

# Producción de clorofila y astaxantina a partir de la microalga *Haematococcus pluvialis* bajo estrés inducido por deficiencia de nitrógeno en el biorreactor Biostat Aplus de 5 litros



## AUTORAS

Yazmin Ayala Agudelo  
Erika Tatiana Pérez Zambrano

---

## ASESORA

Ana Graciela Lancheros

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca  
Facultad de Ciencias de la Salud  
Bacteriología y Laboratorio Clínico  
Bogotá D.C  
2019

# Antecedentes

## **Effect of Different Culture Media and Light Intensities on Growth of *Haematococcus pluvialis***

Esra IMAMOGLU,

Fazilet VARDAR SUKAN,

Meltem CONK DALAY\*

Ege University, Faculty of Engineering, Department of Bioengineering, 35100 Bornova, Izmir, TURKEY.

## **Enhanced production of astaxanthin at different physico-chemical parameters in the green alga *Haematococcus pluvialis* Flotow**

S. Nagaraj<sup>a\*</sup>, P. Arulmurugan<sup>a</sup>, M. G. Rajaram<sup>a</sup>, R. Sundararaj<sup>b</sup> and R. Rengasamy<sup>a</sup>

## **Producción de Astaxantina en *Haematococcus pluvialis* bajo diferentes condiciones de estrés<sup>1</sup>**

Judith Elena Camacho Kurmen<sup>1</sup>, Gloria González<sup>2</sup>, Bernadette Klotz<sup>2</sup>

# **Evaluación del crecimiento y producción de astaxantina por *Haematococcus pluvialis* en un fotobiorreactor tipo airlift.**

**Daniel Mauricio Ramírez Landínez, Ing. Qco.**

## **EFFECTOS DE LA CONCENTRACIÓN INICIAL DE NITRÓGENO EN EL MEDIO DE CULTIVO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE ASTAXANTINA A PARTIR DE *HAEMATOCOCCUS PLUVIALIS***

Espinaco Brenda Yanina.

*Laboratorio de Operaciones y Procesos Biotecnológicos. FCB*

## **Evaluación de las condiciones de crecimiento celular para la producción de astaxantina a partir de la microalga *Haematococcus pluvialis***

Evaluation of Cell Growth Conditions for the Astaxanthin Production as of *Haematococcus pluvialis* Microalgae

Clara Milena Niño Castillo<sup>1</sup>, Francis Carolina Rodríguez Rivera<sup>1</sup>, Luis Eduardo Díaz<sup>2</sup>, Ana Graciela Lancheros Díaz<sup>3</sup>

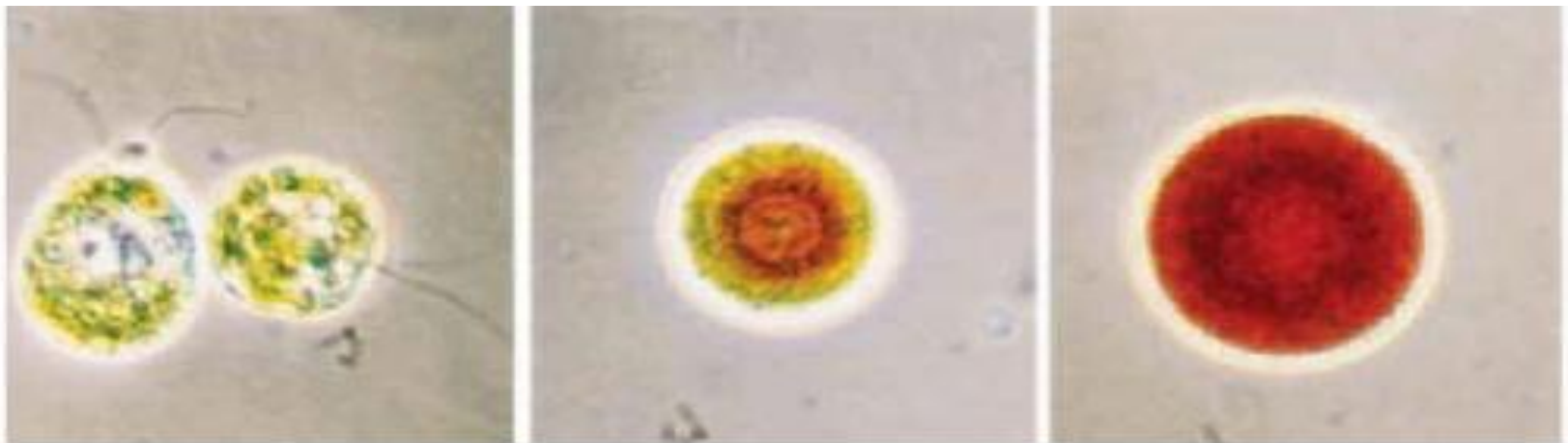
# Marco referencial

## Microalga *Haematococcus pluvialis*

CLASE----- *Chlorophyceae*  
ORDEN----- *Volvocales*  
FAMILIA----- *Haematococcaceae*  
GÉNERO----- *Haematococcus*  
ESPECIE----- *pluvialis*

microalga unicelular de agua dulce, con un tamaño entre 8,0 y 50,0 Pm

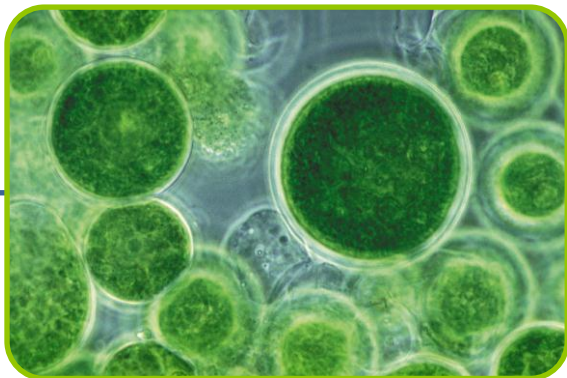
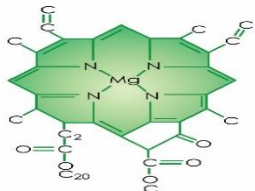
### Ciclo de vida de *Haematococcus Pluvialis*



# Marco referencial

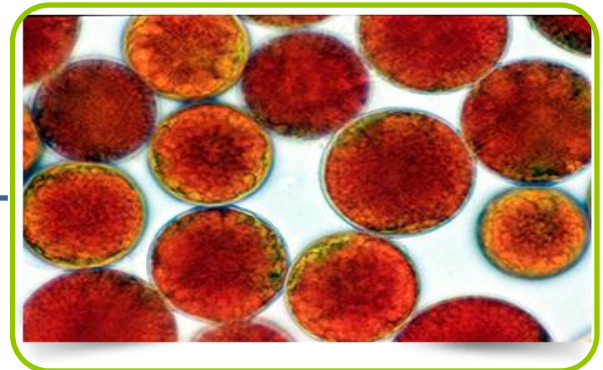
## CLOROFILA

Es una biomolécula presente en la biomasa de plantas y microalgas



## ASTAXANTINA

Es un pigmento de color rojo producido principalmente por la microalga *Haematococcus pluvialis*







# Pregunta problema

¿Qué implicaciones tiene la concentración de nitrógeno como factor de crecimiento y estrés en la microalga *Haematococcus pluvialis* para la producción de astaxantina y clorofila?



# Objetivos

## GENERAL

Evaluar la concentración de nitrógeno como factor de estrés en la microalga *Haematococcus pluvialis* para la producción de astaxantina y clorofila en el biorreactor BIOSTAT Aplus de 5.0 litros

## ESPECÍFICOS

Determinar cuantitativamente la producción de astaxantina y clorofila con una concentración del 100% de nitrógeno en el medio RM.

Determinar cuantitativamente la producción de astaxantina y clorofila con una concentración del 4.0% de nitrógeno en el medio RM.

Determinar cuantitativamente la producción de astaxantina y clorofila con una concentración del 5.0% de nitrógeno en el medio RM.

Establecer las condiciones ideales bajo factores de estrés de la microalga *Haematococcus pluvialis* para la producción de astaxantina y clorofila en el biorreactor BIOSTAT Aplus.

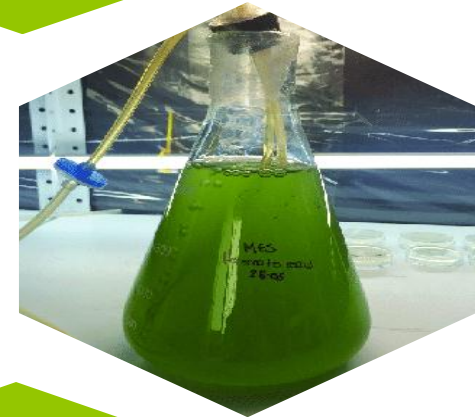


# Diseño Metodológico



Revisión  
bibliográfica

-Medio de cultivo RM  
-Agitación constante  
-Irradianza  
 $70\mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}$



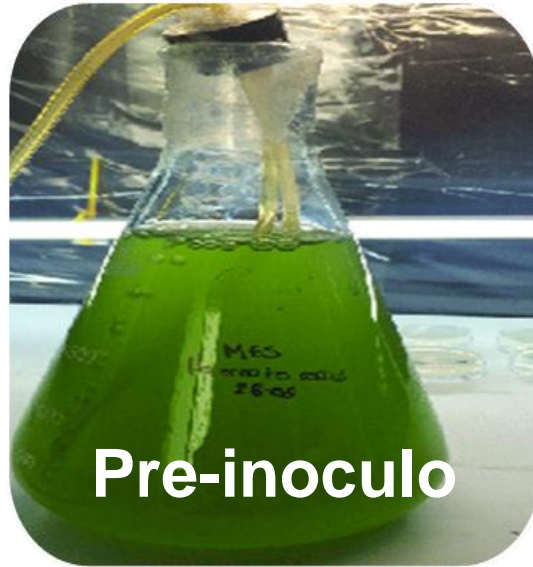
-Concentración  
de nitrógeno  
- pH  
-Periodos de  
luz/oscuridad



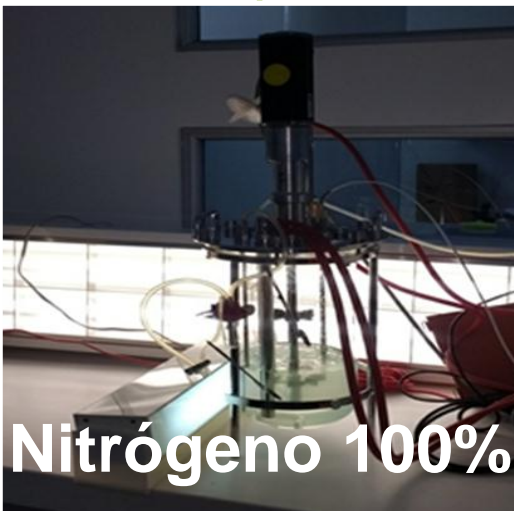
# Biorreactor BIOSTAT Aplus 5L



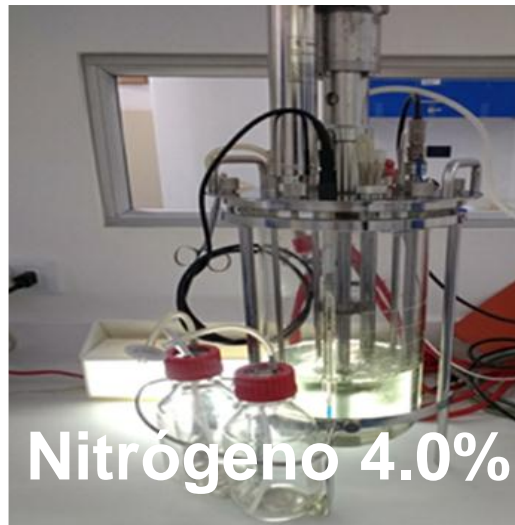
# Diseño Metodológico



Pre-inoculo



Nitrógeno 100%



Nitrógeno 4.0%



Nitrógeno 5.0%

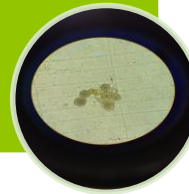
# Diseño Metodológico



Medición de pH



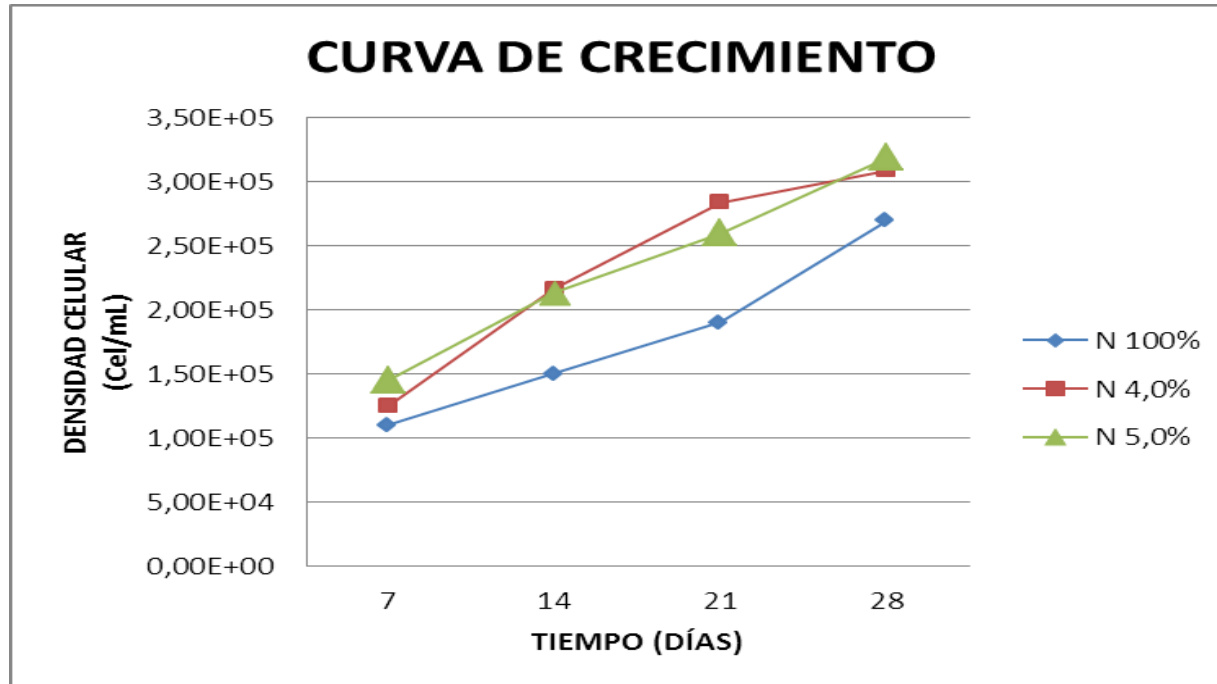
Conteo en cámara de Neubauer



Extracción y Cuantificación de Clorofila y Astaxantina



# Resultados y Discusión



Concentración de Nitrógeno	N° DATOS	DATO MINIMO	DATO MAXIMO	VELOCIDAD DE CRECIMIENTO (cel/día)	COEFICIENTE DE DETERMINACIÓN
100%	4	11	27	0,034	96%
4,0%	4	11	30	0,039	94%
5,0%	4	11	31	0,040	99%



# Resultados y Discusión

*International Journal of Natural and Engineering Sciences 1 (3): 05-09, 2007*

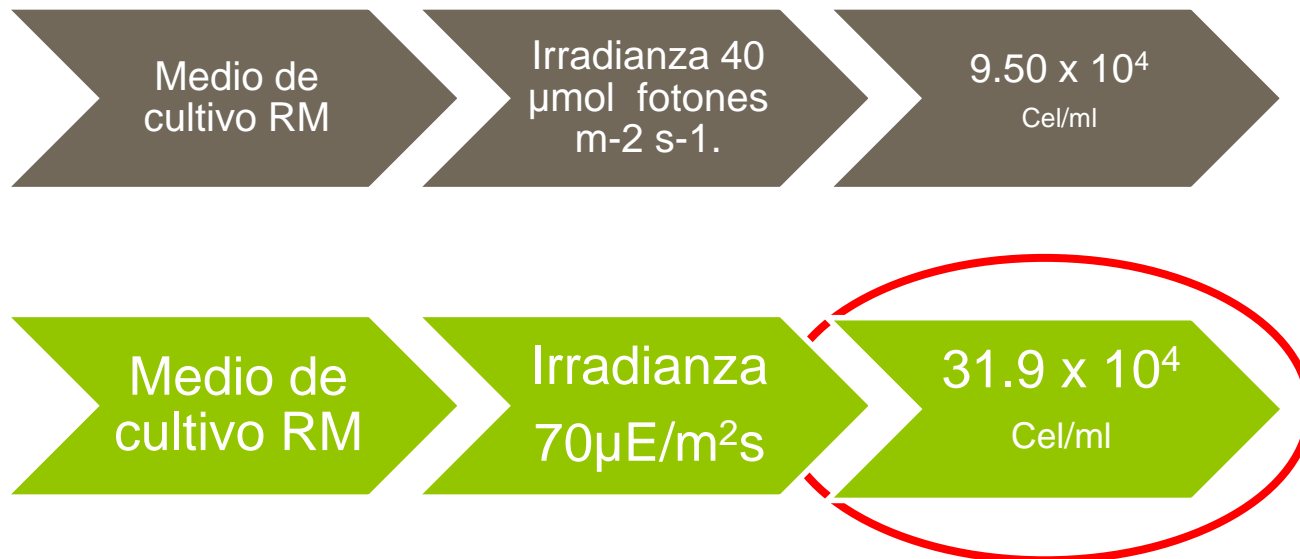
## **Effect of Different Culture Media and Light Intensities on Growth of *Haematococcus pluvialis***

Esra IMAMOGLU,

Fazilet VARDAR SUKAN,

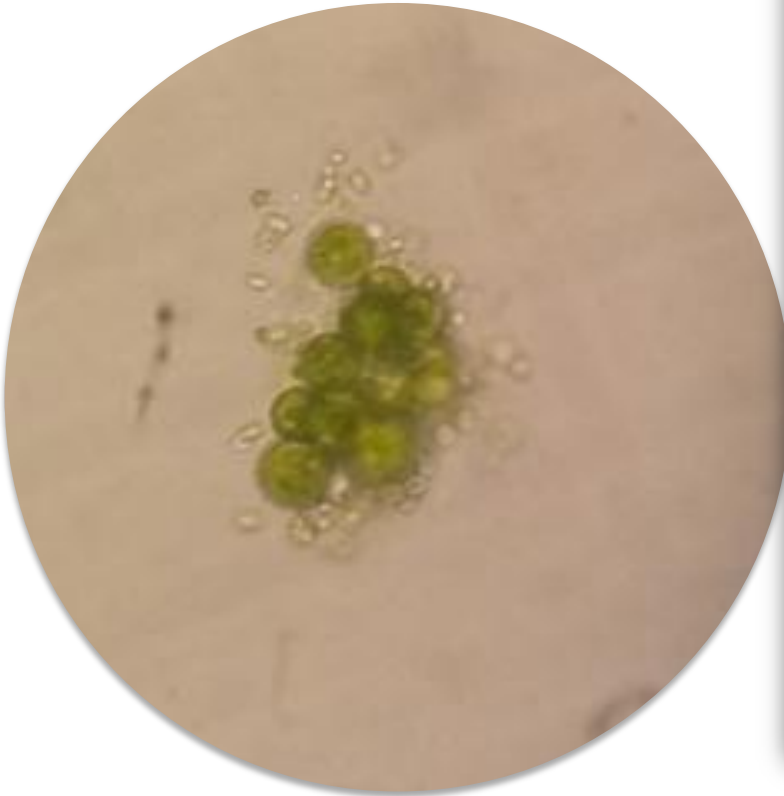
Meltem CONK DALAY\*

Ege University, Faculty of Engineering, Department of Bioengineering, 35100 Bornova, Izmir, TURKEY.

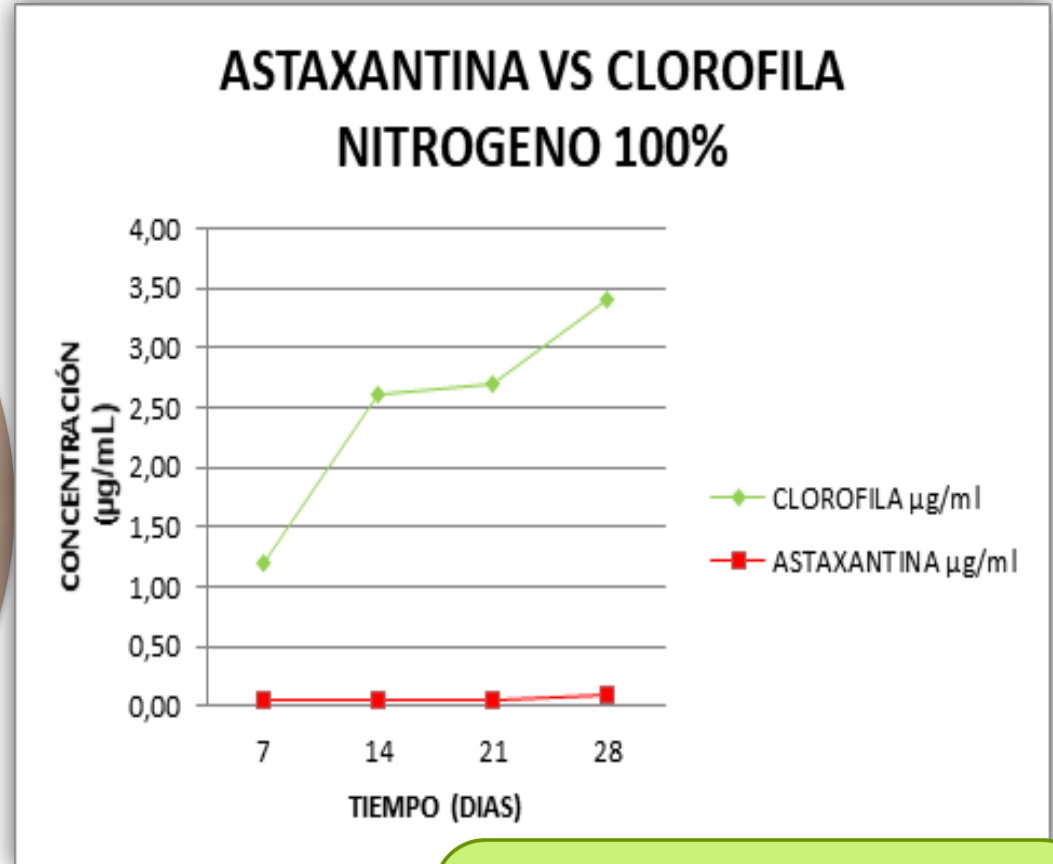




# Resultados y Discusión

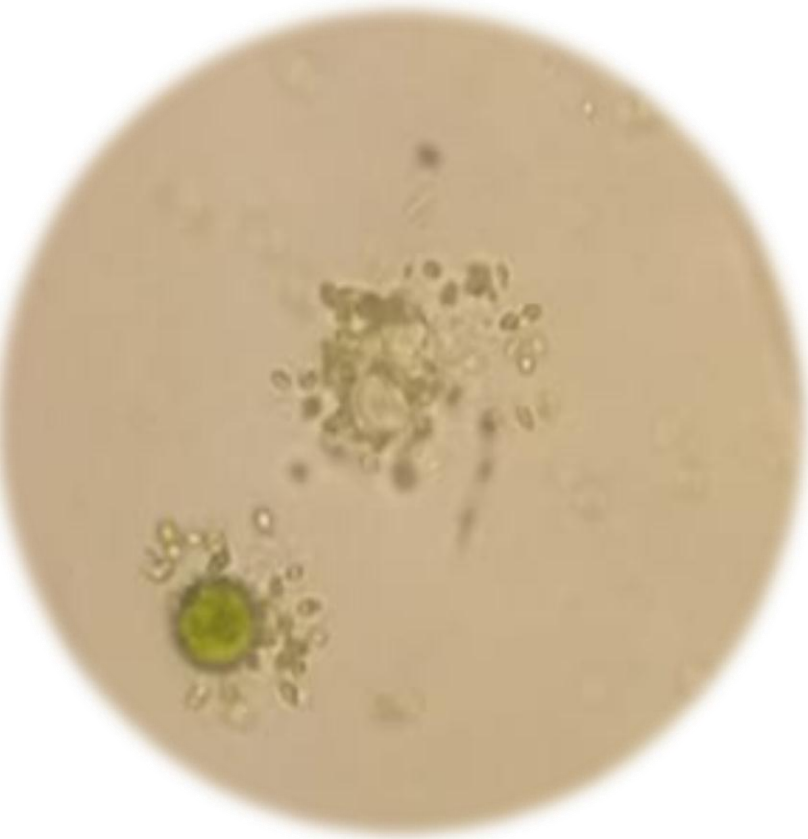


Microalga *Haematococcus pluvialis* 40x

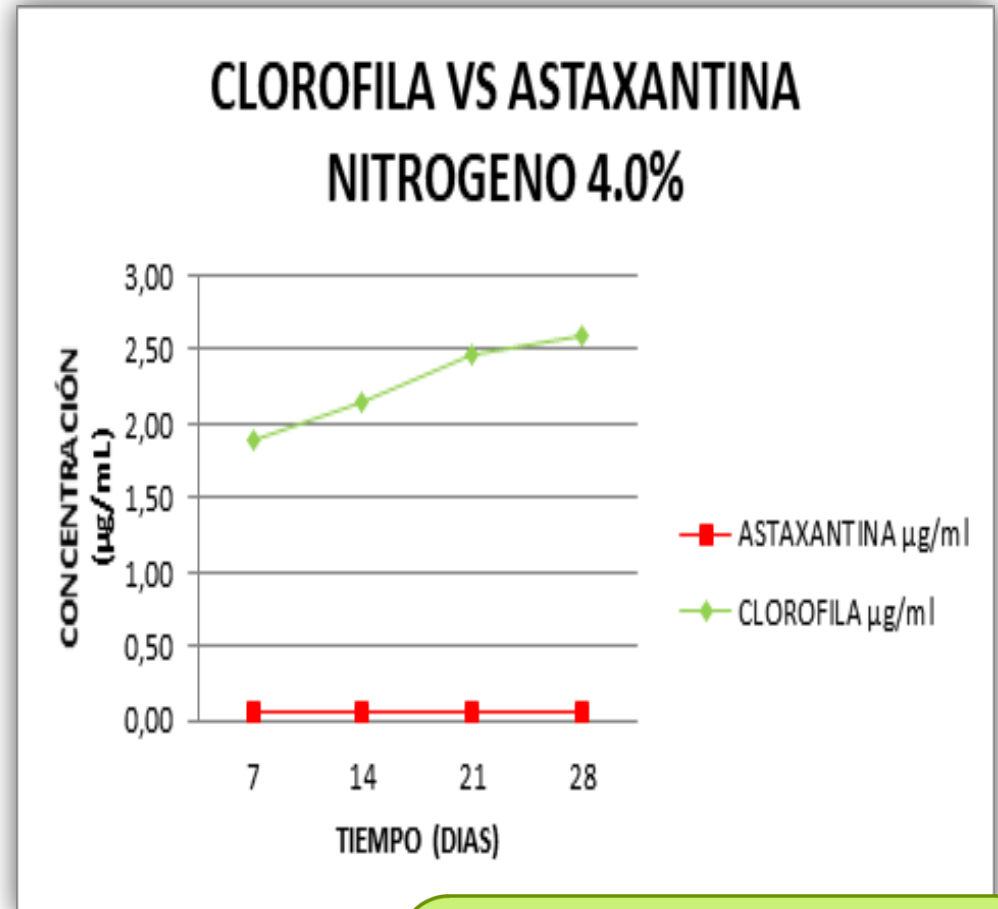


**OBJETIVO No. 1**  
Determinar cuantitativamente la producción de astaxantina y clorofila con una concentración del 100% de nitrógeno en el medio RM.

# Resultados y Discusión

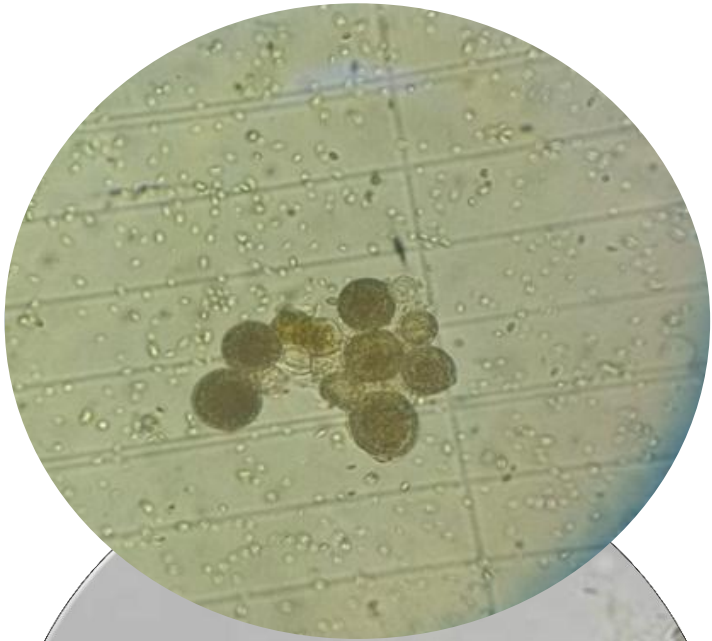


Microalga *Haematococcus pluvialis* 40x

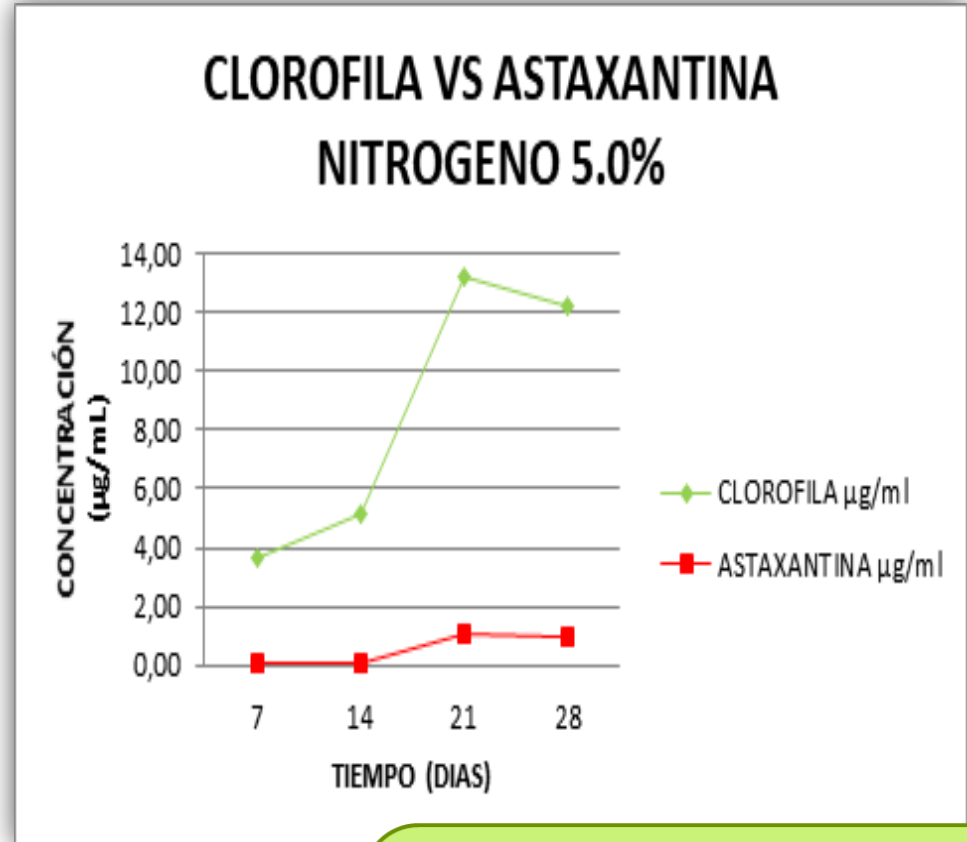


**OBJETIVO No. 2**  
Determinar cuantitativamente la producción de astaxantina y clorofila con una concentración del 4.0% de nitrógeno en el medio RM.

# Resultados y Discusión



Microalga *Haematococcus pluvialis* 40x



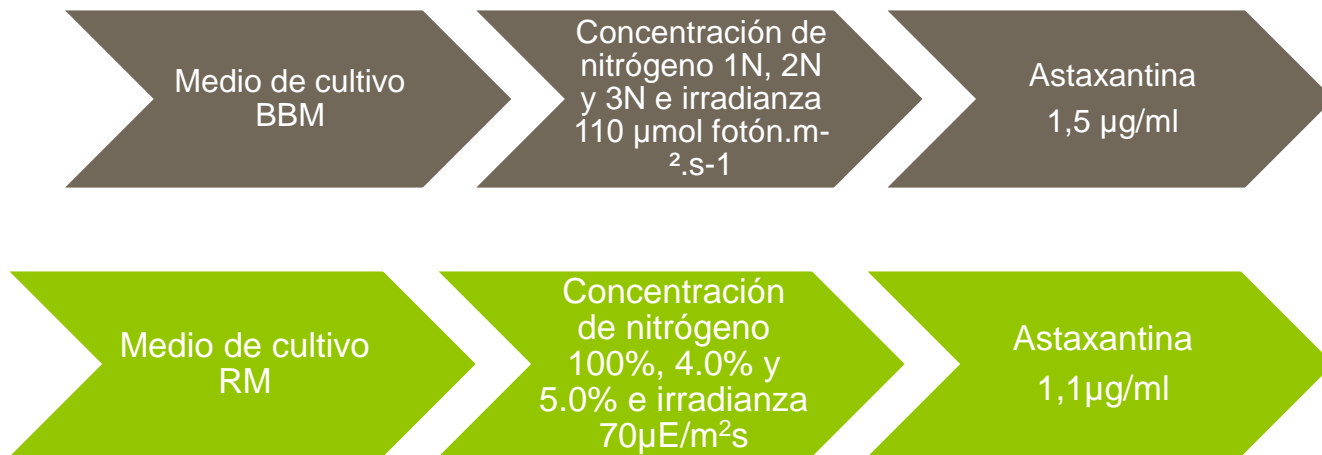
**OBJETIVO No. 3**  
Determinar cuantitativamente la producción de astaxantina y clorofila con una concentración del 5.0% de nitrógeno en el medio RM.

# Resultados y Discusión

## EFFECTOS DE LA CONCENTRACIÓN INICIAL DE NITRÓGENO EN EL MEDIO DE CULTIVO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE ASTAXANTINA A PARTIR DE *HAEMATOCOCCUS PLUVIALIS*

Espinaco Brenda Yanina.

*Laboratorio de Operaciones y Procesos Biotecnológicos. FBCB*

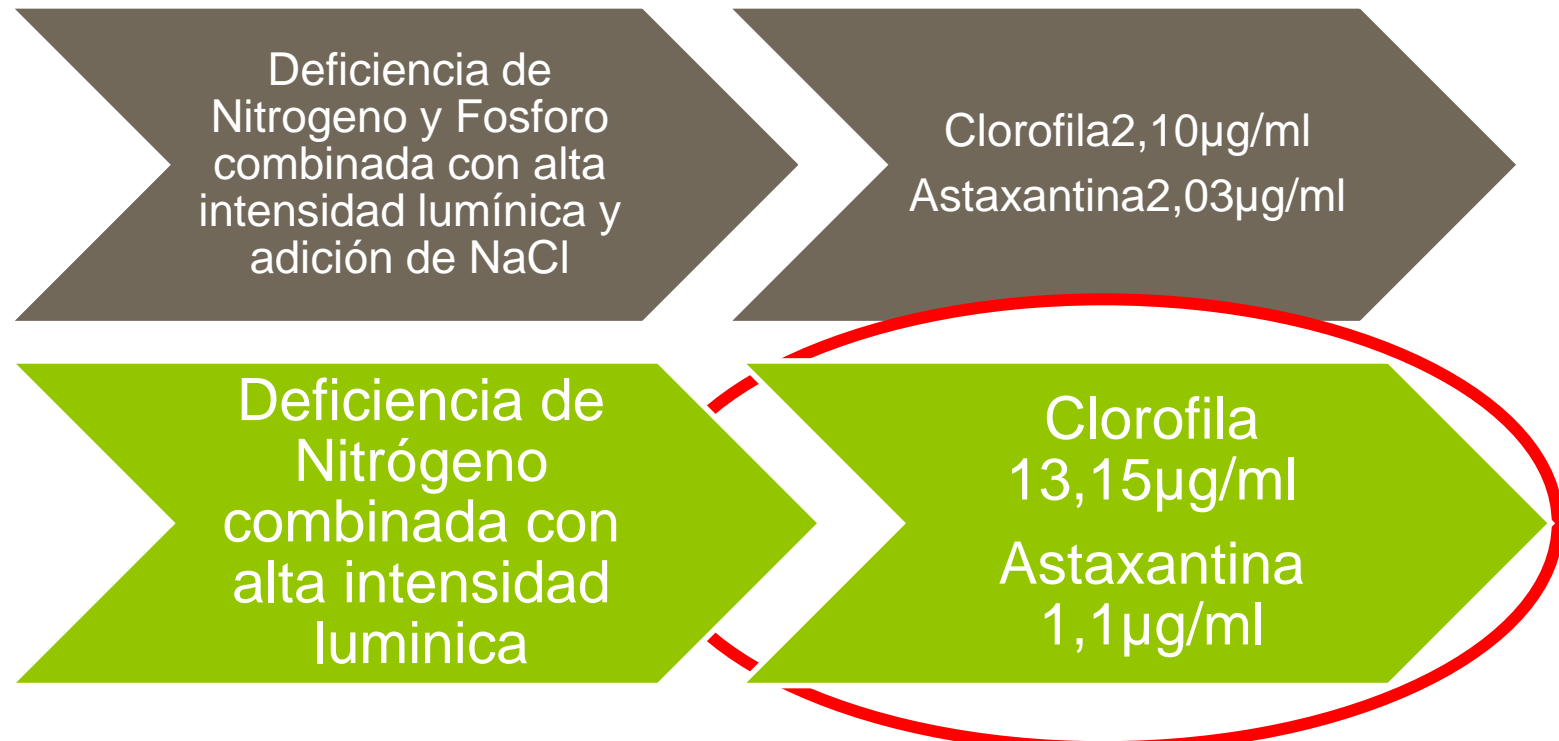


# Resultados y Discusión

## FOTOPRODUCCIÓN DE ASTAXANTINA A PARTIR DE *Haematococcus pluvialis*

Margarita Salazar, Oscar Monroy, Fátima Cuevas, Ricardo Beristain, Carlos Mendoza

UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA DEPTO. DE BIOTECNOLOGÍA. APDO. P. 55-535. 09340



# Resultados y Discusión

## Research Article

Algae 2013, 28(2): 193-202  
<http://dx.doi.org/10.4490/algae.2013.28.2.193>

Open Access



Combined effect of initial biomass density and nitrogen concentration on growth and astaxanthin production of *Haematococcus pluvialis* (Chlorophyta) in outdoor cultivation

Junfeng Wang<sup>1,2,a</sup>, Milton R. Sommerfeld<sup>1</sup>, Congming Lu<sup>2</sup> and Qiang Hu<sup>1,\*</sup>

Medio de cultivo  
BG11

pH 7,0 a 8,0,  
irradiación 30  $\mu\text{mol}$   
 $\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , Nitrógeno  
de 0%, 5.4%,  
8.4% y 17,6%

Astaxantina  
2,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$   
Nitrógeno 5,4%

Medio de cultivo  
RM

pH 5,7 a 6,3,  
irradiación  
70 $\mu\text{E}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ ,  
Nitrógeno 100%,  
5.0% y 4.0%

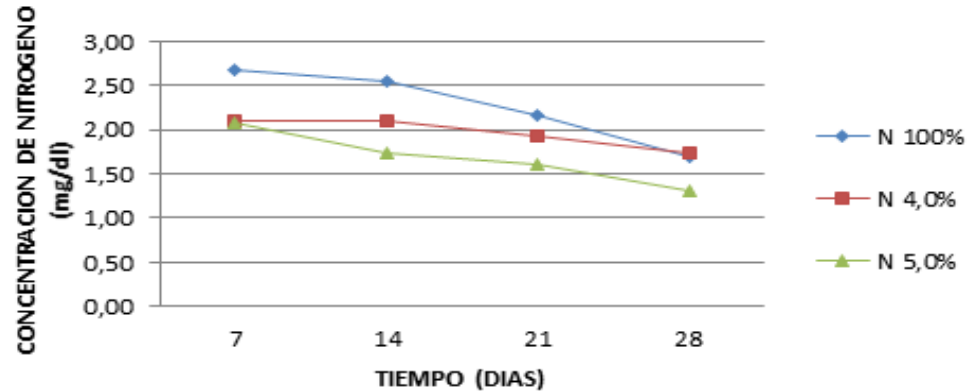
Astaxantina  
1.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$   
Nitrógeno 5.0%



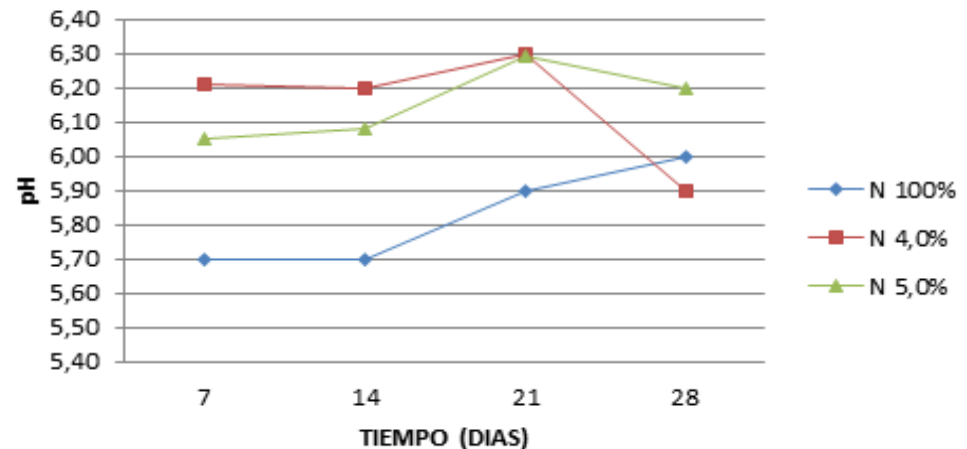
# Resultados y Discusión

**OBJETIVO No. 4**  
Establecer las condiciones ideales bajo factores de estrés de la microalga *Haematococcus pluvialis* para la producción de astaxantina y clorofila en el biorreactor BIOSTAT Aplus.

## CONCENTRACION DE NITROGENO EN EL MEDIO DE CULTIVO RM



## Curva de pH



# Resultados y Discusión

## Evaluación de las condiciones de crecimiento celular para la producción de astaxantina a partir de la microalga *Haematococcus pluvialis*

Evaluation of Cell Growth Conditions for the Astaxanthin Production as of *Haematococcus pluvialis* Microalgae

Clara Milena Niño Castillo<sup>1</sup>, Francis Carolina Rodríguez Rivera<sup>1</sup>, Luis Eduardo Díaz<sup>2</sup>, Ana Graciela Lancheros Díaz<sup>3</sup>

- Medio de cultivo RM
- pH 6,7 a 7,0
- 16 horas luz 8 horas oscuridad
- Irradianza 70 $\mu$ E/m<sup>2</sup>s

- Medio de cultivo RM
- Concentración de nitrógeno 5.0%
- pH 5,7 a 6,3
- 20 horas luz 4 horas oscuridad
- Irradianza 70 $\mu$ E/m<sup>2</sup>s

# Conclusiones

- De acuerdo a los resultados obtenidos en el trabajo se pudo determinar que con una concentración de nitrógeno del 100% en el medio de cultivo la microalga *Haematococcus pluvialis* no se encuentra sometida a condiciones de estrés para la formación de células en forma de quistes productoras de astaxantina.
- En este trabajo se evaluó la concentración de nitrógeno como factor de estrés en la microalga *Haematococcus pluvialis* para la producción de astaxantina y clorofila, en la cual se determinó que a una concentración de 5.0% de nitrógeno la microalga tenía un mayor rendimiento tanto a nivel vegetativo como en obtención de metabolitos.
- Se calculó la producción de astaxantina en diferentes concentraciones de nitrógeno, determinando que la mayor producción de este carotenoide se dio en el medio RM, con el tratamiento del 5.0% de nitrógeno cuyo nivel de astaxantina fue de 1,1µg/ml.

# Conclusiones

- Se calculó la producción de clorofila en diferentes concentraciones de nitrógeno, determinando que la mayor concentración de este pigmento se dio en el medio RM, con el tratamiento del 5.0% de nitrógeno cuyo nivel de clorofila fue de 13,15  $\mu\text{g/ml}$ .
- Al evaluar los efectos de irradianza, agitación, deficiencia de nutrientes y pH, se estableció que es importante tener en cuenta una agitación constante en el medio, fotoperiodos de 20 horas luz y 4 oscuridad y un pH entre 5.0 a 7.0, para que el microorganismo entre en un cambio morfológico y producción de metabolitos.

# Perspectivas

- Evaluación de la concentración de otros nutrientes importantes para el crecimiento y estrés de la microalga *Haematococcus pluvialis* como deficiencia del fosforo o adición de cloruro de sodio (NaCl) en el medio de cultivo de la microalga.
- Cuantificación de clorofila y astaxantina usando otras técnicas como cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC).
- Identificación de genes de la microalga *Hematococcus pluvialis* que se expresan cuando hay producción de metabolitos.



## I ENCUENTRO DE SEMILLEROS DE INVESTIGACIÓN CAMPUS SUBA

La Universitaria Agustiniiana y la Vicerrectoría de Investigaciones

certifican que:  
Yazmin Ayala Agudelo

CC 1104700257

Participó en calidad de ponente en el I encuentro de semilleros de investigación Campus Suba 2018, que se llevó a cabo el 26 de octubre de 2018, en la UNIAGUSTINIANA,

con su ponencia:  
Producción de clorofila y astaxantina a partir de la microalga Haematococcus pluvialis bajo estrés inducido por deficiencia de nitró

MAURICIO RINCÓN MORENO  
Director de Investigaciones



VICERRECTORÍA DE INVESTIGACIONES

Registra-Administración, Registro Único de Identificación de Personas, Resolución No. 0001 del 2018. Resolución No. 0001 del 2018.



## I ENCUENTRO DE SEMILLEROS DE INVESTIGACIÓN CAMPUS SUBA

La Universitaria Agustiniiana y la Vicerrectoría de Investigaciones

certifican que:  
Erika Tatiana Pérez Zambrano

CC 1014276537

Participó en calidad de ponente en el I encuentro de semilleros de investigación Campus Suba 2018, que se llevó a cabo el 26 de octubre de 2018, en la UNIAGUSTINIANA,

con su ponencia:  
Producción de clorofila y astaxantina a partir de la microalga Haematococcus pluvialis bajo estrés inducido por deficiencia de nitró

MAURICIO RINCÓN MORENO  
Director de Investigaciones



VICERRECTORÍA DE INVESTIGACIONES

Registra-Administración, Registro Único de Identificación de Personas, Resolución No. 0001 del 2018. Resolución No. 0001 del 2018.







## I ENCUENTRO DE SEMILLEROS DE INVESTIGACIÓN CAMPUS SUBA

La Universitaria Agustiniiana y la  
Vicerrectoría de Investigaciones otorgan

### *RECONOCIMIENTO ESPECIAL A LA PONENCIA:*

Producción de clorofila y astaxantina a partir de la microalga *Haematococcus pluvialis*  
bajo estrés inducido por deficiencia de nitrógeno en el biorreactor

---

Por distinción meritoria en la mesa temática:

Ingenierías, ciencias básicas y de la salud

---

En el I encuentro de semilleros de Investigación Campus Suba 2018,  
que se llevó a cabo el 26 de octubre de 2018, en la UNIAGUSTINIANA.

MAURICIO RINCÓN MORENO  
Director de Investigaciones

# Referencias Bibliográficas

1. Islam M, Gracia F. los antioxidantes para la salud óptima. revista médico científica 2013;26(2):3-9.
2. Reardon W, Troxler S. ¿por qué la clorofila es saludable?. North Carolina Department of Agriculture and Consumer Services. Food and Drug Protection Division.
3. Morales H, Jearim K, Morales P, Eugenia M, Jáuregui Romo C, Jurado A, et al. Condiciones de producción de astaxantina por *Haematococcus pluvialis*: Revisión bibliográfica 2003-2013. Revista mexicana de ciencias farmacéuticas 2015 03;46(1):7-16.
4. Choi, Yun Y, Park J. Evaluation of Factors Promoting Astaxanthin Production by a Unicellular Green Alga, *Haematococcus pluvialis*, with Fractional Factorial Design. Biotechnol. Prog 2002. 1170:1175
5. Imamoglu E, Fazilet v, Dalay M. Effect of different culture media and light intensities on growth of *Haematococcus pluvialis*. Int J Nat Eng Sci 2007 January 1,;1:5.
6. Han D, Wang J, Sommerfeld M, Hu Q. susceptibility and protective mechanisms of motile and non motile cells of *Haematococcus pluvialis* (chlorophyceae) to photooxidative stress(1). J Phycol 2012 Jun;48(3):693-705.
7. Nagaraja S, Arulmurugana P, Rajarama M, Sundararajband R, Rengasamy R. Enhanced production of astaxanthin at different physico-chemical parameters in the green alga *Haematococcus pluvialis* in flow. Phykos 2012;42(1):59-71.
8. Junfeng W, Sommerfeld R, Congming L, Qiang H. Combined effect of initial biomass density and nitrogen concentration on growth and astaxanthin production of *Haematococcus pluvialis* (Chlorophyta) in outdoor cultivation. ALGAE, ALGAE ;28(2):193-202.
9. Camacho J, González G, Klotz B. Producción de Astaxantina en *Haematococcus pluvialis* bajo diferentes condiciones de estrés; NOVA 2013;11(19).
10. Zou T, Jia Q, Li H, Wang C, Wu H. Response Surface Methodology for Ultrasound-Assisted Extraction of Astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*. Mar Drugs. 2013 May.
11. Gomez P, Inostroza I, Pizarro M, Perez J. From genetic improvement to commercial-scale mass culture of a Chilean strain of the green microalga *Haematococcus pluvialis* with enhanced productivity of the red ketocarotenoid astaxanthin. Aob PLANTS 5: plt026. May 2013:7
12. Gu W, Xie X, Gao S, Zhou W, Pan G, Wang G. Comparison of Different Cells of *Haematococcus pluvialis* Reveals an Extensive Acclimation Mechanism during its Aging Process: From a Perspective of Photosynthesis. Plos ONE 8(6): e67028. Jun 2013. 1.10.
13. Ambati RR, Phang S, Ravi S, Aswathanarayana RG. Astaxanthin: Sources, Extraction, Stability, Biological Activities and Its Commercial Applications—A Review. Marine Drugs 2014 -01-07;12(1):128-152.

# Referencias Bibliográficas

14. Dong S, Huang Y, Zhang R, Wang S, Liu Y. Four Different Methods Comparison for Extraction of Astaxanthin from Green Alga *Haematococcus pluvialis*. *The Scientific World Journal* 2014;2014:1-7.
15. Cuellar S, Aguilar I, Cardenas D, Ornelas N, Romero M, and Parra R. Extraction and purification of high-value metabolites from microalgae: essential lipids, astaxanthin and phycobiliproteins. *Microb Biotechnol.* 2015 Mar; 8(2): 190–209.
16. Leonardi R, Niizawa I, Irazoqui H. Estudio de la producción de astaxantina a partir de cultivo de microalgas *Haematococcus pluvialis*. xviii encuentro de jóvenes investigadores de la unal; 15 octubre 2015;2015.
17. Lianga C, Zhaia Y, Xub D, Yeb N, Zhangb X, Wang Y, Zhanga W, Yua J. Correlation between lipid and carotenoid synthesis and photosynthetic capacity in *Haematococcus pluvialis* grown under high light and nitrogen deprivation stress. ISSN-L: 0017-3495. 2015/06.
18. Sipaúba-Tavares LH, Berchielli-Morais FA, Scardoeli-Truzzi B. Growth of *Haematococcus pluvialis* Flotow in alternative media. *Brazilian Journal of Biology* 2015 11;/75(4):796-803.
19. Astroc N, Reyes N, Buitrago L, Aguilar J, Jiménez J. Obtención y caracterización de astaxantina de la microalga *Haematococcus pluvialis*. *UG Ciencia* 2015 /01/27;21(0):73-82.
20. Panis G, Rosales J. Commercial astaxanthin production derived by green alga *Haematococcus pluvialis*: A microalgae process model and a techno-economic assessment all through production line. *Algal Research* 18 (2016) 175–190.
21. Machado F, Trevisol T, Boschetto D, Burkert J, Ferreira S, Oliveira J, Burkert C. Technological process for cell disruption, extraction and encapsulation of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*. *Journal of Biotechnology* 218 (2016) 108–114.
22. Sun H, Guan B, Kong Q, Geng Z, Wang N. Repeated cultivation: noncell disruption extraction of astaxanthin for *Haematococcus pluvialis*. *Scientific Reports.* Feb 2016. 1:12
23. Zhang Z, Wang B, Hu Q, Sommerfeld M, Li Y, Han D. A New Paradigm for Producing Astaxanthin From the Unicellular Green Alga *Haematococcus pluvialis*. *Biotechnology and Bioengineering.* Mar 2016. 1:12.
24. Boateng R, Faez-Sorkhabi K, Veluvolu V, Wu P. Extraction of Astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*. *The Canadian Society for Bioengineering* 2016;CSBE16-117.
25. Espinaco BY. Efectos de la concentración inicial de nitrógeno en el medio de cultivo sobre la producción de astaxantina a partir de *Haematococcus pluvialis*. *Universidad Nacional del Litoral* 2016 1-12-.

# Referencias Bibliográficas

26. Niño C, Rodríguez F, Díaz, Lancheros A. Evaluación de las condiciones de crecimiento celular para la producción de astaxantina a partir de la microalga *Haematococcus pluvialis*. NOVA. Abr 2017. 15 (28): 19-31.
27. Acuña R. Diseño de fotobiorreactores para cultivo de microalgas oleaginosas. Biotecnología práctica y aplicada. Disponible en: <https://bioreactorcrc.wordpress.com/2011/05/21/diseño-de-foto-bioreactores-para-el-cultivo-micro-algas-oleaginosas-parte-2-bioproceto-y-especificidades/>.
28. Ingeniería de Procesos aplicada a la Biotecnología de Microalgas. Fotobiorreactores para el cultivo masivo de microalgas. Disponible en: <https://w3.ual.es/~jfernand/procmicro70801207/tema-1---generalidades/1-7-fotobiorreactores.html>.
29. Fotobiorreactores, blog sobre biorrefinería e ingeniería química sostenible. Disponible en: <https://biorrefineria.blogspot.com/2017/01/descubriendo-el-primer-proyecto-de-biorrefineria-algal-Canada-planta-demostracion-acc.html>.
30. Contreras R. Modo operativo de un biorreactor. Biología la Guía. 2015. Disponible en: <https://biologia.laguia2000.com/biotecnologia/modo-operativo-de-un-biorreactor>
31. Ramírez-Mérida, et al. Microalgas y cianobacterias Aplicación en Medicina. Revista Electrónica Portales Médicos, 2014. Nivia Streit et al. Producción de pigmentos naturales (clorofila-a) en biorrefinerías agroindustriales, Ciencia y Tecnología, 2015.
32. Molinero I. Astaxantina, un potente antioxidante. Departamento Médico de Soria Natural.
33. Nivia Streit et al. Producción de pigmentos naturales (clorofila-a) en biorrefinerías agroindustriales, Ciencia y Tecnología, 2015.
34. Gomez L. Microalgas: aspectos ecológicos y biotecnológicos. Laboratorio de Ecotoxicología Marina, Centro Nacional de Electromagnetismo Aplicado, Universidad de Oriente. 2007.
35. Martínez A. Evaluación del crecimiento celular y de los pigmentos obtenidos de la microalga *Haematococcus pluvialis* cultivada en diferentes medios. Tesis. Instituto Politécnico Nacional. México. 2010.
36. Harker, M.; Tsavalos, A. J., & Young, A. J. (1996). Factors responsible for astaxanthin formation in the Chlorophyte *Haematococcus pluvialis*. *Bioresource Technology*, 207-214.
37. Manrique E. Los pigmentos fotosintéticos algo más que la captación de luz. Ecosistemas. Revista científica de ecología y medio ambiente. Abril 2013
38. Becker. Micro-algae for human and animal consumption. In: Borowitzka, M.M., and L.J. Borowitzka (Ed.). *Micro-algal biotechnology*, 1988.
39. Balder, et al. Heme and chlorophyll intake and risk of colorectal cancer in the Netherlands cohort study. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention* 2006.

# Referencias Bibliográficas

40. Producción del pigmento astaxantina. Disponible en: <http://www.astaxanthin.pe/produccion/>.
41. Biostat® Aplus El fermentador|biorreactor compacto autoclavable. Disponible en: [http://mon.uvic.cat/u360/files/2016/09/Biorreactor2\\_Sartorius-biostataplus.pdf](http://mon.uvic.cat/u360/files/2016/09/Biorreactor2_Sartorius-biostataplus.pdf)
42. Tecnología de los bioprocesos diseño de fermentadores y biorreactores. Disponible en: <https://www.yumpu.com/es/document/view/35961459/tecnologia-de-los-bioprocesos-diseno-de-fermentadores-y-biorreactores>
43. Natura Foundation. Fucoxantina y astaxantina Terapia ortomolecular. Mastering health. Disponible en: [http://www.naturafoundation.es/monografie/Fucoxantina\\_y\\_astaxantina.html](http://www.naturafoundation.es/monografie/Fucoxantina_y_astaxantina.html)
44. Clorofila y pigmentos accesorios. Disponible en [http://almez.pntic.mec.es/~jrem0000/dpbg/Fotosintesis/clorofila\\_y\\_pigmentos\\_accesorios.html](http://almez.pntic.mec.es/~jrem0000/dpbg/Fotosintesis/clorofila_y_pigmentos_accesorios.html)
45. Martínez. A. Evaluación del crecimiento celular y de los pigmentos obtenidos de la microalga *Haematococcus pluvialis* cultivada en diferentes medios. Tesis de grado. México D.F. Instituto Politécnico Nacional. Enero 2010.
46. Gajardo S. Astaxantina: antioxidante de origen natural con variadas aplicaciones en la cosmética. *Biofarbo* [online] 2011. Vol 19, n.2, pp.6-12. ISSN. 1813-5363.
47. Meyers S. Papel del carotenoide astaxantina en la nutrición de especies acuáticas. Professor Emeritus, department of food science/oceanography and coastal sciences Louisiana State University, Baton Rouge, LA 70803.
48. Abalde J. La microalga *Haematococcus* como fuente de astaxantina. Laboratorio de microbiología, departamento de biología celular y molecular. Facultad de ciencias, universidad de coruña.
49. Rivera C, Zapata A, Pinilla G, Donato J, Chaparro B, Jiménez P. Comparación de la estimación de la clorofila-a mediante los métodos espectrofotométrico y fluorométrico. *Acta Biologica Colombiana*. Vol. 10 No. 2, 2005.
50. Ramírez D. Evaluación del crecimiento y producción de astaxantina por *Haematococcus pluvialis* en un fotobiorreactor tipo airlift. Tesis de investigación Universidad Nacional Bogotá 2013.
51. Medina J, Valdez P, Nieves M, Arzola F, Guerrero M. La importancia de las microalgas. *CONABIO. Biodiversitas*. 2012. 103:1-5.