (PDS) y una z-caroteno desaturasa (ZDS) con dos plastidoterminaloxidasas (PTOX1, PTOX2). De estas dos enzimas, PTO1 se encuentra relacionado con la síntesis de astaxantina en *H.pluvialis*. (Shah et al., 2016).

Ambas terminales de licopeno se someten a ciclización catalizado por licopeno ciclasas (LCY-e y LCY-b). En *H.pluvialis* un nivel alto de transcritos de LCY-b han sido observadas bajo condiciones de estrés. Al final los dos pasos de oxigenación catalizado por β -carotenoketolasa (BKT) y b-carotenohidroxilasa (CrtR- b) son limitantes de la velocidad de síntesis rápida de astaxantina (Vidhyavathi et al.,2008;

Shah et al., 2016). Aunque la principal reacción catalizada por estas enzimas procede en orden hacia la alta especificidad del sustrato de bkt, hacia β -caroteno que a zeaxantina favoreciendo la adición del grupo ceto antes de la selectividad de hidroxilación de cantaxantina a astaxantina cataliza por CrtR-b (Shah et al., 2016, Ahirwar et al. 2021).

CORRELACIÓN DEL FACTOR DE ESTRÉS LUMÍNICO CON LA EXPRESIÓN DE GENES

Numerosos tipos de lámparas están disponibles comercialmente como tubos fluorescentes, lámparas de descarga de alta intensidad (HID) y diodos emisores de luz led. Idealmente, las fuentes de luz exhiben una amplia eficiencia de enchufe de pared (WPE) y costos de inversión mínimos. El WPE es la relación entre el flujo radiante en vatios y la potencia de entrada eléctrica en vatios. Según la relación de Planck, la luz azul produce menos fotones por vatio en comparación con la luz roja. Las microalgas pueden emplear a todos los fotones en el rango PAR y con una longitud de onda entre 400 y 700 nm, independientemente del contenido de energía del fotón (Shah et al., 2016). El parámetro de eficiencia PAR se introduce con unidades en fotones PAR de mmol por segundo por vatio de energía ($\text{mol-ph s}^{-1}\text{W}^{-1}$).

Tres tipos de lámparas se identifican como las fuentes de luz más prometedoras para el cultivo de microalgas: el primer tipo son los tubos fluorescentes, exhibe una eficiencia PAR de 1,25 $\text{é mol-ph s}^{-1}\text{W}^{-1}$ y se emplean principalmente en laboratorios y cámaras de crecimiento de plantas. El segundo tipo es el HID, del que la lámpara de sodio de alta presión con una eficiencia PAR de 1,87 $\text{é mol-ph s}^{-1}\text{W}^{-1}$ es la más comúnmente empleada en la horticultura. El tercer tipo es el led, y los disponibles comercialmente presentan una eficiencia PAR de 1,91 $\text{é mol-ph s}^{-1}\text{W}^{-1}$ (Blanken et al., 2013).

La investigación en led se centra en producir una mayor potencia en combinación con un WPE alto. Por ejemplo, la eficiencia actual del PAR de los ledes azules y rojos de alta potencia es de 2,0 y 2,6 $\text{é mol-ph s}^{-1}\text{W}^{-1}$. Sin embargo, se prevé que la eficiencia PAR de los sistemas comerciales de iluminación led de alta potencia eventualmente aumentará a 3 $\text{é mol-ph s}^{-1}\text{W}^{-1}$ en los próximos años (Pang et al., 2019). Las microalgas pueden absorber diferentes longitudes de onda de luz en función de los tipos de pigmentos que exhiben. Las algas verdes contienen clorofila-a y clorofila-b en la proporción de 3:1. Clorofila-a tiene dos picos de absorción; es decir, uno a 430 nm (luz azul/violeta) y otro a 660 nm (luz roja profunda). Clorofila-b tiene un pico de absorción a 460 nm de luz azul y el otro a 630 nm de luz roja. Dependiendo de los pigmentos presentados por las algas, se debe elegir la luz de la longitud de onda correcta. Aunque el fotoperíodo varía de un organismo a otro, 12-15 h de iluminación se considera como el período óptimo (Pattanaik et al., 2018).

Se ha observado que la luz, su irradiancia, su fuente y su color influye en la expresión de genes en la ruta de biosíntesis de la astaxantina incrementando la expresión de genes y, por lo tanto, la producción de astaxantina cuando se aumenta la irradiancia, ya sea sola o combinándolo con otros factores de estrés como deficiencia de nutrientes como nitrógeno (Gómez et al., 2019) y fosfatos (Miranda et al., 2019) (tabla 2).

Tabla 2. Correlación entre condición de estrés lumínico y expresión de genes para obtención de astaxantina en *H. pluvialis*.

Factores de estrés	Genes expresados	Cambios en genes y subproductos	Efecto en la acumulación de astaxantina	Referencia
Etanol	<i>psy, bkt, crtR-B</i>	Regula positivamente los genes para inducir una mejor producción de astaxantina.	Los resultados mostraron que, con la exposición a estos factores de estrés durante 2 y 7 días, el contenido de astaxantina aumentó de forma significativa en comparación con el grupo control, en el que el factor de luz azul combinado con SA obtuvo el mayor contenido de astaxantina, mientras que la sola luz azul generó la menor producción del carotenoide.	Wei et al. (2022)
Luz led azul ciclo de luz/oscuridad de 12:12 h	<i>psy, lyc, crtO y bkt2</i>	Estos genes se regulan positivamente en un ambiente con luz azul.		
Luz led blanca (380 – 760 nm) ciclo de luz/oscuridad de 12:12 h a 22 °C	<i>psy, crtO y bkt2</i>	Estos genes se regulan positivamente en un ambiente con luz blanca.		
Luz led azul (450 nm) con Ácido salicílico ciclo de luz/oscuridad de 12:12 h a 22 °C	<i>bkt</i>	Su expresión aumenta, lo que favorece la producción de astaxantina.		
Luz led azul (450 nm) con ácido salicílico ciclo de luz/ oscuridad de 12:12 h a 22 °C	<i>bkt, crtTz, lyc y psy</i>	No produce una sobreexpresión significativa de los genes, pero tiende a mostrar mejores resultados en producción de astaxantina al ser una fuente importante de carbono.		
	gen G6PD	Genera una sobreexpresión del gen lo que promueve la síntesis del betacaroteno.		
Luz led azul (450 nm) y luz blanca ciclo de luz/oscuridad de 12:12 h a 22 °C	<i>bkt y crtTz</i>	Su expresión disminuye.		
Luz led blanca(380 – 760 nm) ciclo de luz/oscuridad de 12:12 h	<i>psy</i>	La expresión del gen aumenta más en la última etapa de tratamiento.		
Luz led azul (450 nm) con Ácido salicílico ciclo de luz/oscuridad de 12:12 h a 22 °C	Genes relacionados con la resistencia celular	Aparece una reorganización del proceso apoptótico, y el ácido salicílico se considera un importante agente que favorece la resistencia de las células frente a enfermedades infecciosas.	En cuanto a producción de astaxantina, se obtuvieron mejores resultados cuando se empleó la luz blanca, ya que la luz azul regulaba los genes a la baja, aunque se vieron mejoras con respecto a la intensidad, puesto que con una intensidad de luz azul baja se regulan positivamente los genes involucrados en la síntesis de astaxantina. Por otro lado, con la adición de ácido salicílico se vio aumentado el contenido de astaxantina debido a que esta complementa el efecto antioxidante de los productos de degradación y mantiene la homeostasis en la célula de <i>H. pluvialis</i> .	Wang et al. (2021)
	IPI	Inicialmente muestra una sobreexpresión, la cual cae con el tiempo.		
	<i>fabD y mABa</i>	Se regulan negativamente con la adición de ácido salicílico, pero con el aumento del tiempo de exposición la mABa se sobreexpresa; sin embargo, no se observan cambios significativos en las proteínas generadas por los genes.		
	<i>ho</i>	El gen codifica la hemo oxigenasa que degrada el hemo, cuando se somete a estrés con ácido salicílico este gen disminuye.		

	cat, gr, mdar, prdx y sod	Con la adición de ácido salicílico la expresión de estos genes disminuye significativamente. En general los genes eliminadores de ROS se regulan a la baja a nivel transcripcional posterior al tratamiento con AS.		
Luz led azul (450 nm) ciclo de luz/oscuridad de 12:12 h a 22 °C.	iSPD y iSPE	En la exposición a luz azul disminuye su expresión, lo que afecta la vía a vía del metil-d-eritritol 4-fosfato (MEP).		
	IPI	Su expresión aumenta a medida que aumenta el tiempo de exposición.		
	fpps, pds, psy y CRTR-b	Genes responsables de la codificación de betacaroteno hidroxilasa. Estos genes, a diferencia del IPI, disminuyeron posterior a la exposición con luz azul.		
	Bkt	No mostró modificación en cuanto a expresión, pero con el aumento del tiempo de exposición su expresión disminuye, lo que afecta la codificación de la β-caroteno ketolasa.		
	acc1, fabF, fabI, fabZ y fasn	Estos genes se regularon a la baja, lo que complica la síntesis de ácidos grasos		
	Ha	Cuando se somete a irradiación con este factor de estrés se observa un alza en el gen.		
	sod, mdar, grx, gr, mgrx, cat y gpx	Los niveles de expresión de estos genes fueron aumentados significativamente a comparación de cuando son tratados con luz blanca.		
	Genes que codificaban los DashCrys, los CRY, y PHOT	Genes implicados con los receptores de luz azul del alga, su expresión disminuye con el tiempo de exposición.		
	fabD y mABa	Se regulan positivamente. Estos genes también participan en la síntesis de ácidos grasos.		
Luz led blanca (380 nm)	apx	La expresión de este gen fue notablemente mayor en comparación con la luz azul, con la cual disminuye.		
	Genes que codificaban los DashCrys, los CRY, y PHOT	Su expresión presenta una mejoría notable en comparación con la exposición a la luz azul y la luz azul combinada con ácido salicílico, donde no se aprecian cambios significativos.		
Acetato de sodio, NaAC	FASN, ACC y FabD	El alza de estos genes favorece la asimilación de carbono y la división celular, mejora la frecuencia respiratoria de la	El contenido de carotenoides de una sola célula más alto fue 11,82 ± 0,44 pg/cel., siendo notablemente más alto que en el grupo control,	Hu, Song, et al. (2021)

		misma, y aumenta la producción de astaxantina y ácidos grasos; sin embargo, las concentraciones muy altas del mismo dañan las células.	cuyos valores iban de $0,77 \pm 0,04$ mg/L, en cuanto a la concentración de astaxantina, esta fue más alta con el tratamiento del SAHS en comparación al grupo control, con una superioridad del 50,65%.	
SAHS	IPI1 e IPI2	En la primera hora tiende a sobreexpresarse, pero luego disminuye. Estos genes participan en la biosíntesis de caroteno génicos.		
	<i>pds, psy, lcy, crto, crtr-b y bkt</i>	Al favorecer su expresión también favorece la biosíntesis continua de carotenoides y astaxantina.		
	<i>bc, mctk y sad</i>	Genera su sobreexpresión lo que aumenta la biosíntesis de Ácidos grasos.		
Ácido salicílico y luz fluorescente blanca (alta intensidad) (380 – 760 nm)	Genes DEG	En el tratamiento con este factor de estrés se observa una mayor acumulación de astaxantina, ya que influye positivamente en genes implicados en la síntesis y acumulación de la misma, también en genes relacionados con las síntesis de ácidos grasos, crecimiento y muerte celular, genes implicados en el metabolismo químico, fotosíntesis y fijación de carbono.	Se mostró una elevación en la producción del carotenoide de $59,60 \pm 15,61\%$ en comparación con la etapa de control, concentración que seguía aumentando junto con la extensión del tiempo de tratamiento.	Hu, Huang, et al. (2021)
Intensidad de luz (fotón de $25\text{--}30 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$) luz led blanca con un ciclo de luz/oscuridad de 12:12 h a 24 °C. y citrato trisódico	Expresión de los genes <i>crz</i> (beta-caroteno 3-hidroxilasa; 1.5-fold), <i>LUT5</i> (beta-ring hidroxilasa, 6.0-fold), <i>CrtW</i> (beta-caroteno/zeaxantina 4-ketolasa, 1.5-fold)	Aumento significativo en la expresión de muchos genes implicados en el ciclo de TCA, metabolismo de la glucosa, biosíntesis de astaxantina 85.43 pg./cel. y metabolismo de los ácidos grasos.	Se obtuvo $\pm 85.43 \text{ pg./cel.}$ de astaxantina empleando estas condiciones de estrés.	Du et al. (2021)
Deficiencia de nitrógeno al 4% y luz fluorescente blanca (380 – 760 nm) irradiancia $150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ciclo de luz/oscuridad de 16:8 h a 25 °C.	Genes <i>psy, pds, lcy, bkt y chy</i>	En el tratamiento con este factor de estrés se observa una mayor acumulación de astaxantina ya que influye positivamente en los genes implicados en la síntesis y acumulación de la misma.	una concentración de astaxantina inicial de $1,60 \times 10^{-7} \mu\text{g/cel. x mL}$ y aumentó hasta $1,33 \times 10^{-6} \mu\text{g/ cel. x mL}$, obteniendo un incremento del 88%, en comparación con el medio donde se utilizó nitrógeno al 4,0%. Se obtuvo una mejor producción de astaxantina que alcanzaba el 62% con una concentración de $3,52 \times 10^{-6} \mu\text{g/ cel. x mL}$, y el medio que tenía una concentración de nitrógeno del 5,0% tuvo un comportamiento similar al medio con una concentración del 4,0%; sin embargo, los resultados no mostraron la misma eficiencia, puesto que mostró una concentración final de $2,08 \times 10^{-6} \mu\text{g/ cel. x mL}$, aunque fue mayor que la acumulación final del grupo control.	Gómez et al. (2019)

70 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de led azul (B-70). ciclo de luz/oscuridad de 16:8 h a 25 °C.	Expresión de genes <i>psy</i> , <i>lcy</i> , <i>crtO</i> y <i>crtR-B</i>	Regula al alza la expresión de estos genes, por lo que aumenta las cantidades de astaxantina. Los genes regulados positivamente pueden proporcionar herramientas útiles para futura ingeniería metabólica para aumentar significativamente la astaxantina libre, sus ésteres y grasas precursores de ácido en <i>H. pluvialis</i> .	De los resultados de la medición de astaxantina, se puede observar que B-70 y W-150 aumentaron el total de astaxantina en un tiempo medido de 15 días, obteniendo inicialmente 1,24 mg g ⁻¹ en el día 0, teniendo un aumento de al menos el 50% por día.	Ma et al. (2018)
Acetato de sodio, hierro	Genes implicados en el ciclo de Calvin	Favorece la fijación del carbono.	La producción de astaxantina se puede ver mejorada en cuanto a la exposición con Fe al estar relacionado directamente con la fotosíntesis y la biosíntesis de astaxantina y al pasar un tiempo de 12 horas con luz y 12 horas en oscuridad a 22 °C; además, promueve el estrés oxidativo promoviendo la acumulación del carotenoide, y el acetato mostró relación directa con genes implicados en la biosíntesis de astaxantina.	He et al. (2018)
Etanol	<i>psy</i> , <i>bkt</i> y <i>crtR - B</i>	Favorece de forma significativa la producción y acumulación de astaxantina y regula positivamente estos genes que participan en la síntesis de la astaxantina.		
Led azul 50 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$	Expresión de genes <i>bkt</i> y <i>chy</i>	Regula positivamente la expresión de estos genes que mejoran la canalización del B-caroteno.	La longitud de onda azul resultó en la regulación positiva de genes que median la generación mejorada de ROS y la biosíntesis de astaxantina.	Lee et al. (2018)

DEG: genes expresados diferencialmente; NaAC: Acetato de sodio, ácido salicílico combinado con estrés por acetato de sodio (SAHS); SA: Ácido salicílico; NaAC: acetato de sodio; ROS: Especies Reactivas del Oxígeno; TCA: Ciclo del ácido tricarbóxico.
Fuente: elaboración propia.

Se ha observado que los genes involucrados en la ruta de biosíntesis de carotenoides en *H. pluvialis*, como *bkt*, *psy* y *pds*, pueden regularse positivamente en respuesta a factores de estrés como el lumínico utilizando diferentes fuentes de luz, color y alta irradiancia. Además, se ha encontrado una correlación entre la expresión de genes como *psy*, *pds*, *zds* y *crtR-b* y la acumulación excesiva de astaxantina. Es así como un aumento en la irradiación de luz ha aumentado la expresión génica relacionada con la biosíntesis de carotenoides. (Huang, et al., 2021). Se ha observado que la luz blanca emitida por lámparas fluorescente con irradiancia alta de 140 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}$ usando Medio RM con deficiencia de nitrógeno al 4% fotoperiodo de 20h luz:4 h. La oscuridad aumentó la expresión de genes *psy*, *pds*, *bkt* y *chy* obteniendo 7.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de astaxantina (Gómez et al. 2019). Con respecto al uso de luces led se observa que la luz led azul (450 nm) aumenta la expresión del gen *bkt* (beta-caroteno hidroxilasa) y *chy* obteniendo hasta 85, 43 $\mu\text{g}/\text{cel}$ de astaxantina (Shah et al. 2016; He et. al. 2018; Lee et al. 2018). En el estudio de Ma et al. (2018) se establecieron que las transcripciones de los genes de biosíntesis de astaxantina *psy*, *crtO* y *bkt2* fueron reguladas en 150 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ usando led azul (450 nm), obteniendo 37.24 mg g^{-1} de astaxantina, mientras que *psy*, *lcy*, *crtO*, y *crtR-B* fueron reguladas por 70 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ usando led azul (B-70).

La expresión de los genes *bkt* y *chy*, que forman parte final de la vía biosintética de la astaxantina, fueron significativamente regulados al alza por la

irradiación led azul (Shah et al. 2016; He et. al. 2018; Lee et al. 2018), relacionándolo con el cambio morfológico y la producción de astaxantina. La eficiencia fotosintética aumenta al proporcionar selectiva y simultáneamente luz roja y azul, lo que proporciona los rangos de longitud de onda necesarios para la fotosíntesis. Por lo tanto, las tasas de producción de biomasa y astaxantina son más altas que solo para la luz roja, la luz azul o la luz fluorescente (Tran et al. 2015). La luz led azul monocromática por sí sola modula la transcripción de muchos más genes (2245 genes) que la luz roja monocromática, incluida la regulación positiva de los genes *bkt* y *crtr-b* bajo la luz led azul, mientras que están regulados a la baja con luz roja (Lee et al., 2018; Ahirwar et al. 2021). En general, se encontró que la luz led azul (450 nm) induce la acumulación de bioastaxantina porque aumenta la expresión de genes *psy*, *crtO* y *bkt2*, que se encuentran al inicio y final de la ruta de biosíntesis obteniendo valores de 37, 24 mg/g y si se mezcla de ledes rojos y azules se produce 34,44 mg/L de astaxantina (Tran et al. 2015), por lo cual el uso de luces led azul favorece la expresión de genes y la acumulación de astaxantina, presentando ventajas frente al uso de lámparas blancas fluorescentes, como es el consumo de menor energía, mayor vida útil y fácil adaptación a biorreactores y fotobiorreactores (FBR), usándose en fotoperíodos de 20 horas luz y 4 horas de oscuridad e irradiancias de 135 a 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

AVANCES TECNOLÓGICOS Y BIOTECNOLÓGICOS EN LOS SISTEMAS DE PRODUCCIÓN

Se han realizado diferentes trabajos en los que se han utilizado diferentes medios y condiciones de cultivos, y uso de biorreactores o fotobiorreactores desde 1 L hasta 10 L, usando diferentes fuentes de luz como la luz solar, lámpara fluorescente y led en biorreactores y fotobiorreactores para el crecimiento de la microalga *H. pluvialis* y la producción de astaxantina (Tianqui Xi et al., 2016; Lancheros et al., 2021).

Los fotobiorreactores poseen dos tipos de diseños diferentes: fotobiorreactores abiertos, en los cuales el cultivo se encuentra en contacto con la atmósfera. Al estar expuestos al medioambiente son susceptibles a la invasión de otros microorganismos, por lo que este tipo de biorreactores es útil para el cultivo de microalgas robustas y de rápido crecimiento. Por otro lado, existen fotobiorreactores cerrados, los cuales mantienen el cultivo totalmente aislado del exterior; estos generalmente están equipados con sistemas de agitación, aireación, control de pH, adición de medio y CO_2 .

Actualmente, existen diversos tipos de fotobiorreactores disponibles, entre los cuales se encuentran las columnas de burbujeo, los reactores airlift y los tanques agitados, así como los de tipo tubular y cónico. Los FBR son generalmente categorizados de acuerdo con su estructura y su producción de biomasa, de los cuales los tubulares, los de superficie plana (flat panel) y las columnas verticales son los más comunes.

Los fotobiorreactores de tipo tubular son el diseño más sustentable para cultivos en sistemas cerrados: tienen un área de iluminación con una buena tasa de producción de biomasa y son relativamente económicos, puesto que son construidos en vidrio o plástico.

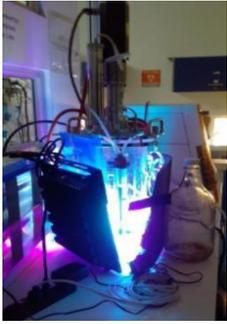
El diseño de tipo flat-plate es generalmente construido con materiales transparentes con la finalidad de maximizar el empleo de la luz solar. Este tipo de reactores permite una buena inmovilización de las microalgas y un sustentable uso de la energía, además de un fácil mantenimiento y limpieza.

Los diseños de tipo columna vertical son compactos, económicos y fáciles de operar, lo que los hace factibles al escalamiento. Otro diseño de fotobiorreactores que cuenta con una amplia superficie de iluminación es el denominado flat-panel o fotobiorreactor de superficie plana, cuyo tipo de diseño permite una mejor trayectoria incidente de la luz en el cultivo facilitando los ciclos de luz-oscuridad, aumentando la producción de biomasa y otros compuestos en las microalgas (Benavente-Valdés et al., 2012).

Teniendo en cuenta que en los cultivos de microalgas la trayectoria de la luz dentro de un reactor desempeña un papel decisivo en el cultivo de microalgas, lo cual hace que el diseño de los biorreactores sean de materiales transparentes de vidrio que se caracterizan por una capa delgada sin opción de agitación, manteniendo constante la relación superficie-volumen, prefiriéndose los de forma tubular para asegurar una buena distribución de la luz, ya que en *el H. pluvialis* en respuesta a la alta intensidad de luz la clorofila a y otros pigmentos involucrados en la fotosíntesis disminuyen, mientras los carotenoides secundarios (zeaxantina, β -caroteno, astaxantina) se incrementan, lo cuales sirven como agentes fotoprotectores, desempeñando roles de prevención del exceso de la energía lumínica del alcance de la maquinaria fotosintética. Por eso es importante conocer cuál es la oferta en cuanto a equipamiento que cumpla con las condiciones de producción como estrés, intensidad de luz, fotoperíodo para el uso adecuado de biorreactores y fotobiorreactores (FBR) y así definir las variables relacionadas con la luz como la trayectoria, el fotoperíodo y el diseño de un panel con un valor exacto de irradiancia y de color para obtención del pigmento astaxantina en mayor cantidad.

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, en donde el uso de un biorreactor o fotobiorreactor proporcionan una operación más controlada y definida, con bajo riesgo de contaminación y una configuración de proceso altamente flexible, controlando de una manera precisa las variables de cultivo como luz, irradiancia, fotoperíodos, pH, temperatura, agitación y mezclado.

Tabla 3: Avances tecnológicos y biotecnológicos en los sistemas de producción de astaxantina a partir de la microalga *H. pluvialis*

Tipos de biorreactores	Características y utilidad	Modo de iluminación, intensidad de la luz y volumen que manejan	Imágenes	Referencias
Fotobiorreactores de tanque agitado	<p>Son comúnmente de vidrio. Estos ofrecen un ambiente controlado para las microalgas, tienen buena transferencia de calor y masa, y se pueden emplear aditivos protectores de cizallamiento para microalgas sensibles al mismo.</p> <p>Dependiendo del volumen, se aplican para investigación, optimización de cultivos, validación de procesos, producción a escala piloto y producción comercial a gran escala, a pesar de tener limitaciones según el aumento gradual de la producción, por lo que se suele empezar con producción a baja escala para verificar disponibilidad y viabilidad.</p>	<p>La luz puede administrarse de manera interna o externa, y se puede usar fibra óptica para distribuir luz solar en el interior del tanque agitado junto con fuentes de luz artificiales para la noche o días nublados.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Volumen: pequeña escala: 1 a 100 litros - Volumen media escala: 100 a 1000 L - Volumen gran escala: 1000 a 50000 litros - Intensidad de luz: 50 a 500 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$. 		<p>Deniz et al. (2020)</p> <p>Bennerr et al. (2022)</p>
Fotobiorreactores agitados	<p>Consiste en placas de microtitulación iluminadas y matraces agitados de bajo volumen. Está dispuesto en una incubadora que controla la temperatura, son rentables y sustentables debido al uso en pequeña escala y se caracterizan por la distribución dinámica del líquido.</p> <p>Se usan en investigación debido a que permite realizar experimentos de detección en paralelo.</p>	<p>Las placas de microtitulación con variedad de pocillos permiten que cada pozo iluminado funcione como un único mini fotobiorreactor, y debido a la agitación la distribución de la luz es adecuada. Se emplean lámparas fluorescentes o led.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Volumen: <4000 μL - Intensidad de luz: pocos cientos de $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 		<p>Bennerr et al. (2022)</p> <p>Bruner et al. (2016)</p>
Fotobiorreactores tubulares	<p>Constan de dos partes interconectadas: receptor solar y sistema de transporte aéreo. También tiene un intercambiador de calor para tener un mayor control de la temperatura, y se aplica en escala de laboratorio en versiones simplificadas y en áreas industriales debido a su capacidad.</p>	<p>Se pueden utilizar lámparas fluorescentes y, dependiendo del tipo, si es horizontal o vertical, se puede optimizar la captación de la radiación solar o adaptar luces led.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Volumen a escala de laboratorio: 1 L y 3 L - Volumen escala Industrial: hasta 1000 L 	 <p>fotobiorreactor de laboratorio para grupo de semillero</p>	<p>Bennerr et al. (2022)</p> <p>Medina y Camacho (2023)</p>
Biorreactores de burbujeo o aireación	<p>Forma cilíndrica. Se separa en dos partes: con aireación y sin aireación. El aire utilizado puede estar enriquecido con CO_2 y generalmente son de material plástico como el cloruro de polivinilo o del vidrio. Para regular la temperatura se emplean camisas dobles transparentes alrededor de la columna de burbujas o se coloca en una incubadora. Por su forma cilíndrica se facilita la penetración efectiva de la luz, la uniformidad del cultivo y la distribución del aire.</p> <p>Se utilizan en investigación y como dispositivo de precultivo debido a su eficiencia y bajo costo.</p>	<p>Se pueden iluminar mediante tubos fluorescentes o lámparas led, las cuales se distribuyen alrededor del biorreactor para una iluminación homogénea, y se pueden emplear emisores de luz inalámbricos para iluminación interna.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Volumen: 450 ml, 1 L, 10 L, 28 L - Intensidad de luz: 15 y 220 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 		<p>Bennerr et al. (2022)</p> <p>Xu et al. (2002)</p> <p>Madhubalaji et al. (2020)</p>

Fuente: elaboración propia.

Los biorreactores de tanque agitado y fotobiorreactores tubulares son los más utilizados en el área industrial debido a sus grandes capacidades de almacenamiento, aunque su modo de uso puede resultar conflictivo cuando no se tiene una estandarización previa de las condiciones necesarias para equipar este instrumento, lo cual se debe realizar teniendo en cuenta el rendimiento y la cantidad de astaxantina acumulada por la microalga en lotes más pequeños de la misma, lo cual se lleva a cabo en tanques de menor capacidad como el del biorreactor de burbujeo y los fotobiorreactores agitados (Bennerr et al. 2022), que permitirán manejar variedad de lotes con condiciones de estrés variables para obtener una comparación de estos y verificar con qué condiciones de cultivo crece mejor la microalga. Para ello se tienen en cuenta parámetros como el tipo de luz y fuente en donde los diodos emisores de luz (led) son las fuentes de luz preferidas para los biorreactores y los fotobiorreactores debido a su variedad en colores blanco, azul y rojo con amplio espectro de estrecha banda.

Las ventajas de los ledes son la diversidad en tamaños desde el tamaño pequeño, ligero, duradero y eficiente en términos de mayor vida útil, además de que la cantidad de luz que se desprende es mucho mayor en comparación con su consumo de energía, así como la intensidad de luz empleada inicialmente recomendada entre 135 y 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y un fotoperíodo de 18 horas luz y 6 horas oscuridad o 20 horas luz y 4 horas de oscuridad, para luego utilizarla a volúmenes mayores cuidando que alcance a cada parte del biorreactor y que no exista el fenómeno de autosombra, en donde al tener iluminación externa por el tamaño del tanque, la luz no alcanza cada célula con la misma intensidad, pudiendo aplicar o suplir esta limitación con iluminación interna y externa (Madhubalaji et al. 2020), o situaciones en donde se utilizan condiciones de estrés adicionando sales o sustancias como el ácido salicílico incrementando la producción de astaxantina (tabla 3).

CONCLUSIONES

La astaxantina obtenida a partir de la microalga *H. pluvialis* es un carotenoide de importancia a nivel industrial en diferentes áreas por su actividad como pigmento y compuesto bioactivo. Este carotenoide presentó su mayor producción en la microalga entre 81,19 mg/L a 167,97 mg/L cuando se utilizó una fuente de luz con lámparas fluorescentes blancas con irradiancias altas entre 150 y 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Cuando se utilizaron como fuente de luz ledes de color rojo y azul con led blanca, usando irradiancias altas entre 135 y 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ se obtuvieron concentraciones de $82,82 \pm 3,29 \text{ mg/L}$ y de 151,8 mg/L, de astaxantina, respectivamente. Además, el uso de led de color azul y blanco a altas irradiancias incrementa la expresión de los genes *psy* y *CrtO/bkt*, importantes en la acumulación de astaxantina en la microalga *H. pluvialis*. Estos resultados sugieren usar como fuente de luz led combinando colores rojo y azul con blanco para incrementar la producción de astaxantina en cultivos de *H. pluvialis*, bajo las irradiancias establecidas por las ventajas que presenta las luces led frente a las del uso de lámparas fluorescentes blancas, como son la diversidad en tamaños desde el pequeño, ligero, duradero y eficiente en términos de mayor vida útil; además, la cantidad de luz que se desprende es mucho mayor en comparación con su consumo de energía.

La factibilidad tecnológica del uso de luces tipo led como aporte a los avances tecnológicos y biotecnológicos en los sistemas de producción de astaxantina es muy importante para adaptarlos al uso de los fotobiorreactores (FBR), siendo crucial establecer la trayectoria de la luz adecuada, el fotoperíodo establecido, la fuente de luz tipo led, color rojo y azul, la irradiancia o intensidad adecuada de luz entre 135 y 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, diseñando un sistema de luz que se adapte al biorreactor, de tal manera que todas las células de la microalga reciban el mismo estrés. De esta manera se incrementa el carotenoide astaxantina en *H. pluvialis*, siendo los ledes la fuente de luz más prometedora en el uso de biorreactores y fotobiorreactores, ya que consumen menos energía eléctrica, se adaptan fácilmente, producen más luz, no desperdician energía produciendo la longitud de onda necesaria de la luz y son de bajo costo.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen por el apoyo recibido a la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca y a todos quienes hicieron posible la elaboración de esta investigación. También queremos reconocer el valioso respaldo de nuestros compañeros y familiares. En el trasfondo de nuestra labor, recordamos cómo el flujo del tiempo mismo es complicado.

REFERENCIAS

Ahirwar, A., Meignen, G., Khan, M. J., Sirotiya, V., Scarsini, M., Roux, S., ... & Vinayak, V. (2021). Light modulates transcriptomic dynamics upregulating astaxanthin accumulation in *Haematococcus*: A review. *Bioresource Technology*, 340, 125707. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125707>

Angulo, L. D. M. y Mérida, L. G. R. (2017). Estado actual de las empresas productoras de microalgas destinadas a alimentos y suplementos alimenticios en América Latina. *Revista Venezolana De Ciencia Y Tecnología De Alimentos*, 8(2), 130-147. <https://explore.openaire.eu/search/result?id=doajarticles::97ca7a36902ddf703224ae23c67c5bc4>

Aslanbay Guler, B., Deniz, I., Demirel, Z. & Imamoglu, E. (2020). Computational fluid dynamics simulation in scaling-up of airlift photobioreactor for astaxanthin production. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 129(1), 86-92. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2019.06.010>

Bas, T. G., Contreras, A., Olliu, C. A., & Abarca, A. (2021). Determinants of astaxanthin industrial-scale production under stress caused by light photoperiod management of *Haematococcus pluvialis* cultivation. *Latin american journal of aquatic research*, 49(5), 725-738. <https://doi.org/10.3856/vol49-issue5-fulltext-2752>

Benavente-Valdés, J. R., Montañez, J. C., Aguilar, C. N., Méndez-Zavala, A., y Valdivia, B. (2012). Tecnología de cultivo de microalgas en fotobiorreactores. *Acta Química Mexicana*, 4(7), 1-12.

Benner, P., Meier, L., Pfeffer, A., Krüger, K., Oropeza Vargas, J. E., & Weuster-Botz, D. (2022). Lab-scale photobioreactor systems: principles, applications, and scalability. *Bioprocess and Biosystems Engineering* 45(5), 791-813. <https://doi.org/10.1007/s00449-022-02711-1>

Blanken, W., Cuaresma, M., Wijffels, R. H., & Janssen, M. (2013). Cultivation of microalgae on artificial light comes at a cost. *Algal Research*, 2(4), 333-340. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2013.09.004>

Gamboa Herrera, A. D., Guerrero Martínez, I. M., y Camacho Kurmen, J. E. (2024). <https://doi.org/10.21789/22561498.2108>

Borowiak, D., Lenartowicz, P., Grzebyk, M., Wiśniewski, M., Lipok, J., & Kafarski, P. (2021). Novel, automated, semi-industrial modular photobioreactor system for cultivation of demanding microalgae that produce fine chemicals—The next story of *H. pluvialis* and astaxanthin. *Algal Research*, 53, 102151. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.102151>

Bruder, S., Reifenrath, M., Thomik, T., Boles, E., & Herzog, K. (2016). Parallelised online biomass monitoring in shake flasks enables efficient strain and carbon source dependent growth characterisation of *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbial Cell Factories*, 15(1). <https://doi.org/10.1186/s12934-016-0526-3>

Butler, T. O., McDougall, G. J., Campbell, R., Stanley, M. S., & Day, J. G. (2017). Media Screening for Obtaining *Haematococcus pluvialis* Red Motile Macrozooids Rich in Astaxanthin and Fatty Acids. *Biology*, 7(1), 2. <https://doi.org/10.3390/biology7010002>

Camacho Kurmen, J. E., González, G., & Klotz, B. (2013). Producción de Astaxantina en *Haematococcus pluvialis* bajo diferentes condiciones de estrés. *Nova*, 11(19), 94-104. <https://doi.org/10.22490/24629448.1022>

Christian, D., Zhang, J., Sawdon, A. J., & Peng, C. (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>

Cheirsilp, B., Wantip, K., Chai-issarapap, N., Maneechote, W., Pekkoh, J., Duangjan, K., ... & Srinuanpan, S. (2022). Enhanced production of astaxanthin and co-bioproducts from microalga *Haematococcus* sp. integrated with valorization of industrial wastewater under two-stage ledlight illumination strategy. *Environmental Technology & Innovation*, 28, 102620.

Dalia Yirasol Martinez Tapiero, Maria Anghela Martínez Rentería, & Judith Elena Camacho Kurmen. (2024). Uso de tecnologías CRISPR-CAS9 en microalgas aplicado a la obtención de productos biotecnológicos de interés industrial. *Mutis*, 14(1). <https://doi.org/10.21789/22561498.2044>

Deniz, I. (2020). Scaling-up of *Haematococcus pluvialis* production in stirred tank photobioreactor. *Bioresource Technology*, 310, 123434. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123434>

Du, F., Hu, C., Sun, X., Zhang, L., & Xu, N. (2021). Transcriptome analysis reveals the promoting effect of trisodium citrate on astaxanthin accumulation in *Haematococcus pluvialis* under high light condition. *Aquaculture*, 543, 736978. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736978>

El-Baz, F. K., Salama, A., Ali, S. I., & Elgohary, R. (2021). *Haematococcus pluvialis* Carotenoids Enrich Fractions Ameliorate Liver Fibrosis Induced by Thioacetamide in Rats: Modulation of Metalloproteinase and Its Inhibitor. *BioMed Research International*, 2021, 6631415-16. <https://doi.org/10.1155/2021/6631415>

El-Baz, F. K., Ali, S. I., Elgohary, R., & Salama, A. (2023). Natural β -carotene prevents acute lung injury induced by cyclophosphamide in mice. *PLoS One*, 18(4), e0283779. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0283779>

Factiva (2021). Análisis global de la industria de la astaxantina, tamaño, cuota de mercado, crecimiento, tendencia y previsión para 2027. <https://global.factiva.com/en/du/article.asp?accessionno=ICROWDS020210316eh3g00002>

Gamboa Herrera, A. D., Guerrero Martínez, I. M., y Camacho Kurmen, J. E. (2024). <https://doi.org/10.21789/22561498.2108>

Fernández-Lozano, J., Guillén-Oterino, A., Gutiérrez-Alonso, G., Abel-Flores, J., y Pérez-Turrado, J. (2015). Presencia de *Haematococcus pluvialis* (Flotow, 1844) en la provincia de Zamora (Haematococcaceae). *Boletín De La Real Sociedad Española De Historia Natural. Sección Biológica*.

Gao, X., Wang, X., Li, H., Roje, S., Sablani, S. S., & Chen, S. (2017). Parameterization of a light distribution model for green cell growth of microalgae: *Haematococcus pluvialis* cultured under red ledlights. *Algal research*, 23, 20-27. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.12.018>

Gherabli, A., Grimi, N., Lemaire, J., Vorobiev, E., & Lebovka, N. (2023). Extraction of Valuable Biomolecules from the Microalga *Haematococcus pluvialis* Assisted by Electrotechnologies. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 28(5), 2089. <https://doi.org/10.3390/molecules28052089>

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

Markets and Markets (2021). Astaxanthin Market by Source, Form, Method of Production, Application and Region - Global Forecast to 2026. Plus Company Updates.

Meticulous Research (2023). *Haematococcus pluvialis* Markets: Product - Global Forecast to 2030. Plus Company Updates <https://www.meticulousresearch.com/product/haematococcus-pluvialis-market-5142/toc>

Hawick, K. A., & Husselmann, A. V. (2013). Photo-penetration depth growth dependence in an agent-based photobioreactor model. In Proceedings of the International Conference on Bioinformatics & Computational Biology (BIOCOMP). The Steering Committee of The World Congress in Computer Science, Computer Engineering and Applied Computing (WorldComp).

Hernández Useche, L.D. y Otalora Celis, M.A. (2022). Obtención de astaxantina sintetizada por la microalga *Haematococcus pluvialis* para su aplicación industrial. [Tesis de pregrado]. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. <https://janium.unicolmayor.edu.co/janium-bin/sumario.pl?id=20240613201453>

He, B., Hou, L., Dong, M., Shi, J., Huang, X., Ding, Y., Cong, X., Zhang, F., Zhang, X., & Zang, X. (2018). Transcriptome Analysis in *Haematococcus pluvialis*: Astaxanthin Induction by High Light with Acetate and Fe²⁺. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(1), 175. <https://doi.org/10.3390/ijms19010175>

Hu, C., Cui, D., Sun, X., Shi, J., & Xu, N. (2020). Primary metabolism is associated with the astaxanthin biosynthesis in the green algae *Haematococcus pluvialis* under light stress. *Algal Research (Amsterdam)*, 46. 101768. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101768>

Hu, J., Wang, D., Chen, H., & Wang, Q. (2023). Advances in Genetic Engineering in Improving Photosynthesis and Microalgal Productivity. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3). 1898. <https://doi.org/10.3390/ijms24031898>

Hu, Q., Huang, D., Li, A., Hu, Z., Gao, Z., Yang, Y., & Wang, C. (2021). Transcriptome-based analysis of the effects of salicylic acid and high light on lipid and astaxanthin accumulation in *Haematococcus pluvialis*. *Biotechnology for Biofuels*, 14(1). <https://doi.org/10.1186/s13068-021-01933-x>

Gamboa Herrera, A. D., Guerrero Martínez, I. M., y Camacho Kurmen, J. E. (2024). <https://doi.org/10.21789/22561498.2108>

Hu, Q., Song, M., Huang, D., Hu, Z., Wu, Y., & Wang, C. (2021). *Haematococcus pluvialis* Accumulated Lipid and Astaxanthin in a Moderate and Sustainable Way by the Self-Protection Mechanism of Salicylic Acid Under Sodium Acetate Stress. *Frontiers in Plant Science*, 12, 763742. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.763742>

Huang, L., Gao, B., Wu, M., Wang, F., & Zhang, C. (2019). Comparative transcriptome analysis of a long-time span two-step culture process reveals a potential mechanism for astaxanthin and biomass hyper-accumulation in *Haematococcus pluvialis* JNU35. *Biotechnology for Biofuels*, 12(1), 18. <https://doi.org/10.1186/s13068-019-1355-5>

Jannel, S., Caro, Y., Bermudes, M., & Petit, T. (2020). Novel Insights into the Biotechnological Production of *Haematococcus pluvialis*-Derived Astaxanthin: Advances and Key Challenges to Allow Its Industrial Use as Novel Food Ingredient. *Journal of Marine Science and Engineering*, 8(10), 789. <https://doi.org/10.3390/jmse8100789>

Jin, H., Lao, Y. M., Zhou, J., & Cai, Z. H. (2022). Identification of a RelA/SpoT Homolog and Its Possible Role in the Accumulation of Astaxanthin in *Haematococcus pluvialis*. *Frontiers in Plant Science*, 13, 796997. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.796997>

Koopmann, I. K., Möller, S., Elle, C., Hindersin, S., Kramer, A., & Labes, A. (2022). Optimization of Astaxanthin Recovery in the Downstream Process of *Haematococcus pluvialis*. *Foods*, 11(9), 1352. <https://doi.org/10.3390/foods11091352>

Lancheros-Díaz, A. G., Camacho-Kurmen, J. E., & Díaz Barrera, L. E. (2021). Producción de astaxantina bajo factores de estrés utilizando un biorreactor a escala de laboratorio de 5 L. *Nova: Publicación Científica En Ciencias Biomédicas*, 19(37), 99-119. <https://doi.org/10.22490/24629448.5498>

Lee, K. H., Chun, Y., Lee, J. H., Park, C., Yoo, H. Y., & Kwak, H. S. (2022). Improved Productivity of Astaxanthin from Photosensitive *Haematococcus pluvialis* Using Phototaxis Technology. *Marine Drugs*, 20(4), 220. <https://doi.org/10.3390/md20040220>

Le-Feuvre, R., Moraga-Suazo, P., Gonzalez, J., Martin, S. S., Henríquez, V., Donoso, A., & Agurto-Muñoz, C. (2020). Biotechnology applied to *Haematococcus pluvialis* Fotow: challenges and prospects for the enhancement of astaxanthin accumulation. *Journal of Applied Phycology*, 32, 3831-3852. <https://doi.org/10.1007/s10811-020-02231-z>

Li, F., Cai, M., Lin, M., Huang, X., Wang, J., Zheng, X., Wu, S., & An, Y. (2019). Accumulation of Astaxanthin Was Improved by the Nonmotile Cells of *Haematococcus pluvialis*. *BioMed Research International*, 2019, 8101762-7. <https://doi.org/10.1155/2019/8101762>

Li, F., Cai, M., Wu, Y., Lian, Q., Qian, Z., Luo, J., Zhang, Y., Zhang, N., Li, C., & Huang, X. (2022). Effects of Nitrogen and Light Intensity on the Astaxanthin Accumulation in Motile Cells of *Haematococcus pluvialis*. *Frontiers in Marine Science*. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.909237>

Li, Q., Li, B., & Li, J. (2022). The Dynamic Behaviors of Photosynthesis during Non-Motile Cell Germination in *Haematococcus pluvialis*. *Water (Basel)*, 14(8), 1280. <https://doi.org/10.3390/w14081280>

Li, X., Wang, X., Duan, C., Yi, S., Gao, Z., Xiao, C., Agathos, S. N., Wang, G., & Li, J. (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>

Vol. 14 (2) julio – diciembre del 2024

Gamboa Herrera, A. D., Guerrero Martínez, I. M., y Camacho Kurmen, J. E. (2024). <https://doi.org/10.21789/22561498.2108>

Lv, H., Xia, F., Liu, M., Cui, X., Wahid, F., & Jia, S. (2016). Metabolomic profiling of the astaxanthin accumulation process induced by high light in *Haematococcus pluvialis*. *Algal Research*, 20, 35-43. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.09.019>

Luo, Q., Bian, C., Tao, M., Huang, Y., Zheng, Y., Lv, Y., Li, J., Wang, C., You, X., Jia, B., Xu, J., Li, J., Li, Z., Shi, Q., & Hu, Z. (2019). Genome and Transcriptome Sequencing of the Astaxanthin-Producing Green Microalga, *Haematococcus pluvialis*. *Genome Biology and Evolution*, 11(1), 166-173. <https://doi.org/10.1093/gbe/evy263>

Madhubalaji, C. K., Sarat Chandra, T., Chauhan, V. S., Sarada, R., & Mudliar, S. N. (2020). Chlorella vulgaris cultivation in airlift photobioreactor with transparent draft tube: effect of hydrodynamics, light and carbon dioxide on biochemical profile particularly ω -6/ ω -3 fatty acid ratio. *Journal of Food Science and Technology*, 57(3), 866-876. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04118-5>

Ma, R., Thomas-Hall, S. R., Chua, E. T., Alsenani, F., Eltanahy, E., Netzel, M. E., Netzel, G., Lu, Y., & Schenk, P. M. (2018). Gene expression profiling of astaxanthin and fatty acid pathways in *Haematococcus pluvialis* in response to different ledlighting conditions. *Bioresource Technology*, 250, 591-602. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.11.094>

Ma, R., Thomas-Hall, S. R., Chua, E. T., Eltanahy, E., Netzel, M. E., Netzel, G., Lu, Y., & Schenk, P. M. (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>

Martínez Rodríguez, P. A., Peinado Cárdenas, M. J., & Camacho Kurmen, J. E. (2022). Efecto de los parámetros cinéticos de escalamiento del cultivo de *Haematococcus pluvialis* en fotobiorreactores para producir astaxantina. *Mutis*, 12(2). <https://doi.org/10.21789/22561498.1739>

Medina, E. y Camacho Kurmen, J. E. (2023). Efectos de luz led roja y azul sobre la producción de astaxantina en la biomasa de *Haematococcus pluvialis*.

Miranda, A. M., Ossa, E. A., Vargas, G. J. y Sáez, A. 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), 23-32. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642019000100023>

Miyakawa, K. (2021). Commercial Production of Astaxanthin from the Green Alga *Haematococcus pluvialis*. *Advances in experimental medicine and biology* (pp. 3-10). Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-15-7360-6_1

Morales-Carvajal, J., Villabona-Nuncira, R., Gonz lez-Delgado, D., Barajas-Ferreira, C., & Barajas-Solano, A. (2018). Technical-economic Pefeasibility Study of Astaxanthin Production System from *H. pluvialis* Microalgae in Colombia. *Indian Journal of Science and Technology*, 11(34), 1-8. <https://doi.org/10.17485/ijst/2018/v11i34/122627>

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>

Mussagy, C. U., Kot, A., Dufossé, L., Gonçalves, C. N. D. P., Pereira, J. F. B., Santos-Ebinuma, V. C., Raghavan, V., & Pessoa, A. (2023). Microbial astaxanthin: from bioprocessing to the market recognition. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 107(13), 4199-4215. <https://doi.org/10.1007/s00253-023-12586-1>

Gamboa Herrera, A. D., Guerrero Martínez, I. M., y Camacho Kurmen, J. E. (2024). <https://doi.org/10.21789/22561498.2108>

Ooms, M. D., Dinh, C. T., Sargent, E. H., & Sinton, D. (2016). Photon management for augmented photosynthesis. *Nature Communications*, 7(1), 12699. <https://doi.org/10.1038/ncomms12699>

Ota, S., Morita, A., Ohnuki, S., Hirata, A., Sekida, S., Okuda, K., Ohya, Y., & Kawano, S. (2018). Carotenoid dynamics and lipid droplet containing astaxanthin in response to light in the green alga *Haematococcus pluvialis*. *Scientific Reports*, 8(1), 5617-10. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23854-w>

Pang, N., Fu, X., Fernandez, J. S. M., & Chen, S. (2019). Multilevel heuristic ledregime 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>

Pattanaik, A., Sukla, L. B., & Pradhan, D. (2018). Effect of ledLights on the Growth of Microalgae. *Inglomayor*, 14, 17-24.

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

Santos, B., da Conceição, D. P., Corrêa, D. O., Passos, M. F., Campos, M. P., Adamoski, D., ... & Kava, V. M. (2022). Changes in gene expression and biochemical composition of *Haematococcus pluvialis* grown under different light colors. *Journal of Applied Phycology*, 34(2), 729-743. <https://doi.org/10.1007/s10811-022-02696-0>

Shah, M. M. R., Liang, Y., Cheng, J. 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>

Sun, J., Zan, J., & Zang, X. (2022). Research of Fluridone's Effects on Growth and Pigment Accumulation of *Haematococcus pluvialis* Based on Transcriptome Sequencing. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(6), 3122. <https://doi.org/10.3390/ijms23063122>

Sun, H., Kong, Q., Geng, Z., Duan, L., Yang, M., & Guan, B. (2015). Enhancement of cell biomass and cell activity of astaxanthin-rich *Haematococcus pluvialis*. *Bioresource technology*, 186, 67-73. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.02.101>

Tran, H. L., Lee, K. H., & Hong, C. H. (2015). Effects of ledirradiation on the growth and Astaxanthin Production of *Haematococcus lacustris*. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 12(2), 1167-1173. <https://doi.org/10.13005/bbra/1769>

Torres, T., & Kurmen, J. E. C. (2022). Modelos matemáticos y parámetros cinéticos relacionados con la producción de astaxantina en *Haematococcus pluvialis*. *Revista Mutis*, 12(1). <https://doi.org/10.21789/22561498.1743>

Viazau, Y. V., Goncharik, R. G., Kulikova, I. S., Kulikov, E. A., Vasilov, R. G., & Selishcheva, A. A. (2021). E/Z isomerization of astaxanthin and its monoesters in vitro under the exposure to light or heat and in overilluminated *Haematococcus pluvialis* cells. *Bioresources and Bioprocessing*, 8(1), 1-13. <https://doi.org/10.1186/s40643-021-00410-5>

Villaró, S., Ciardi, M., Morillas-España, A., Sánchez-Zurano, A., Ación-Fernández, G., & Lafarga, T. (2021). Microalgae Derived Astaxanthin: Research and Consumer Trends and Industrial Use as Food. *Foods*, 10(10), 2303. <https://doi.org/10.3390/foods10102303>

Gamboa Herrera, A. D., Guerrero Martínez, I. M., y Camacho Kurmen, J. E. (2024). <https://doi.org/10.21789/22561498.2108>

Waissman-Levy, N., Leu, S., Khozin-Goldberg, I., & Boussiba, S. (2019). Manipulation of trophic capacities in *Haematococcus pluvialis* enables low-light mediated growth on glucose and astaxanthin formation in the dark. *Algal Research (Amsterdam)*, 40, 101497. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101497>

Wang, C., Wang, K., Ning, J., Luo, Q., Yang, Y., Huang, D., & Li, H. (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, 650178. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.650178>

Wang, X., Song, Y., Liu, B., Hang, W., Li, R., Cui, H., Li, R., & Jia, X. (2020). Enhancement of astaxanthin biosynthesis in *Haematococcus pluvialis* via inhibition of autophagy by 3-methyladenine under high light. *Algal Research*, 50, 101991. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101991>

Wang, X., Meng, C., Zhang, H., Xing, W., Cao, K., Zhu, B., Zhang, C., Sun, F., & Gao, Z. (2021). Transcriptomic and Proteomic Characterizations of the Molecular Response to Blue Light and Salicylic Acid in *Haematococcus pluvialis*. *Marine Drugs*, 20(1), 1. <https://doi.org/10.3390/md20010001>

Wei, Z., Sun, F., Meng, C., Xing, W., Zhu, X., Wang, C., Cao, K., Zhang, C., Zhu, B., Yao, T., & Gao, Z. (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, 1-19. <https://doi.org/10.1155/2022/4827595>

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

Xu, Z., Baicheng, Z., Yiping, Z., Zhaoling, C., Wei, C., & Fan, O. (2002). A simple and low-cost airlift photobioreactor for microalgal mass culture. *Biotechnology Letters*, 24(21), 1767-1771. <https://doi.org/10.1023/A:1020648919331>

Yan, H., Ma, H., Li, Y., Zhao, L., Lin, J., Jia, Q., Hu, Q., & Han, D. (2022). Oxidative stress facilitates infection of the unicellular alga *Haematococcus pluvialis* by the fungus *Paraphysoderma sedebokerense*. *Biotechnology for Biofuels and Bioproducts*, 15(1), 56. <https://doi.org/10.1186/s13068-022-02140-y>

Zhang, W., Zhou, X., Zhang, Y., Cheng, P., Ma, R., Cheng, W., & Chu, H. (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, K., Li, Y., Yan, H., Hu, Q., & Han, D. (2022). Regulation of Light Spectra on Cell Division of the Unicellular Green Alga *Haematococcus pluvialis*: Insights from Physiological and Lipidomic Analysis. *Cells (Basel, Switzerland)*, 11(12), 1956. <https://doi.org/10.3390/cells11121956>