

INOVAÇÕES TECNOLÓGICAS NO CULTIVO DA MICROALGA HAEMATOCOCCUS PLUVIALIS: REVISÃO

Rossi Lelis Muniz Souza

rossilelis@gmail.com

Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico - FUNCAP, Fortaleza, Ceará, Brasil.

Winston Kleine Ramalho Viana

winstonkleine@gmail.com

Universidade Federal do Ceará - UFC, Fortaleza, Ceará, Brasil.

Michele Santana Martins Moreira

mimiles07@gmail.com

Universidade Federal do Ceará - UFC, Fortaleza, Ceará, Brasil.

Aldeney Andrade Soares Filho

icthybr@yahoo.com.br

Universidade Federal do Ceará - UFC, Fortaleza, Ceará, Brasil.

Viviana Lisboa

viviana.lisboa.lisboa@gmail.com

Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico - FUNCAP, Fortaleza, Ceará, Brasil.

Rochelle Cruz de Araujo Bezerra Vidigal

rochelle.cruz@cedepesca.net

Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico - FUNCAP, Fortaleza, Ceará, Brasil.

Karla Maria Catter

kmcatter@yahoo.com.br

Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico - FUNCAP, Fortaleza, Ceará, Brasil.

Halana Rodrigues Freire Eloy

halanarodrigues@gmail.com

Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico - FUNCAP, Fortaleza, Ceará, Brasil.

João Felipe Nogueira Matias

jfn.matias@gmail.com

Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico - FUNCAP, Fortaleza, Ceará, Brasil.

RESUMO

O cultivo de microalgas apresenta um grande potencial biotecnológico, principalmente para a produção de substâncias bioativas naturais, as quais podem ser empregadas na indústria farmacêutica e especialmente no desenvolvimento de alimentos funcionais, graças as suas propriedades nutricionais. Entre as microalgas comercialmente importantes, a *Haematococcus pluvialis* é considerada a principal fonte produtora de astaxantina natural, um carotenóide de alta ação antioxidante e com amplas aplicações nas indústrias de nutracêuticos, cosméticos, alimentícios e aquícola. Esta revisão teve como objetivo abranger os aspectos mais importantes da biologia, composição bioquímica, biossíntese e acúmulo de astaxantina nas células de *H. pluvialis*, além de sua ampla aplicação para humanos e animais. A metodologia utilizada neste trabalho foi uma revisão sistemática da literatura, apresentando as lacunas e oportunidades de pesquisa. Esse trabalho proporcionou uma visão mais ampla sobre as tecnologias e metodologias utilizadas para produção da *H. pluvialis*, proporcionando um norte aos futuros trabalhos a serem realizados. Durante o levantamento bibliográfico, observou-se que informações referentes ao cultivo de *H. pluvialis*, visando a produção de astaxantina, ainda é muito incipiente no Brasil, com resultados observados apenas em escala laboratorial, dificultando o entendimento real dos custos de implantação para uma possível produção comercial. Esse trabalho deu início a uma pesquisa maior e servirá como base para o exercício de futuras atividades, principalmente para dirimir dúvidas que possam vir a existir.

Palavras-chave: astaxantina; carotenóides; nutracêuticos; antioxidante; aquíicultura.

1. INTRODUÇÃO

As microalgas podem ser definidas como organismos unicelulares de crescimento rápido que apresentam clorofila-a, além de outros pigmentos fotossintéticos, cuja principal função é a manutenção, desenvolvimento e reprodução celular por meio da fixação do carbono, aumentando assim a sua biomassa. As microalgas respondem por aproximadamente 60% da produção primária do planeta, e quando cultivadas, alguns fatores devem ser levados em consideração, dentre eles estão os nutrientes (carbono e sais), luz (tipo e intensidade), pH e temperatura (Santos, 2015).

Nos últimos anos, houve um aumento no interesse em realizar estudos sobre a produção de microalgas. Isso se deve pela importância destes microrganismos nas diversas cadeias tróficas, bem como na possibilidade do seu uso em áreas como a saúde humana e animal, nutrição, meio ambiente, produção de energia e na obtenção de compostos de interesse das indústrias, alimentícia, química e farmacêutica, dentre outras (Bruno, 2001; Derner et al., 2006; Grobelaar, 2004; Richmond, 2004).

Alguns países como a China, Israel, EUA, dentre outros, já produzem microalgas em escala comercial. Dentre as várias espécies que são cultivadas, pode-se destacar a *Chlorella* Beyerinck (Chlorophyceae) e *Arthrospira* Stizenberger, (Cyanophyceae) para a adição em alimentos naturais, e a *Dunaliella salina* Teodoresco (Chlorophyceae) e *Haematococcus pluvialis* Flotow (Chlorophyceae), para a obtenção de carotenóides, como o betacaroteno e a astaxantina (Becker, 2007; Derner et al., 2006).

Neste trabalho, o objetivo principal foi realizar um levantamento bibliográfico que mostrasse as principais metodologias e tecnologias utilizadas na produção da microalga *Haematococcus pluvialis*, visando a obtenção de astaxantina.

Haematococcus pluvialis

A microalga *Haematococcus pluvialis* pertence ao reino Plantae, Filo Chlorophyta, Classe Chlorophyceae, Ordem Chlamydomonadales, Família Haematococcaceae e gênero *Haematococcus* (Algaebase, 2020). A microalga *Haematococcus lacustris* também é considerado um sinônimo taxonômico de *Haematococcus pluvialis*. Atualmente, são conhecidas 16 espécies dentro deste gênero e as primeiras observações do gênero *Haematococcus* datam de 1797, efetuadas por Girod-Chantrons, tendo a primeira descrição de *Haematococcus pluvialis* realizada por Flotow, em 1844 (Lorenz, 1999).

A primeira descrição mais detalhada sobre o ciclo de vida da *H. pluvialis* foi publicada por Hazen, em 1899, no boletim do Torrey Botanical Club. Nesta descrição, foi notado que a microalga se encontrava, frequentemente, com uma coloração avermelhada. Assim, começou a descrever o ciclo de vida como se em sua primeira fase, a *H. pluvialis*, existisse em estado de cisto, na qual as células apresentariam uma coloração avermelhada e, respectivamente, um estado móvel, com células apresentando uma coloração verde e flagelos, seguindo-se novamente um estado de cisto com coloração vermelha. Hazen não identificou a natureza química deste corante avermelhado, assim denominou a substância de hematocrómio. Atualmente, sabe-se que se trata do carotenóide astaxantina (Martins, 2014).

A microalga *Haematococcus pluvialis* é unicelular móvel, biflagelada e uninucleada. As suas células apresentam uma forma ovoide, elipsoide ou elipsóidecilíndrica (Algaebase, 2020). Durante o seu crescimento, tanto pode apresentar formas móveis como imóveis. Quando se apresenta móvel, as células ovoides podem alcançar 8 a 50 µm de diâmetro (Boussiba, 2000; Martins, 2014), apresentam um protoplasma muito afastado da parede celular, sendo esta relativamente fina e separada do plasmalema por um espaço mucilaginoso atravessado por fios protoplasmáticos finos (Hoek et al., 1995) (Figura 1).



Figura 1. microalga *Haematococcus pluvialis* (Flotow).

Fonte: O próprio autor.

Quando em sua forma imóvel, denominada de cisto, possui uma parede mais espessa, existindo um pequeno espaço periplasmático limitado internamente por um plasmalema bastante sinuoso. As características estruturais do protoplasma são semelhantes às das células móveis, com exceção dos flagelos que estão ausentes, no entanto, não se observam estigma nem vacúolos contrácteis (Figura 2) (Martins, 2014).



Figura 2. *Haematococcus pluvialis* (Flotow) em forma de cistos verdes.

Fonte: Elaborado a partir de Martins (2014).

A *Haematococcus pluvialis* se reproduz de maneira assexuada, com a formação de zoósporos biflagelados, cistos ou aplanósporos e também se reproduz sexualmente por isogamia. Em condições de estresse, como escassez de nutrientes, elevada radiação, salino, entre outros tipos, a forma vegetativa móvel transforma-se num imóvel mais resistente, denominada de cisto (Martins, 2014). Nesta forma, suas células são facilmente visíveis devido à coloração avermelhada que adotam. Esta coloração deve-se ao acúmulo do pigmento carotenóide astaxantina (Hoek *et al.*, 1995).

Durante o ciclo de vida, ocorre um crescimento das células vegetativas flageladas, e elas predominam desde que existam quantidades de nutrientes suficientes (Kobayashi *et al.*, 1997b; Martins, 2014). Quando as condições ambientais se tornam desfavoráveis, os cistos são vistos com mais frequência (Lorenz, 1999). Kobayashi *et al.* (1997a, 1997b), estudaram o ciclo de vida de *H. pluvialis* ao longo de duas semanas e investigaram os mecanismos das alterações morfológicas, dividindo o ciclo de vida em quatro fases: 1- crescimento das células vegetativas; 2- encistamento; 3- maturação; 4- germinação (Figura 3).

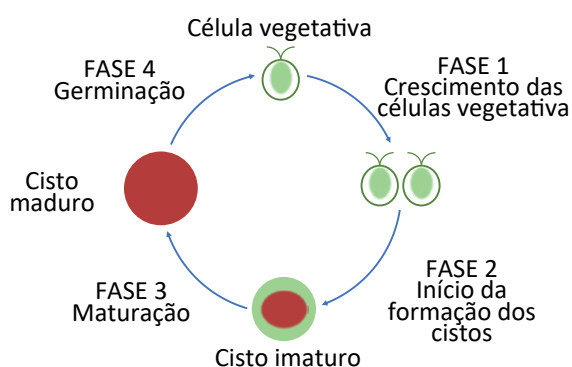


Figura 3. Esquema evidenciando as principais fases do ciclo de vida da *Haematococcus pluvialis* (Flotow). Fonte: Elaborado a partir de Martins (2014)

Na fase 1, inicialmente, ocorre o crescimento das células vegetativas, que está ligado diretamente a fatores ambientais como nutrientes, temperatura, luz, humidade, dentre outros. Na fase 2, as células vegetativas apresentam formato elipsoidal e aumentam em número, além de movimentarem-se ativamente devido aos dois flagelos (Kobayashi *et al.*, 1997b).

Na fase 3, as células tornaram-se cistos esféricos imóveis, designando-se esta fase de encistamento. Nesta fase, o cisto encontrava-se imaturo, ocorrendo uma série de alterações físicas e ao nível do conteúdo intracelular (Kobayashi *et al.*, 1997b). O volume das células cresceu drasticamente e entraram em uma fase de inatividade, na qual a célula fica envolvida por uma parede de celulose muito resistente, composta por substâncias tais como a esporopolenina. O protoplasto apresentou uma cor avermelhada devido ao amplo acúmulo de astaxantina (Boussiba, 2000). A biossíntese de carotenóides nos cistos torna-se bastante significativa, ocorrendo assim a fase de maturação, em que o cisto imaturo se torna maduro (Martins, 2014).

Quando o meio de cultivo se torna livre de agentes estressores, verifica-se o reaparecimento de células móveis, sendo esta quarta fase denominada de germinação (Martins, 2014).

Vale ressaltar que durante o ciclo de vida, as células vegetativas têm elevados percentual de clorofila e proteína, e baixos níveis de carotenóides. Durante o encistamento ocorre diminuição de clorofila e proteínas e o aumento da biossíntese de carotenóides. A germinação coincide com a síntese de clorofila, proteínas e degradação de carotenóides (Martins, 2014). Devido ao crescente interesse na produção da astaxantina natural, torna-se muito importante o conhecimento do ciclo de vida da *H. pluvialis* (Kobayashi *et al.*, 1997b).

O habitat natural característico da *H. pluvialis* é quase sempre limitado a pequenas piscinas temporárias, tais como cavidades rochosas periodicamente preenchidas com água da chuva, bacias de concreto e banhos de pássaros. Estes locais estão propícios a flutuações rápidas e extremas de parâmetros físicos, como intensidade luminosa, temperatura e concentração de sais, ou condições limitantes para qualquer forma de vida. (Burchardt *et al.*, 2006). Ocasionalmente, a *H. pluvialis* surge também em grande quantidade em rios ou às margens de lagos, quando expostos a condições extremas (Canter-Lund; Lund, 1995).

2. POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DA HAEMATOCOCCUS PLUVIALIS

As tendências relacionadas ao consumo de alimentos naturais para melhorar a saúde humana estão mudando e o interes-

se por esses produtos alimentares estão aumentando. Portanto, a indústria de alimentos está desenvolvendo novos produtos alimentícios enriquecidos com ingredientes funcionais que podem fornecer benefícios à saúde, além dos nutrientes tradicionais (Yao *et al.*, 2020). Dessa forma, as microalgas podem ser de grande relevância, visto que são uma fonte importante de nutrientes funcionais com várias aplicações biotecnológicas em potencial comprovadas (Michalak; Chojnacka, 2015).

Diversos trabalhos constataram que as microalgas contêm vários compostos bioativos que apresentam alto valor agregado no mercado com aplicações importantes, principalmente, nas indústrias de alimentos, cosméticos, farmacêutica e biocombustível (Amaro *et al.*, 2011; Gouveia *et al.*, 2008). Esses compostos bioativos são reconhecidos por prevenir uma variedade de doenças e manter boa saúde em humanos (Plaza *et al.*, 2008; Rao; Rao, 2007).

Destes compostos bioativos, os carotenóides são a classe mais extensa de pigmentos sintetizados por microalgas. Cerca de 30 deles desempenham um papel direto na captação de luz e na transferência de energia durante a fotossíntese (Varela *et al.*, 2015), enquanto outros estão envolvidos no mecanismo de defesa contra alguns radicais livres que causam danos foto-oxidativos (Li *et al.*, 2009). Entre a variedade de espécies de microalgas, a *Haematococcus pluvialis* é amplamente conhecida por ser a melhor na síntese de astaxantina, atingindo de 3 a 5% do pigmento natural por peso seco (Saini; Keum, 2018).

Ruiz-Domínguez *et al.* (2019), em estudo realizado com a *H. pluvialis*, mostrou que de todos os carotenóides encontrados, a astaxantina total (considerada a soma dos ésteres livres de astaxantina e astaxantina) apresentou a maior concentração seguido de β -caroteno, cantaxantina e luteína (Figura 4).

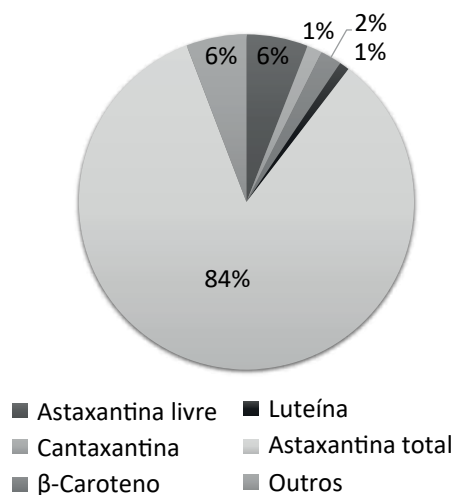


Figura 4. Concentração (%) de carotenóides individuais e totais extraídos da microalga *Haematococcus pluvialis*. Fonte: Elaborado a partir de Ruiz-Domínguez *et al.* (2019).

A astaxantina é um carotenóide pertencente a subclasse das xantofilas, abundante em animais marinhos, tais como peixes, crustáceos, algas e o plâncton (Hussein *et al.*, 2006). É o principal carotenóide encontrado nos salmões selvagens, conferindo sua cor vermelha escura única (Higuera-Ciapara *et al.*, 2006; Sébert *et al.*, 2010). A astaxantina produzida a partir de *H. pluvialis* é uma fonte natural primária de astaxantina para consumo humano (Gong *et al.*, 2020; Fassett; Coombes, 2011; Sarada *et al.*, 2002).

A astaxantina contém 40 átomos de carbono, a qual é caracterizada pela presença de oxigênio em sua estrutura molecular. É estruturalmente similar ao β -caroteno e a outras xantofilas, como a luteína, cantaxantina e zeaxantina, que têm em comum uma longa cadeia hidrocarbonada, com ligações duplas conjugadas (cadeia poliênica), contendo um anel de carbono em cada uma das extremidades. Difere dos outros carotenóides pela presença de grupamentos hidroxila (-OH) e cetona (C=O) nos anéis terminais (Figura 5), os quais dão à molécula uma maior polaridade e maior atividade antioxidante, quando comparado aos demais (Yang *et al.*, 2013).

Em sua forma livre, a astaxantina é considerada instável e suscetível à oxidação, sendo encontrada na natureza na forma conjugada com proteínas ou esterificada com uma ou duas cadeias de ácidos graxos. Em *H. pluvialis*, a forma esterificada predomina na forma de um monoéster (Han *et al.*, 2013; Schütz, 2014).

A astaxantina não pode ser produzida por animais superiores e eles a absorvem por meio do consumo de fontes naturais, tais como algas, bactérias e fungos (Yuan *et al.*, 2011). Animais, como salmão, lagosta, camarão e truta, adquirem astaxantina consumindo algas ou bactérias que a contêm, e o acúmulo desta em sua carne, pele ou exoesqueleto é o que dá aparência rosada ou avermelhada a eles (Kidd, 2011). Portanto, a astaxantina também é usada como ingrediente alimentar na aquicultura, para dar uma cor avermelhada, principalmente no cultivo de salmão, truta e camarão (Higuera-Ciapara *et al.*, 2006). Os seres humanos são capazes de obter astaxantina ao consumir frutos do mar que a contêm ou suplementos alimentares, sintéticos ou extraídos de *H. pluvialis* (Kidd, 2011).

A astaxantina sintetizada pela *H. pluvialis* é formada a partir do β -caroteno, quando em condições estressantes durante a biossíntese de carotenóides (D'Alessandro; Antonio-si-Filho, 2016), e possui como característica especial a sua cor avermelhada (Gouveia *et al.*, 2008; Spolaore *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2014).

Vários organismos são capazes de sintetizar astaxantina, destes podemos destacar as microalgas *Haematococcus pluvialis*, *Chlorella zofingiensis* e *Chlorococcum sp.*, as leveduras *Xanthophyllomyces dendrorhous* e *Candida utilis* e algumas

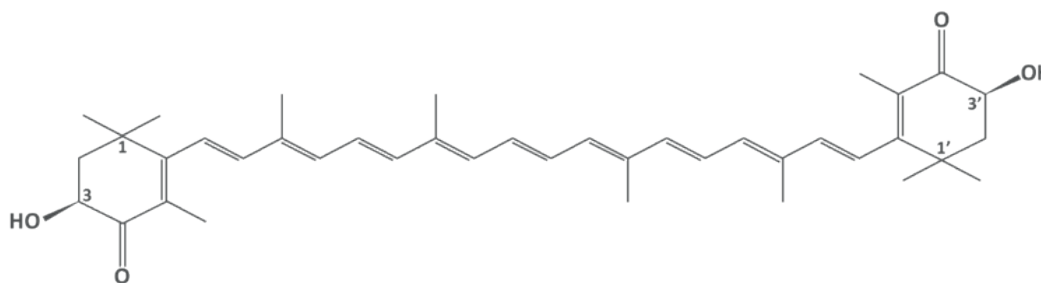


Figura 5. Estrutura molecular da astaxantina.

Fonte: Elaborado a partir de Yang *et al.*, 2013.

bactérias como *Agrobacterium aurantiacum*, *Halobacterium salinarum*, *Mycobacterium lacticola* e *Brevibacterium* spp. (Ghiggi, 2007; Ip; Chen, 2005; Liu; Lee, 2000; Miao *et al.*, 2006; Schmidt *et al.*, 2011; Yuan *et al.*, 2002). A Tabela 1 lista as principais microalgas produtoras de astaxantina.

Tabela 1. Microalgas produtoras de astaxantina, de acordo com as concentrações produzidas por biomassa seca (% massa / massa).

Tipo de Microalga	% astaxantina
Chloromonas nivalis	0,004
Botryococcus braunii	0,01
Chlamydocapsa spp.	0,04
Scenedesmus sp.	0,3
Chlorella zofingiensis	0,7
Chlorococcum sp.	0,7
Scotiellopsis oocystiformis	1,1
Protosiphon botryoides	1,4
Neochloris wimmeri	1,9
Haematococcus pluvialis	4,0

Fonte: Elaborado a partir de Santos (2015).

Pesquisas realizadas com *Chlorella zoofingiensis* atraiu alguns interesses a esta microalga como produtora alternativa astaxantina, devido à sua elevada velocidade de crescimento em diversas condições de cultivo: fotoautotróficas, mixotróficas e heterotróficas (Del Campo *et al.*, 2007; Ip *et al.*, 2004; Orosa *et al.*, 2000; Sun *et al.*, 2008). Entretanto, das espécies apresentadas na Tabela 1, a microalga com o maior potencial produtor de astaxantina na natureza é a *Haematococcus pluvialis*, devido à sua capacidade de acumular grandes quantidades do carotenóide em condições de estresse (Boussiba, 2000; Lemoine; Schoefs, 2010).

Pelo maior controle dos processos, a produção de astaxantina em escala industrial, costumeiramente, tem sido realizada por síntese química derivada do petróleo (Boussiba *et al.*, 2000; Olaizola, 2003; Yoshihiro *et al.*, 1997). Contudo, a forma sintética, além de ter alto custo de produção, pode apresentar em seu produto final uma astaxantina com configuração estrutural diferente da natural (Boussiba *et al.*, 2000).

Vários isômeros de astaxantina têm sido caracterizados com base na configuração dos dois grupamentos hidroxilas da molécula. O estereoisômero 3S,3'S é a principal forma encontrada na *H. pluvialis*, enquanto a forma sintética contém principalmente o isômero 3R,3'S (Higuiera-Ciapara *et al.*, 2006; Hussein *et al.*, 2006; Kidd, 2011). Esta diferença aumenta a instabilidade da molécula e seu efeito pode ser diferente da astaxantina natural, a qual é esterificada, conferindo-lhe uma estabilidade maior e prevenindo contra oxidação (Santos, 2015; Schmidt *et al.*, 2011).

A astaxantina sintética é produzida a partir de fontes petroquímicas, o que levanta questões de segurança alimentar, poluição e sustentabilidade (Li *et al.*, 2011; Milledge, 2011). Sua utilização fica restrita ao uso como aditivo na alimentação de peixes para fins de pigmentação e está proibida o consumo direto pelos seres humano em alimentos ou suplementos (Li *et al.*, 2011). O uso de compostos químicos sintéticos tem sido estritamente regulado (Yamane *et al.*, 1997), tornando a fonte natural de astaxantina a preferível (Kusdiyantini *et al.*, 1998). Assim, como a sociedade estimula uma transição para “soluções verdes” e produtos naturais, a astaxantina derivada de algas parece estar ganhando potencial no mercado. (Panis; Rosales-Carreón, 2016, Nguyen; 2013; Pérez-López *et al.*, 2014).

Quanto ao uso da astaxantina produzida pela *H. pluvialis*, talvez o seu maior potencial seja na aquicultura, principalmente na adição em dietas para alimentação de peixes e crustáceos, visando realçar a cor da carne e pele, o que agrega valor ao produto (Lorenz; Cysewski, 2000).

Mais de 95% do mercado da aquicultura consome derivados da astaxantina sintetizados quimicamente. Em paralelo a essa realidade, o aumento da demanda de consumo por produtos naturais faz com que os pigmentos quimicamente sintetizados sejam a cada dia menos desejáveis, sendo adquirido apenas devido maior oferta no mercado, o que proporciona uma oportunidade para a produção de astaxantina natural (Lorenz e Cysewski, 2000; Ni *et al.*, 2005; Orosa *et al.*, 2005; Valduga *et al.*, 2009).

Outros segmentos de mercado que a astaxantina natural pode empreender são os de fármacos e alimentícios, principalmente por possuir conhecidas propriedades anti-inflamatórias e antioxidante (Gross *et al.*, 2006; Guerin *et al.*, 2003). A astaxantina contribui amplamente para a melhora do sistema imunológico em seres humanos e animais, além de possuir diversas propriedades protetoras contra inflamação, úlcera, câncer, neurodegeneração, diabetes e doenças cardiovasculares, como a arteriosclerose (Ciccione *et al.*, 2013; Lorenz; Cysewski, 2000), bem como efeitos protetores hepáticos (Yuan *et al.*, 2011). Com a atual pandemia provocada pelo surto de coronavírus, Talukdar *et al.* (2020a, 2020b) sugerem que o uso da astaxantina, associado a medicamentos antivirais, beneficiaria muito os pacientes com COVID-19, melhorando sua saúde e reduzindo o tempo de recuperação.

A produção de carotenóides com uso de biotecnologia e de forma natural, como a astaxantina, é um campo de pesquisa de grande interesse devido ao seu alto valor de mercado e o crescimento da demanda por produtos naturais (Hui *et al.*, 2005).

O valor de mercado da astaxantina varia geralmente entre US\$ 2.500 – 7.000/kg, enquanto seu potencial de mercado global foi estimado em mais de US\$ 1,5 bilhão até 2020 (Borowitzka, 2013; Koller *et al.*, 2014; Milledge, 2011; Panis; Rosales-Carreón, 2016; Pérez-López *et al.*, 2014). Desse mercado, mais de 95% refere-se à astaxantina produzida sinteticamente, enquanto que a produzida a partir de algas representa aproximadamente 1% da quantidade comercializada (Koller *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2011; Pérez-López *et al.*, 2014).

3. O CULTIVO HAEMATOCOCCUS PLUVIALIS

A produção da microalga *H. pluvialis* proporciona algumas características desfavoráveis quando comparada com a produção em escala comercial de outras microalgas, principalmente devido à complexidade do seu ciclo de vida e ao seu crescimento lento (Cifuentes *et al.*, 2003). Estes mesmos autores mostram que além da influência de fatores como nutrientes, intensidade luminosa e estresse salino, o tempo de cultivo também é crucial, visto que as células mais jovens são mais sensíveis aos fatores que desencadeiam condições adversas.

O processo de produção de astaxantina pode ser limitado devido à baixa produtividade de células verdes nos cultivos de *H. pluvialis*, uma vez que a astaxantina é acumulada no interior dos cistos. Dessa forma, a otimização da fase de crescimento vegetativo é importante para alcançar bons rendimentos de astaxantina (García-Malea *et al.*, 2006; Ghiggi, 2007; Santos, 2015).

Diversos fatores limitantes levam à redução na taxa de crescimento e, concomitantemente, reflete em menor número de células produtoras de astaxantina. Tanto no ambiente natural quanto em cultivos controlados, o crescimento de uma população de microalgas é resultado da interação entre fatores biológicos, físicos e químicos (Vonshak; Torzillo, 2004).

A manipulação de fatores ambientais e nutricionais, principalmente a variação da intensidade luminosa e na fonte de nitrogênio, otimizam o crescimento da *H. pluvialis* (Zhang *et al.*, 2009). Cavalheiro *et al.* (2000), em trabalho realizado por aproximadamente 38 dias, submeteram *H. pluvialis* a um cultivo em que a intensidade luminosa foi de $70 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$, fotoperíodo de 12 horas, além do meio de cultura adequado com a adição de vitamina B12 e biotina. Os autores verificaram que as células móveis, que eram predominantes nos primeiros dias, foram substituídas gradativamente pelos cistos, que se tornaram dominantes a partir do 12º dia, atingindo uma densidade máxima no 33º dia de cultivo.

Torzillo *et al.* (2005), depois de submeterem células flageladas de *H. pluvialis* as várias intensidades luminosas, concluíram que a de $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ era a intensidade ideal para o crescimento, representando um limite acima do qual ocorreriam alterações nos parâmetros fotoquímicos e na composição de pigmentos.

Goksan *et al.* (2011) analisaram as características de crescimento de *H. pluvialis* quando afetado pela fonte de nitrogênio (nitrato de sódio, nitrato de potássio, nitrato de amônio e ureia), vitaminas e luz. O melhor crescimento ocorreu quando a concentração de nitrato de sódio era de 1,0 g/L e a de nitrato de potássio de 0,5 g/L, com luminosidades entre 75 e $150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Fatores biológicos estão relacionados com às taxas metabólicas individuais da espécie cultivada, bem como a sua dinâmica da comunidade ao qual está inserida, em que outros organismos podem alterar o desenvolvimento da microalga. Fatores químicos relacionados à composição do meio de cultura influenciam tanto o crescimento quanto a composição bioquímica, que varia com a disponibilidade de nutrientes, salinidade e pH. Já os fatores físicos são relativos ao fotoperíodo, intensidade luminosa e temperatura (Devgoswami *et al.*, 2011; Fábregas *et al.*, 2001; García-Malea *et al.*, 2009; Guerin *et al.*, 2003; Hata *et al.*, 2001; Huang *et al.*, 2019; Imamoglu *et al.*, 2007; Rousch *et al.*, 2003).

Segundo Gladue (1991), a maioria das espécies de alga é fotoautotrófica e sua produção de material orgânico é reflexo da atividade fotossintética, podendo ser expressa pelo incremento da população (Balech, 1977), ou seja, a taxa de crescimento. Nos cultivos, a luminosidade apresenta ser um dos fatores principais do crescimento das microalgas e varia

de acordo com profundidade, latitude e tempo (diariamente e sazonalmente). De toda a radiação eletromagnética incidente sobre os organismos fotossintetizantes, somente o espectro visível, ou seja, comprimentos de onda entre 400 e 720 nm (radiação fotossinteticamente ativa – PAR), podem ser absorvidos e usados para a fotossíntese (Lips; Avissar, 1990).

As clorofilas, os carotenóides e as ficobilinas são os principais pigmentos envolvidos na fotossíntese em microalgas e cada um absorve comprimentos de onda específicos. Aproximadamente 40% da energia solar que incide sobre a superfície terrestre num dia de céu aberto constitui a PAR e equivale a cerca de 1800 – 2000 $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Uma vez captada pelos pigmentos fotossintéticos, a energia luminosa é transferida para os centros de reação onde será utilizada para as reações fotoquímicas (Masojídek *et al.*, 2013; Santos, 2015). A quantidade de energia luminosa recebida pelo sistema fotossintético irá impactar na quantidade de carbono que pode ser fixado, determinando a produção de biomassa e sua taxa de crescimento (Tzovenis *et al.*, 2003). O regime de luz também é um componente crítico na projeção da produção de biomassa (Falkowski; Raven, 2007; Kirk, 1983; Tzovenis *et al.*, 2003).

Após estudos realizados, Litchman (1998) percebeu como as taxas de crescimento do fitoplâncton fotoautotrófico são afetadas em diferentes condições de fotoperíodo e irradiância. Uma alteração no regime de luz também pode influenciar a taxa de absorção de nutrientes, de modo que o autor concluiu que o excesso de luz é prejudicial aos fotoautotróficos, pois pode gerar efeito de inibição sobre os pigmentos por meio de sua foto-oxidação e também das enzimas envolvidas no processo fotossintético (Boney, 1989).

Portanto, a intensidade de luz e seu fotoperíodo, como também a sua qualidade, interferem no crescimento da microalga. Conforme Katsuda *et al.* (2004), *H. pluvialis* apresentou maior crescimento vegetativo quando iluminada com LED vermelho, mas quando submetida a LED azul, foi observado uma supressão no crescimento vegetativo e a indução de intenso acúmulo de astaxantina.

A temperatura, irradiação, concentração de nitrato e fósforo, pH e da interação desses fatores, são responsáveis por diferenças significativas no crescimento da microalga *H. pluvialis* (Borowitzka *et al.*, 1991; Boussiba, 2000; García-Malea *et al.*, 2006; Orosa *et al.*, 2005; Tran *et al.*, 2019).

Para a nutrição, as microalgas necessitam de diversos nutrientes minerais e algumas espécies têm melhor desempenho com o acréscimo de vitaminas. Os macronutrientes requeridos pelas microalgas são: carbono, nitrogênio, oxigênio, hidrogênio, fósforo, cálcio, magnésio, enxofre e

potássio. Também é necessário micronutrientes, metais traço ou elementos minoritários, e geralmente requerem ferro, manganês, cobre, molibdênio e cobalto (Barsanti; Gualtieri, 2006).

As microalgas têm necessidades nutricionais específicas e para otimizar a produção das células verdes de *H. pluvialis* é necessário uma alta concentração de nitrato e fosfato (20 e 1 mM, respectivamente), pH entre 6,0 – 7,0 e adição de acetato (0,25% p/v) como fonte de energia adicional (Borowitzka *et al.*, 1991; Boussiba, 2000; Orosa *et al.*, 2005).

Entre os macronutrientes, o carbono é o elemento utilizado em maiores concentrações, inclusive pelas espécies mixotróficas. Essa demanda deve-se ao carbono estar presente em todas as moléculas orgânicas produzidas, tais como as proteínas, carboidratos, ácidos nucleicos, lipídios e outras. Culturas de microalgas podem tornar-se limitadas em carbono, mesmo em baixa densidade celular (Lombardi; Maldonado, 2011; Tran *et al.*, 2019) e, dependendo da velocidade de crescimento, haverá rápido consumo do carbono disponível com elevação do pH da cultura para valores superiores a pH 9.0 em sistemas não tamponados (Lourenço, 2006; Santos, 2015).

Quanto ao pH do cultivo, este deve ser controlado de maneira específica, visto que é importante para que os nutrientes estejam disponibilizados no meio de cultura e as microalgas possam utilizá-los (Han *et al.*, 2020). A adição de gás carbônico (CO_2) pode servir como nutriente, mas também auxilia como controlador do pH que naturalmente aumenta em decorrência do crescimento das microalgas (Lourenço, 2006; Santos, 2015; Tran *et al.*, 2019).

Em cultivos realizados em sistemas fechados, o pH pode atingir valores elevados e tornar o meio impróprio para o crescimento. Dessa forma, o uso de tampões de pH pode evitar a sua variação ou mesmo torná-las discretas, além de torná-las mais toleráveis para as microalgas (Han *et al.*, 2020; Lourenço, 2006; Santos, 2015).

Com relação a extração da astaxantina da microalga *H. pluvialis*, as metodologias mais comuns são as seguintes: extração assistida por microondas, ultrassom, homogeneização por alta pressão (HPH), extração com líquido pressurizado (PLE), extração assistida por enzimas e extração supercrítica de fluido (SFE), que geralmente é baseado no uso de dióxido de carbono supercrítico (SC-CO_2). Esta última é mais atraente do que outros métodos para a recuperação de compostos valiosos, mesmo após considerar a proteção ambiental (Yen *et al.*, 2015), visto que muitos produtos naturais bioativos são termicamente pouco estáveis e podem se degradar durante o uso dos métodos tradicionais de extração. Desta forma, o uso de SC-CO_2 tem demonstrado mais eficácia na extração de compostos bioativos (Da Silva *et al.*,

2016; Gałuszka *et al.*, 2013; Reyes *et al.*, 2014), preservando essas biomoléculas da degradação durante o processo de extração.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nos últimos anos, houve um crescente interesse pela astaxantina natural produzida pela microalga *H. Pluvialis* em detrimento da produzida artificialmente. Em vista disso, muitas melhorias científicas foram alcançadas, principalmente em inovação, tecnologia para produção em larga escala e de serviços, sempre visando obter uma astaxantina mais refinada. No entanto, sua produção comercial ainda é muito onerosa, devido o investimento inicial depender de tecnologia de ponta.

Apesar dos avanços significativos nas pesquisas e no desenvolvimento de novas tecnologia para a produção de astaxantina pela microalga *H. pluvialis*, seu cultivo no Brasil ainda está em escala laboratorial e enfrenta dificuldades para ser implementado em escala comercial. Acreditamos que para a melhoria na capacidade de produção da *H. Pluvialis*, teremos que investir no desenvolvimento de inovações tecnológicas, na redução do custo de produção, boas práticas de cultivo e no beneficiamento da astaxantina.

AGRADECIMENTOS

A Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP), a Secretaria do Desenvolvimento Agrário do Governo do Estado do Ceará e a Universidade Federal do Ceará.

REFERÊNCIAS

AlgaeBase 2020, National University of Ireland, Galway. viewed 14 May 2020, <http://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=27370>

Amaro H.M.; Guedes A.C.; Malcata F.X. (2011) "Antimicrobial activities of microalgae: An invited review". In: Méndez-Vilas A., editor. *Science Against Microbial Pathogens: Communicating Current Research and Technological Advances*. Formatex Research Center; Badajoz, Spain, pp. 1272–1280.

Balech, E. (1977) *Introducción al fitoplancton marino*. 1st Ed. Buenos Aires: Editorial Universitaria de Buenos Aires, EUDE-BA. 211 p.

Barsanti, L.; Gualtieri, P. (2006) *Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology*. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.

Becker, W. (2007) "Microalgae in Human and Animal Nutrition", In Richmond, A. (Ed). *Handbook of microalgal culture:*

Biotechnology and applied phycology, Blackwell Publishing Ltd pp. Oxford, 312-351.

Boney, A. D. (1989) "Phytoplankton", In Arnold, E. (Ed). *new studies in biology. Limnology and Oceanography*, 2nd edition: Cambridge University Press, London, UK, pp. 21–23.

Borowitzka, M. A. (2013) "High-value products from microalgae—their development and commercialisation", *Journal of Applied Phycology*, 25(3), pp. 743-756.

Borowitzka, M. A.; Huisman, J. M.; Osborn, A. (1991) "Culture of the astaxanthin-producing green alga *Haematococcus pluvialis* 1. Effects of nutrients on growth and cell type", *Journal of Applied Phycology*, 3(4), pp. 295-304.

Boussiba, S. (2000) "Carotenogenesis in the green alga *Haematococcus pluvialis*: Cellular physiology and stress response", *Physiologia Plantarum*, 108(2), pp. 111-117.

Boussiba, S.; Vonshak, A.; Cohen, Z.; Richmond, A. (2000) "A procedure for large-scale production of astaxanthin from *Haematococcus*". PCT Patent 9:728,274

Bruno, J. (2001) "Edible microalgae: a review of the health research", *Center for Nutritional Psychology Press, Pacifica*, 3, pp. 56.

Burchardt, L.; Balcerkiewicz, S.; Kokocinski, M.; Samardakiewicz, S.; Adamski, Z. (2006) "Occurrence of *Haematococcus pluvialis* Flotow emend. Wille in a small artificial pool on the university campus of the collegium biologicum in Poznan (Poland)". *Biodiv. Res. Conserv.*, 1, pp. 163–166.

Canter-Lund, H.; Lund, J. W. G. (1995) *Freshwater algae: their microscopic world explored*. England: Biopress Ltd., Bristol, 360 p.

Cavalheiro, R.; Rörig, L.; Fontana, J. D.; Pessatti, M. (2000) "Preliminary growth tests of a strain of the astaxanthin producer *Haematococcus pluvialis* (Chlorophyceae, Volvocales)". *Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology*, 3, 10, 14210.

Ciccione, M. M.; Cortese, F.; Gesualdo, M.; Carbonara, S.; Zito, A.; Ricci, G.; De Pascalis, F.; Scicchitano, P.; Riccioni, G. (2013) "Dietary Intake of Carotenoids and Their Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects in Cardiovascular Care", *Mediators of Inflammation*, 2013, pp. 782137.

Cifuentes, A. S.; González, M. A.; Vargas, S.; Hoeneisen, M.; González, N. (2003) "Optimization of biomass, total carotenoids and astaxanthin production in *Haematococcus pluvialis* Flotow strain Steptoe (Nevada, USA) under laboratory conditions". *Biological Research*, v. 36, n. 3-4, p. 343–357.

D'Alessandro, E.B.; Antoniosi Filho, N.R. (2016) "Concepts and studies on lipid and pigments of microalgae: A review". *Renew. Sustain. Energy Rev.*, v. 58, p. 832–841.

- Da Silva, R.P.; Rocha-Santos, T.A.; Duarte, A.C. (2016) "Supercritical fluid extraction of bioactive compounds". *TrAC Trends Anal. Chem.*, v. 76, p. 40–51.
- Del Campo, J. A.; García-González, M.; Guerrero, M. G. (2007) "Outdoor cultivation of microalgae for carotenoid production: current state and perspectives". *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 74, n. 6, p. 1163–1174.
- Derner, R. B.; Ohse, S.; Villela, M.; Carvalho, S. M.; Fett, R. (2006) "Microalgae, products and applications". *Ciência Rural*, v. 36, p. 1959-1967.
- Devgoswami, C. R.; Kalita, M. C.; Talukdar, J.; Bora, R.; Sharma, P. (2011) "Studies on the growth behavior of *Chlorella*, *Haematococcus* and *Scenedesmus* sp. in culture media with different concentrations of sodium bicarbonate and carbon dioxide gas". *African Journal of Biotechnology*, v. 10, n. 61, p. 13128–13138.
- Fábregas, J.; Otero, A.; Maseda, A.; Domínguez, A. (2001) "Two-stage cultures for the production of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*". *Journal of Biotechnology*, v. 89, n. 1, p. 65–71.
- Falkowski, P. G.; Raven, J. A. (2007) *Aquatic photosynthesis*. 2nd ed., Princeton University Press, Oxford, UK, 488p.
- Fassett, R. G.; Coombes, J. S. (2011) "Astaxanthin: a potential therapeutic agent in cardiovascular disease". *Mar Drugs*. v. 9, p. 447-465.
- Gałuszka, A.; Migaszewski, Z.; Namiesnik, J. (2013) "The 12 principles of green analytical chemistry and the significance mnemonic of green analytical practices". *TrAC Trends Anal. Chem.*, v. 50, p. 78–84.
- García-Malea, M. C.; Acién, F. G.; Del Río, E.; Fernandez, J.M.; Cerón, M.C.; Guerrero, M. G.; Molina-Grima, E. (2009) "Production of astaxanthin by *Haematococcus pluvialis*: taking the one-step system outdoors". *Biotechnology and bioengineering*, v. 102, n. 2, p. 651–657.
- García-Malea, M. C.; Acién, F. G.; Fernández, J. M.; Cerón, M. C.; Molina, E. (2006) "Continuous production of green cells of *Haematococcus pluvialis*: Modeling of the irradiance effect". *Enzyme and Microbial Technology*, v. 38, n. 7, p. 981–989.
- Ghiggi, V. (2007) Estudo do crescimento e indução da produção do pigmento astaxantina por *Haematococcus pluvialis*. Dissertação de mestrado em processos biotecnológicos – PPG Biotec – UFPR, Curitiba, PR.
- Gladue, R. M. (1991) "Heterotrophic microalgae production: Potential for application to aquaculture feeds". In: W. Fulks; K. L. Main (Eds.); *Rotifer and Microalgae Culture Systems: Proceedings of a U.S.-Asia Workshop*. p.275–286.
- Goksan, T.; Ak, I.; Kiliç, C. (2011) "Growth Characteristics of the Alga *Haematococcus pluvialis* Flotow as affected by nitrogen source, vitamin, light and aeration". *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 11, 377-383.
- Gong, F.; C. Zhang; L. Zhang; J. Liu (2020). "Changes of carotenoids contents and analysis of astaxanthin geometrical isomerization in *Haematococcus pluvialis* under outdoor high light conditions." *Aquaculture Research* 51(2): 770-778.
- Gouveia, L.; Coutinho, C.P.; Mendonça, E.; Batista, A.P.; Sousa, I.; Bandarra, N.M.; Raymundo, A. (2008) "Functional biscuits with PUFA- ω 3 from *Isochrysis galbana*". *J. Sci. Food Agric*, v.88, p. 891–896.
- Grobbelaar, J.U. (2004) "Algal biotechnology: real opportunities for Africa". *South African Journal of Botany*, v.70, n.1, p.140-144.
- Gross, G.J.; Hazen, S.L.; Lockwood, S.F. (2006) "Seven day oral supplementation with Cardax TM (disodium disuccinate astaxanthin) provides significant cardioprotection and reduces oxidative stress in rats". *Mol. Cell. Biochem.* v. 283, p. 23–30.
- Guerin, M.; Huntley, M. E.; Olaizola, M. (2003) "*Haematococcus* astaxanthin: applications for human health and nutrition". *Trends in Biotechnology*, v. 21, n. 5, p. 210–216.
- Han, D.; Li, Y.; Hu, Q. (2013) "Astaxanthin in microalgae: pathways, functions and biotechnological implications". *Algae*, v. 28, n. 2, p. 131–147.
- Han, S.; Chang, S.H.; Lee, C.; Jeon, M. S.; Heo, Y. M.; Kim, S.; Choi, Y. (2020) "Astaxanthin biosynthesis promotion with pH shock in the green microalga, *Haematococcus lacustris*". *Bioresource Technology*, V.314,
- Hata, N.; Ogbonna, J.; Hasegawa, Y.; Taroda, H.; Tanaka, H. (2001) "Production of astaxanthin by *Haematococcus pluvialis* in a sequential heterotrophic-photoautotrophic culture". *Journal of Applied Phycology*, v. 13, n. 5, p. 395–402.
- Higuera-Ciapara, I.; Felix-Valenzuela, L.; Goycoolea, F.M. (2006) "Astaxanthin: A Review of its Chemistry and Applications. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, v. 46, p. 185–196.
- Hoek, C. Van den; Mann, D. G.; Jahns, H. M. (1995) *Algae: an introduction to phycology*. Cambridge: Cambridge University Press.
- 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". *Biotechnol Biofuels*. 12, 18.
- Hui, N.; He, G-Q; Ruan, H.; Chen, Q-H; Chen, F. (2005) "Application of derivative ratio spectrophotometry for determination of β -carotene and astaxanthin from *Phaffia rhodozyma* extract". *Journal of Zhejiang University Science*. v.6, n.6, p. 514-522.
- Hussein, G.; Sankawa, U.; Goto, H.; Matsumoto, K.; Watanabe, H. (2006) "Astaxanthin, a carotenoid with potential in human health and nutrition". *Journal of Natural Products*, 69, 443-449.

- Imamoglu, E.; Sukan, F.; Dalay, M. (2007) "Effect of different culture media and light intensities on growth of *Haematococcus pluvialis*". *International Journal of Natural and Engineering Sciences*, v. 1, n. 3, p. 5–9.
- Ip, P. F.; Wong, K. H.; Chen, F. (2004) "Enhanced production of astaxanthin by the green microalga *Chlorella zofingiensis* in mixotrophic culture". *Process Biochemistry*, v. 39, n. 11, p. 1761–1766.
- Ip, P.F.; Chen, F. (2005) "Employment of reactive oxygen species to enhance astaxanthin formation in *Chlorella zofingiensis* in heterotrophic culture". *Process Biochemistry*, v. 40, n. 11, p. 3491–3496.
- Katsuda, T.; Labappour, A.; Shimahara, K.; Katoh, S. (2004) "Astaxanthin production by *Haematococcus pluvialis* under illumination with LEDs". *Enzyme and Microbial Technology*, v. 35, n. 1, p. 81–86.
- Kidd, P. (2011) "Astaxanthin, cell membrane nutrient with diverse clinical benefits and anti-aging potential". *Altern Med Rev*. v. 16, p. 355-364.
- Kirk, J. T. O. (1983) *Light and photosynthesis in aquatic ecosystems*. Cambridge University Press.
- Kobayashi, M.; Kurimura, Y.; Kakizono, T.; Nishio, N.; Tsuji, Y. (1997a) "Morphological changes in the life cycle of the green alga *Haematococcus pluvialis*". *Journal of Fermentation and Bioengineering*, v. 84, n. 1, p. 94–97.
- Kobayashi, M.; Kurimura, Y.; Kakizono, T.; Nishio, N.; Tsuji, Y. (1997b) "Morphological Changes in the Life Cycle of the Green Alga *Haematococcus pluvialis*". *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 84, 94-97.
- Koller, M.; Muhr, A.; Braunegg, G. (2014) "Microalgae as versatile cellular factories for valued products", *Algal Res*. V.6, p. 52–63.
- Kusdiyantini, E.; Gaudin, P.; Goma, G.; Blanc, P. J. (1998) "Growth kinetics and astaxanthin production of *Phaffia rhodozyma* on glycerol as a carbon source during batch fermentation". *Biotechnology Letters*, v. 20, n. 10, p. 929–934.
- Lemoine, Y.; Schoefs, B. (2010) "Secondary ketocarotenoid astaxanthin biosynthesis in algae: a multifunctional response to stress". *Photosynthesis Research*, v. 106, n. 1-2, p. 155–177.
- Li, J.; Zhu, D.; Niu, J.; Shen, S.; Wang, G. (2011) "An economic assessment of astaxanthin production by large scale cultivation of *Haematococcus pluvialis*". *Biotechnology advances*, v. 29, n. 6, p. 568–374.
- Li, Z.; Wakao, S.; Fischer, B.B.; Niyogi, K.K. (2009) "Sensing and Responding to Excess Light". *Annu. Rev. Plant Biol.*, v. 60, p. 239–260.
- Lips, S. H.; Avissar, Y. J. (1990) "Photosynthesis and ultra structure in microalgae". *CRC Handbook of Microalgal Mass Culture*. Boca Raton, Florida: CRC Press. p.45–67.
- Litchman, E. (1998) "Population and community responses of phytoplankton to fluctuating light". *Oecologia*, v. 117, n. 1-2, p. 247–257.
- Liu, B. H.; Lee, Y. K. (2000) "Secondary carotenoids formation by the green alga *Chlorococcum* sp". *Journal of Applied Phycology*, v. 12, n. 3-5, p. 301–307.
- Lombardi, A. T.; Maldonado, M. T. (2011) "The effects of copper on the photosynthetic response of *Phaeocystis cordata*". *Photosynthesis Research*, v. 108, n. 1, p. 77–87.
- Lorenz, R. T.; Cysewski, G. R. (2000) "Commercial potential for *Haematococcus* microalgae as a natural source of astaxanthin". *Trends in Biotechnology*, v. 18, n. 4, p. 160–167.
- Lorenz, T. A (1999) "Technical Review of *Haematococcus* Algae". *NatuRoscaTH Tecnica Bdlain*, n,60.
- Lourenço, S. O. (2006) *Cultivo de microalgas marinhas: princípios e aplicações*. 1ª Ed. RiMa, São Carlos.
- Martins, C. S. B. (2014) Pontecial Biotecnológico de *Haematococcus pluvialis* (Flotow). 2014. Dissertação de Mestrado em Biodiversidade e Biotecnologia Vegetal. Universidade de Coimbra, Coimbra, PT.
- Masojídek, J.; Torzillo, G.; Koblížek, M. (2013) "Photosynthesis in Microalgae". In: A. Richmond; *Handbook of Microalgal Culture*. Blackwell Publishing Company, Iowa, USA, pp. 20-39
- Miao, F.; Lu, D.; Li, Y.; Zeng, M. (2006) "Characterization of astaxanthin esters in *Haematococcus pluvialis* by liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry". *Analytical biochemistry*, v. 352, n. 2, p. 176–81.
- Michalak, I.; Chojnacka, K. (2015) "Algae as production systems of bioactive compounds". *Eng. Life Sci*, 15, 160–176.
- Milledge, J.J. (2011) "Commercial application of microalgae other than as biofuels: a brief review". *Rev. Environ. Sci. Biotechnol*. V.10, n.1, p. 31–41.
- Nguyen, K. (2013) "Astaxanthin: a comparative case of synthetic vs. natural production." *Chem. Biomol. Eng. Publ. Other Works*, v. 1, n.1, p.1–11.
- Ni, H.; He, G.; Ruan, H.; Chen, Q.; Chen, F. (2005) "Application of derivative ratio spectrophotometry for determination of β -carotene and astaxanthin from *Phaffia rhodozyma* extract". *Journal of Zhejiang University. Science. B*, v. 6, n. 6, p. 514–522.
- Olaizola, M. (2003) "Commercial development of microalgal biotechnology: from the test tube to the marketplace". *Bio-molecular Engineering*, v. 20, n. 4-6, p. 459–466.
- Orosa, M.; Franqueira, D.; Cid, A.; Abalde, J. (2005) "Analysis and enhancement of astaxanthin accumulation in *Haematococcus pluvialis*". *Bioresource Technology*, v. 96, n. 3, p. 373–378.

- Orosa, M.; Torres, E.; Fidalgo, P.; Abalde, J. (2000) "Production and analysis of secondary carotenoids in green algae". *Journal of Applied Phycology*, v. 12, n. 3-5, p. 553–556.
- Panis, G.; Rosales-Carreón J. (2016) "Commercial astaxanthin production derived by green alga *Haematococcus pluvialis*: A microalgae process model and a techno-economic assessment all through production line". *Algal Research*, v. 18, p. 175–190.
- Pérez-López, P.; González-García, S.; Jeffryes, C.; Agathos, S.N.; Mchugh, E.; Walsh, D.; Moreira, M.T. (2014) "Life cycle assessment of the production of the red antioxidant carotenoid astaxanthin by microalgae: from lab to pilot scale". *J. Clean. Prod.*, v.64, p.332-344.
- Plaza, M.; Cifuentes, A.; Ibañez, E. (2008) "In the search of new functional food ingredients from algae". *Trends Food Sci. Technol.* v. 19, p. 31–39.
- Rao, A.V.; Rao, L.G. (2007) "Carotenoids and human health". *Pharmacol. Res.*, v. 55, p. 207–216.
- Reyes, F.A.; Mendiola, J.A.; Ibañez, E.; Del Valle, J.M. (2014) "Astaxanthin extraction from *Haematococcus pluvialis* using CO₂-expanded ethanol". *J. Supercrit. Fluids*, v. 92, p. 75–83.
- Richmond, A. (2004) *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. Blackwell Publishing Ltd.
- Rousch, J. M.; Bingham, S. E.; Sommerfeld, M. R. (2003) "Changes in fatty acid profiles of thermo-intolerant and thermo-tolerant marine diatoms during temperature stress". *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v. 295, n. 2, p. 145–156.
- Ruiz-Domínguez, M. C.; Espinosa, C. Paredes, A.; Palma, J.; Jaime, C.; Vilchez, C.; Cerezal, P. (2019) "Determining the Potential of *Haematococcus pluvialis* Oleoresin as a Rich Source of Antioxidants". *Molecules*, 24, 4073.
- Saini, R.K.; Keum, Y.-S. (2018) "Carotenoid extraction methods: A review of recente developments". *Food Chem.*, v. 240, p. 90–103.
- Santos, A.C. (2015) Estudo ecofisiológico de *Haematococcus pluvialis*. Tese de Doutorado em Ciências). UFSCar, São Carlos.
- Sarada, R.; Tripathi, U.; Ravishankar, G. A.; (2002) "Influence of stress on astaxanthin production in *Haematococcus pluvialis* grown under different culture conditions". *Process Biochemistry*, v. 37, n. 6, p. 623–627.
- Schmidt, I.; Schewe, H.; Gassel, S.; Jin, C.; Buckingham, J.; Hümbelin, M.; Sandmann, G.; Schrader, J. (2011) "Biotechnological production of astaxanthin with *Phaffia rhodozyma*/*Xanthophyllomyces dendrorhous*". *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 89, n. 3, p. 555–571.
- Schütz, F.E. (2014) Obtenção de extratos secos a partir da biomassa da microalga *Haematococcus pluvialis* por secagem em torre de aspersão (spray-drying). Dissertação de Mestrado Mestre em Farmácia, Área de concentração FÁRMACOS e Medicamentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.
- Sébert, S.P.; Hyatt, M.A.; Chan, L.L.; Yiallourides, M.; Fainberg, H.P.; Patel, N. et al. (2010) "Influence of prenatal nutrition and obesity on tissue specific fat mass and obesity-associated (FTO) gene expression". *Reproduction*; v. 139 p. 265–274.
- Spolaore, P.; Joannis-Cassan, C.; Duran, E.; Isambert, A. (2006) "Commercial applications of microalgae". *J. Biosci. Bioeng.*, v. 101, p. 87–96.
- Sun, N.; Wang, Y.; Li, Y.-T.; Huang, J.-C.; Chen, F. (2008) "Sugar-based growth, astaxanthin accumulation and carotenogenic transcription of heterotrophic *Chlorella zofingiensis* (Chlorophyta)". *Process Biochemistry*, v. 43, n. 11, p. 1288–1292.
- Talukdar, J.; Bhadra, B.; Dasgupta, S.; Nagle, V. (2020a). Potential of natural astaxanthin in alleviating the risk of cytokine storm and improve health in COVID-19: A scoping review. Available in: < <https://www.researchsquare.com/article/rs-26458/v1>>. Access in: 12 jun. 2020.
- Talukdar, J.; Dasgupta, S.; Nagle, V.; Bhadra, B. (2020b). COVID-19: Potential of microalgae derived natural astaxanthin as adjunctive supplement in alleviating cytokine storm. Available in: < <https://osf.io/yahd4/>>. Access in: 12 jun. 2020.
- Torzillo, G.; Göksan, T.; Isik, O.; Gökpınar, Ş. (2005) "Photon irradiance required to support optimal growth and interrelations between irradiance and pigment composition in the green alga *Haematococcus pluvialis*". *European Journal of Phycology*, v. 40, n. 2, p. 233–240.
- Tran, H.D.; Do, T.T.; Le, T.L.; Tran-Nguyen, M.L.; Pham, C.H.; Melkonian, M. (2019). "Cultivation of *Haematococcus pluvialis* for astaxanthin production on angled bench-scale and large-scale biofilm-based photobioreactors". *Vietnam Journal of Science, Technology and Engineering*. 61. 60–69.
- Tzovenis, I.; Pauw, N. DE; Sorgeloos, P. (2003) "Optimisation of T-ISO biomass production rich in essential fatty acids: II. Effect of different light regimes on the production of fatty acids". *Aquaculture*, v. 216, n. 1-4, p. 223–242.
- Valduga, E.; Tatsch, P. O.; Tiggemann, L.; Treichel, H.; Toniazzo, G.; Zeni, J.; Luccio, M.; Furigo JR, A. (2009) "Carotenoids production: microorganisms as source of natural dyes". *Química Nova*, v. 32, n. 9, p. 2429–2436.
- Varela, J.C.; Pereira, H.; Vila, M.; León, R. (2015) "Production of carotenoids by microalgae: Achievements and challenges". *Photosynth. Res.* V. 125, p. 423–436.
- Vonshak, A.; Torzillo, G. (2004) "Environmental Stress Physiology". In: A. Richmond; *Handbook of Microalgal Culture*. Blackwell Publishing Company, Iowa, USA, pp. 57–99.
- Yamane, Y. I.; Higashida, K.; Nakashimada, Y.; Kakizono, T.; Nishio, N. (1997) "Influence of oxygen and glucose on primary metabolism and astaxanthin production by *Phaffia rhodozyma*

ma in batch and fed-batch cultures: Kinetic and stoichiometric analysis". *Applied and Environmental Microbiology*, v. 63, n. 11, p. 4471–4478.

Yang, Y.; Kim, B.; Lee, J.Y. (2013) "Astaxanthin Structure, Metabolism, and Health Benefits". *J Hum Nutr Food Sci.*, 1: 1003.

Yao, J., H. S. Kim, J. Y. Kim, Y.-E. Choi and J. Park (2020). "Mechanical stress induced astaxanthin accumulation of *H. pluvialis* on a chip." *Lab on a Chip* 20(3): 647-654.

Yen, H.W.; Yang, S.C.; Chen, C.H.; Chang, J.S. (2015) "Supercritical fluid extraction of valuable compounds from microalgal biomass". *Bioresour. Technol.* v. 184, p. 291–296.

Yoshihiro, Y.; Kashino, Y.; Koike, H.; Satoh, K. (1997) "Increases in the fluorescence Fo level and reversible inhibition of photosystem II reaction center by high-temperature treatments in higher plants". *Photosynthesis Research*, v. 52, n. 1, p. 57–64.

Yuan, J. P.; Peng, J.; Yin, K.; Wang, J. H. (2011) "Potential health-promoting effects of astaxanthin: a high-value carotenoid mostly from microalgae". *Mol Nutr Food Res.* v. 55, p. 150-165.

Yuan, J.P.; Chen, F.; Liu, X.; Li, X. Z. (2002) "Carotenoid composition in the green microalga *Chlorococum*". *Food Chemistry*, v. 76, n. 3, p. 319–325.

Zhang, B. Y.; Geng, Y. H.; Li, Z. K.; Hu, H. J.; Li, Y. G. (2009) "Production of astaxanthin from *Haematococcus* in open pond by two-stage growth one-step process". *Aquaculture*, v. 295, n. 3-4, p. 275–281.

Zhang, W.; Wang, J.; Wang, J.; Liu, T. (2014) "Attached cultivation of *Haematococcus pluvialis* for astaxanthin production". *Bioresour. Technol.*, v. 158, p. 329–335.

Recebido: 15 jun. 2020

Aprovado: 02 out. 2020

DOI: 10.20985/1980-5160.2020.v15n3.1651

Como citar: Souza, R.L.M.; Vianna, W.K.R.; Moreira, M.S.M. et al. (2020). Inovações tecnológicas no cultivo da microalga *Haematococcus pluvialis*: revisão. *Revista S&G* 15, 3, 223-234. <https://revistasg.emnuvens.com.br/sg/article/view/1651>