

Megújuló energia tárolásának és értéknövelt termék előállításának vizsgálata mikroalga biomassa felhasználásával

Fózer Dániel^{1*}, Nagy Tibor¹, Tóth András József¹, Mizsey Péter^{1,2}

¹ Kémiai Környezeti és Folyamatmérnöki Tanszék, Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Budapest-1111, Budafoki út 8.

² Finomvegyipari és Környezettechnológiai Intézeti Tanszék, Miskolci Egyetem, Miskolc-3515, Egyetemváros C/1 108.

Corresponding author. Tel.:+36 1 463 2035. E-mail: fozer.daniel@mail.bme.hu (Fózer, Dániel)

KIVONAT

A magas klímaváltozási potenciál és antropogén szén-dioxid emisszió miatt az energiaszektor jelenleg jelentős átalakuláson megy keresztül, amelynek célja a nagy energetikai hatások mellett a szén-semleges üzemmenet elérése. Mikroalga biomassa alkalmazásával lehetőség nyílik a kémiai és biológiai úton történő energiaátalakítás és -tárolás mellett magas hozzáadott értékkel rendelkező termékek, például asztaxantin, előállítására. Hidrotermális előkezelést alkalmazva a sejtekből előzetes szárítás nélkül kinyerhetővé válnak az értékes komponensek, a keletkező sejtörmelék értéknövelése hidrotermális elgázosítás alkalmazásával energiahatékony módon elérhető. Életciklus elemzéssel megállapítottuk, hogy a teljes folyamat mérsékelt, 45.8 kg CO_{2,eq} (kg asztaxantin)⁻¹ globális felmelegedési potenciállal jellemezhető.

ABSTRACT

The energy industry is facing with a major transformation due to its high global warming and climate change potential. Long-term sustainable development goals include the maximization of energy efficiency and the transformation of energy sector toward carbon neutrality. Microalgae biomass are suitable feedstocks to meet sustainability criteria, to improve chemical and biological based energy storage, and to produce value added chemicals (e.g., astaxanthin). Hydrothermal pretreatment of wet biomass was considered for the extraction

of valuable pigments without using prior energy intensive drying step. Hydrothermal gasification (HTG) was applied for the upgrading of organic residue. In this study, the life cycle assessment of algae based astaxanthin production and extraction residue valorization via hydrothermal gasification (HTG) is investigated. It is determined that the process is characterised by favourable environmental effects and low global warming potential (45.8 kg CO_{2,eq} (kg astaxanthin)⁻¹).

BEVEZETÉS

Földünk növekvő népessége és az ezzel párhuzamosan emelkedő energiaigények miatt nagy mennyiségű antropogén eredetű, klímaváltozást okozó üvegházhatású gáz kerül az atmoszférába. Az éghajlatváltozásról szóló Párizsi Megállapodásban célként kitűzött CO₂ emissziócsökkentés megköveteli a megújuló energiaforrások széleskörű elterjedését és alkalmazását (Allen, M.R. et al., (2018); Fozer, D. et al. (2017a)). A mikroalga biomassa magas produktivitása, kiemelkedő fotoszintetikus hatásfoka, nagymértékű biodiverzitása és biológiai szén-dioxid megkötő képessége miatt ígéretes alternatíva az antropogén eredetű CO₂ kibocsátásának csökkentésére.

Az algák egy-, és többsejtű vízi, fotoautotróf szervezetek, melyek valódi gyökérrel, szárral, levéllel és virággal nem rendelkeznek. Méretük igen változatos, a néhány µm-es, bakteriális

méretű sejtektől egészen a több méteres, növényyszerű társulásokig terjed; így méretük szerint megkülönböztethetőek mikro- és makroalgák (John, R.P. et al. (2011); Christaki, E., Florou-Paneri, P. & Bonos, E. (2011)). A növekedéshez és a propagációhoz – fotoszintézisen keresztül – a sejtek fényt és szén-dioxidot használnak fel, így a mikroalga alapú technológiák nagy léptékű használata hozzájárul a klímaváltozás negatív hatásainak mérsékléséhez.

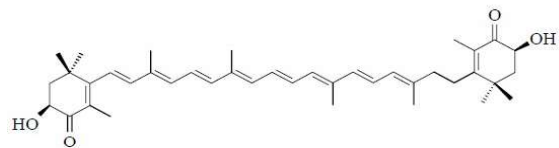
A biofinomítói célfüggvényektől függően mikroalga biomasszából előállíthatóak nagy volumenű és kis hozzáadott értékkel rendelkező termékek (pl. bioüzemanyagok) és kis volumenű, de nagy hozzáadott értékkel rendelkező termékek (pl. pigmentek, gyógyszeripari alapanyagok) is.

A biomassza gazdaságos feldolgozását ugyanakkor több tényező is nehezíti, melyek közül a legjelentősebb az alapanyag nagy nedvességtartalma. A mikroalgák rendkívül híg szuszpenziókban tenyésztethetők ($0.5 - 4 \text{ g L}^{-1}$), ezért nagy mennyiségű vizet kell eltávolítani mellőlük a konvencionális termokémiai átalakító módszerek (pl. pirolízis, atmoszférikus elgázosítás) alkalmazása előtt, ami az energiahatékony működtetés szempontjából előnytelen. A nedves biomassza magas hőmérsékleten és nyomáson történő hidrotermális átalakítása során nem szükséges eltávolítani a nedvességet a biomassza mellől, a víz egyaránt szolgál a műveletben oldószerként és reakcióközegként (Fozer, D. et al. (2019)). Az alkalmazandó reakció-körülményektől függően el lehet különíteni hidrotermális elszenesítést, elfolyósítást és hidrotermális elgázosítást. Ily módon a nagy előzetes szárítási energiaigény megspórolhatóvá válik..

Egyes mikroalga törzsek (*Haematococcus pluvialis*, *Chlorella zofingiensis*) nagy hozzáadott értékkel rendelkező pigment, asztaxantin előállítására is képesek. A karotinoidok mikroalgákban és egyéb szervezetekben (gombák, baktériumok) *de novo* szintetizálódnak (Azaman, S.N.A. et al. (2017)). A karotinoidok karotinokra (likopin,

β -karotin) és xantofilokra (asztaxantin, kantaxantin, lutein) oszthatóak. A karotinoidok a kloroplasztisz belső membránjában és a stigma részben elhelyezkedő fényelnyelő molekulák, melyek a fotoszintézis során a klorofiloknak energiát adnak át (Capelli, B., Bagchi, D. & Cysewski, G.R. (2013)). Az asztaxantin (l. 1. ábra) élénkvrös színű másodlagos karotinoid, amelyet széleskörben alkalmaznak az élelmiszer-, kozmetika- és gyógyszeriparban (Shah, M.M.R. et al. (2016)). Erős antioxidáns, amely immunerősítő hatással rendelkezik és segít megakadályozni a rákos megbetegedések, cukorbetegség és gyulladások kialakulását (Yuan, J-P. et al. (2011)).

A természetes úton – mikroalgák és élesztő (pl. *Phaffia rhodozyma*) segítségével – előállított asztaxantin számos előnnyel rendelkezik a szintetikus előállításához képest: (i) emberi fogyasztásra alkalmas, (ii) magas az antioxidáns aktivitása, (iii) alacsony a környezeti terhelése,



1. ábra. Az asztaxantin (3,3'-dihidroxi- β , β -karotin-4,4'-dion) szerkezeti képlete

(iv) fenntartható és megújuló az előállítása. Hátrányai között említendő a költséges feldolgozás, a komplex – több lépcsős – mikroalga tenyésztés, és a kis várható termék élettartam (Khoo, K.S. et al. 2019). Továbbá az asztaxantin felhalmozódási ráta a száraz biomasszát tekintve *H. pluvialis* esetén 2 és 5 m/m% százalék között ingadozik, amely érték függ a tenyésztés körülményeitől, és az alkalmazott fotobioreaktorok típusától (Sarada, A.R, Baskaran, V. & Ravishankar, G.R. (2009); Wayama, M. et al. (2013)).

A biofinomítási struktúrában a tenyésztési fázist követően a biomasszát betakarítják flotálás és centrifugálás műveletekkel, melyeket a sejtek szárítása és előkezelése követi (Raposo, M.F.J., Morais, A.M. & Morais, R.M. (2012); Landels, A. et al. 2019). Az asztaxantin kinyerésére

használható konvencionális oldószeres (alkoholok (metanol, etanol), KOH, DMSO) és szuperkritikus CO₂ (SC-CO₂) extrakció is (Ni, H. et al. (2007); Xie, L. et al. (2019)). Előzetesjefteltárás esetén a hidrotermális kezelés (200°C, 8 MPa) hatékony módszernek bizonyul a sejtfalak felszakítására (Cheng, X. et al. (2016)), mert javítja a soronkövetkező extrakció hatásfokát.

Vizsgálataink eredményeként megállapítottuk, hogy mikroalga biomassza hidrotermális elő-, és utókezelésével környezetbarát módon lehet kinyerni nagy hozzáadott értékkel rendelkező termékeket és elő lehet állítani megújuló, a jelenlegi infrastruktúrába beilleszthető energiahordozókat. Életciklus elemzés alkalmazásával a tenyésztéshez szükséges műtrágya előállítása bizonyult a legkörnyezeteszennyezőbb műveletnek, melynek kizöldítésével tovább csökkenthető a vizsgált folyamat esetén a környezetet érintő antropogén emisszió.

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

A vizsgált folyamat életciklus elemzését a SimaPro 8.5.2.0 szoftver segítségével végeztük el. Az elemzések során a „bölcsőtől a kapuig” tartó (angolul cradle-to-gate) megközelítést alkalmaztuk.

Az életciklus elemzés célja

Az életciklus elemzés célja: mikroalga biomassza (*Haematococcus pluvialis*, *Chlorella zofingiensis*) felhasználásával asztaxantin előállítása, kinyerése és a műveletek során keletkező melléktermék hidrotermális technológiával történő értéknövelésének vizsgálata, valamint a környezeti terhelések meghatározása. Az elemzések esetén a funkcionális egység 1 kg kinyert asztaxanthin volt.

Leltáranalízis

A leltáranalízis alapját az Ecoinvent 3.4 adatbázis és tudományos publikációk képezték. A mikroalga biomassza tenyésztése esetén cső típusú fotobioreaktorok alkalmazását tételeztük fel, ahol a tenyésztési szakasz végén az asztaxantin végső koncentrációja 5 m/m%. A tenyésztési rendszerben szükséges kevertetést az 1. egyenlet alapján határoztuk meg (Fozer, D. et al. (2017b)):

$$E_c = (v\pi r^2) \cdot \Delta P, \quad (1)$$

ahol E_c a kevertetéshez szükséges energiaigény ($J s^{-1} m^{-1}$), v az áramlási sebesség ($m s^{-1}$), ΔP a nyomásesés ($Pa m^{-1}$), r a cső sugara (m). A tenyésztéshez szükséges N és P igényt karbamid és diammónium-foszfát adagolásával biztosítottuk. A szükséges mennyiségeket a 2-3. egyenletek segítségével határoztuk meg (Dassey, A.J., Hall, S.G. & Theegala, C.S. (2014)):

$$N\% = \frac{224g \cdot C\%}{1272g}, \quad (2)$$

$$P\% = \frac{31g \cdot C\%}{1272g}, \quad (3)$$

ahol $N\%$, $P\%$ és $C\%$ a mikroalga biomassza nitrogén, foszfor és szén tartalma ($m/m\%$).

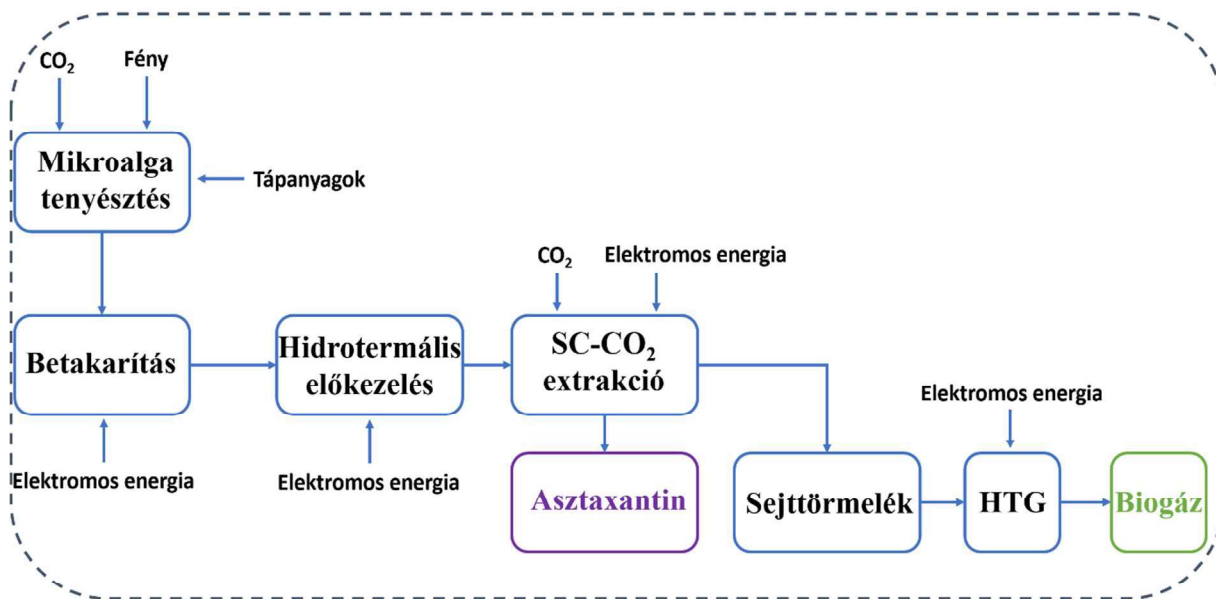
A megtermelt biomassza betakarítására és a víztávolításra Al_2SO_4 -al történő flokkulálást ($20 mg L^{-1}$) (Dong, C., Chen, W., & Liu, C. (2014)) és centrifugálást tételeztünk fel.

Az asztaxantin pigment kinyerése előtt a sejteket fel kell tární. Ezen művelet elvégzésére hidrotermális előkezelést tételeztünk fel, amely 200°C hőmérsékleten, 8 MPa nyomáson történik, 10 percen keresztül (Cheng, X. et al. (2016)). A művelet lejátszódásához szükséges energiaigényt ASPEN V10.0 szoftver segítségével határoztuk meg, PSRK (Predictive Soave-Redlich-Kwong) modell alkalmazásával. A sejtfeltárást követően az asztaxantin kinyerésére szuperkritikus állapotban levő CO₂ extrakciót tételeztünk fel, ahol a kinyerési hatásfok 15 óra után 92%-nak bizonyult (Pérez-López, P. et al. (2013)).

Az extrakció során keletkező sejtörmelék értéknövelésére hidrotermális elgázosítást (600°C, 442 bar, 8%) tételeztünk fel (Deniz, I. et al. (2015)). A művelethez szükséges energiaigényt ASPEN V10.0 szoftver segítségével határoztuk meg. A leírt folyamatot és a rendszerhatárokat a 2. ábra mutatja. A leltáranalízis eredményeit az 1. táblázatban tüntetjük fel.

Környezeti hatásbecslés

A környezeti hatásbecslés elvégzésére az IMPACT2002+ V2.14 módszert alkalmaztuk. A módszer segítségével a középponti és végponti hatáskategóriák értékelését végeztük el. Az adatokban előforduló bizonytalanság minősítésére Monte Carlo analízist végeztünk (95%-os konfidencia intervallum, 10 000 szimuláció).



2. ábra. Mikroalgából történő asztaxantin előállítására vonatkozó folyamatábra és rendszerhatár

<i>Chlorella zofingiensis</i>	2.17E+03	kg
Tenyésztéshez szükséges energia	1.19E+02	kWh
P igény	2.35E+01	kg
DAP igény	1.18E+02	kg
DAP előállítás energia igény	8.47E+02	kWh
N igény	1.70E+02	kg
Karbamid igény	3.22E+02	kg
Karbamid előállítás energia igény	2.18E+03	kWh
Al ₂ SO ₄ igény	1.91E-05	kg
Al ₂ SO ₄ előállítási energia igény	7.90E+00	kWh
Hidrotermális előkezelés energia igény	5.99E+02	kWh
Kinyert asztaxantin	1.00E+00	kg
SC CO ₂ energia igény	2.97E+03	kWh
SC CO ₂ kinyerési hatásfok	9.20E+01	%
Hidrotermális elgázosítás energia igény	8.19E+03	kWh

1. táblázat. 1 kg asztaxantin előállítására vonatkozó leltáranalízis

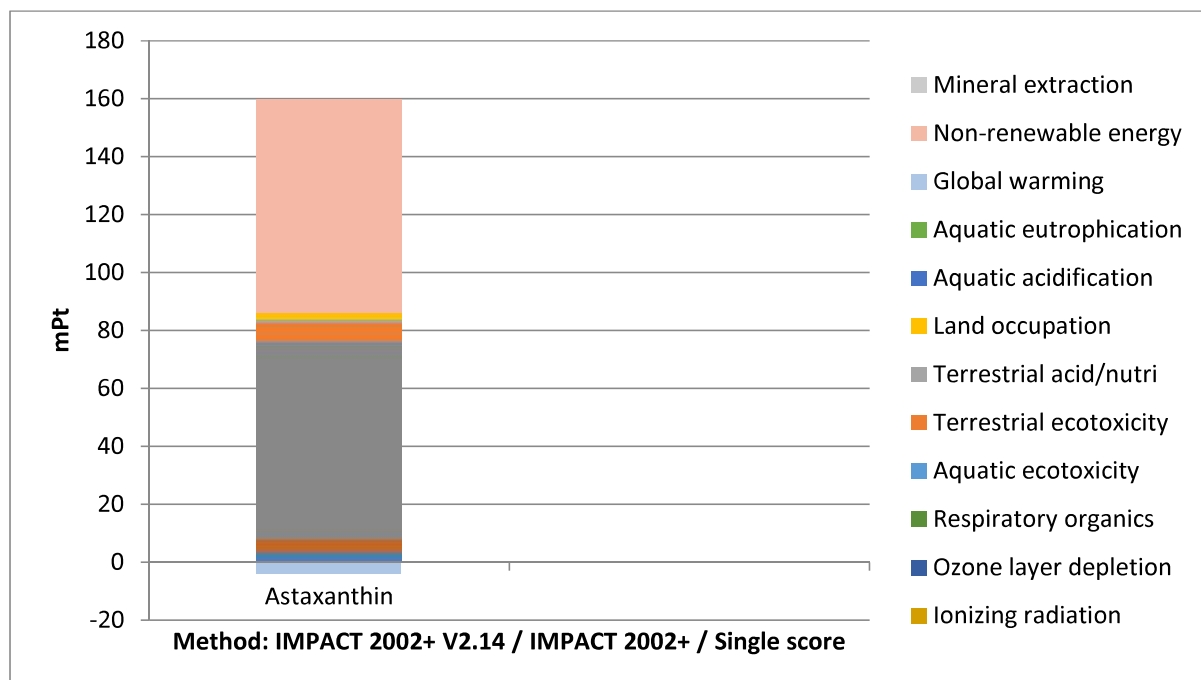
EREDMÉNYEK, ÉRTÉKELÉS

A vizsgált mikroalga alapú asztaxantin előállítására vonatkozó középponti környezeti hatások a 2. táblázatban láthatóak. A súlyozást követően a 3. ábra alapján megállapítható, hogy a legjelentősebb környezeti hatások a nem megújuló

energia alkalmazásához társíthatóak, amely a hatások 45.9%-ért felelős. A második legjelentősebb hatás 42.4%-al a 2.5 µm-nél kisebb részecskék kibocsátáshoz kapcsolható, amely összefüggésbe hozható a feldolgozási folyamat során alkalmazott konvencionális energiahordozók alkalmazásával.

Középponti hatáskategória	Mértékegység	Érték
Vízi savasodás	kg SO2 eq	3.82E+00
Vízi ökototoxicitás	kg TEG víz	6.18E+04
Karcinogének	kg C2H3Cl eq	9.80E+00
Globális felmelegedési potenciál	kg CO2 eq	4.58E+01
Ionizáló sugárzás	Bq C-14 eq	4.88E+03
Termőterület	m2	3.42E+01
Ásványi anyagok kinyerése	MJ	4.90E+01
Nem-karcinogének	kg C2H3Cl eq	1.44E+01
Nem megújuló energia	MJ	1.22E+04
Ózonréteg elvékonyodás	kg CFC-11 eq	8.83E-05
Légzőszervrendszert érintő szervetlen	kg PM2.5 eq	7.11E-01
Légzőszervrendszert érintő szerves	kg C2H4 eq	1.56E-01
Földet érő savasodás	kg SO2 eq	1.45E+01
Földi ökototoxicitás	kg TEG soil	1.11E+04

2. táblázat. Középponti hatáskategóriák, IMPACT2002+ V2.14 módszer

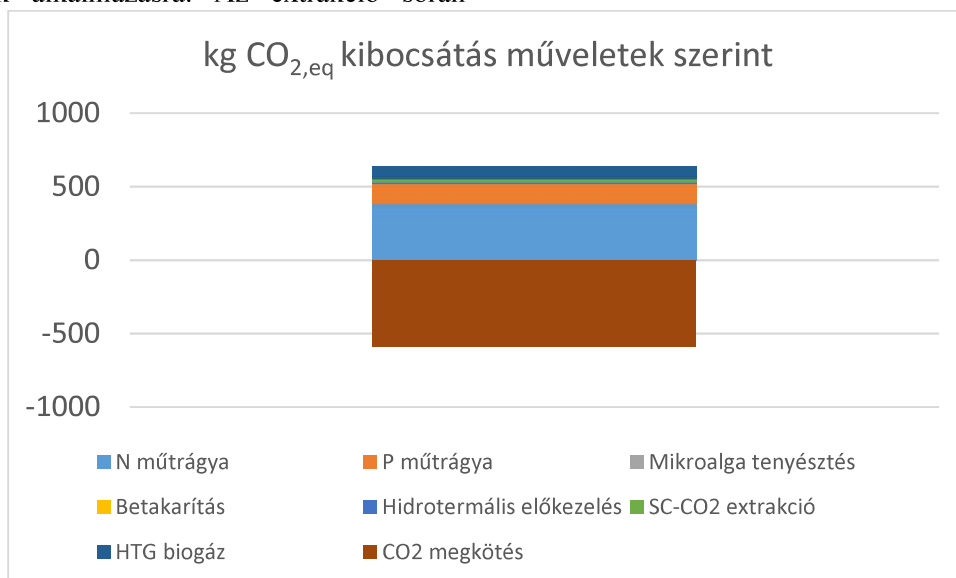


3. ábra. Középponti hatáskategóriák IMPACT2002+ Pt-ban kifejezve

Az IMPACT2002+ módszer szerint az asztaxantin előállítására vonatkozó kumulált globális felmelegedési potenciál 45.8 kg CO_{2,eq}/kg asztaxantin-nak adódott. Az egyes műveleti egységekhez társítható szén-dioxid ekvivalens kibocsátási értékek a 4. ábrán láthatóak. A legmagasabb kibocsátás érték a N tartalmú műtrágya előállításához kapcsolódik, amely az összes kibocsátás 59.5%-a. A második helyet a foszfor alapú műtrágya foglalja el, a kibocsátások 20.9%-val. Ezen kiemelkedően magas értékek felhívják a figyelmet arra, hogy a műtrágyagyártást környezetbarátabbá kell tenni, amely elérhető lehetne abban az esetben, ha az előállítás során a konvencionális energiaforrások helyett megújulók (például szél és napenergia) kerülnének alkalmazásra. Az extrakció során

keletkező sejtörmelék értéknövelése a teljes emisszió 13.3%-t teszi ki.

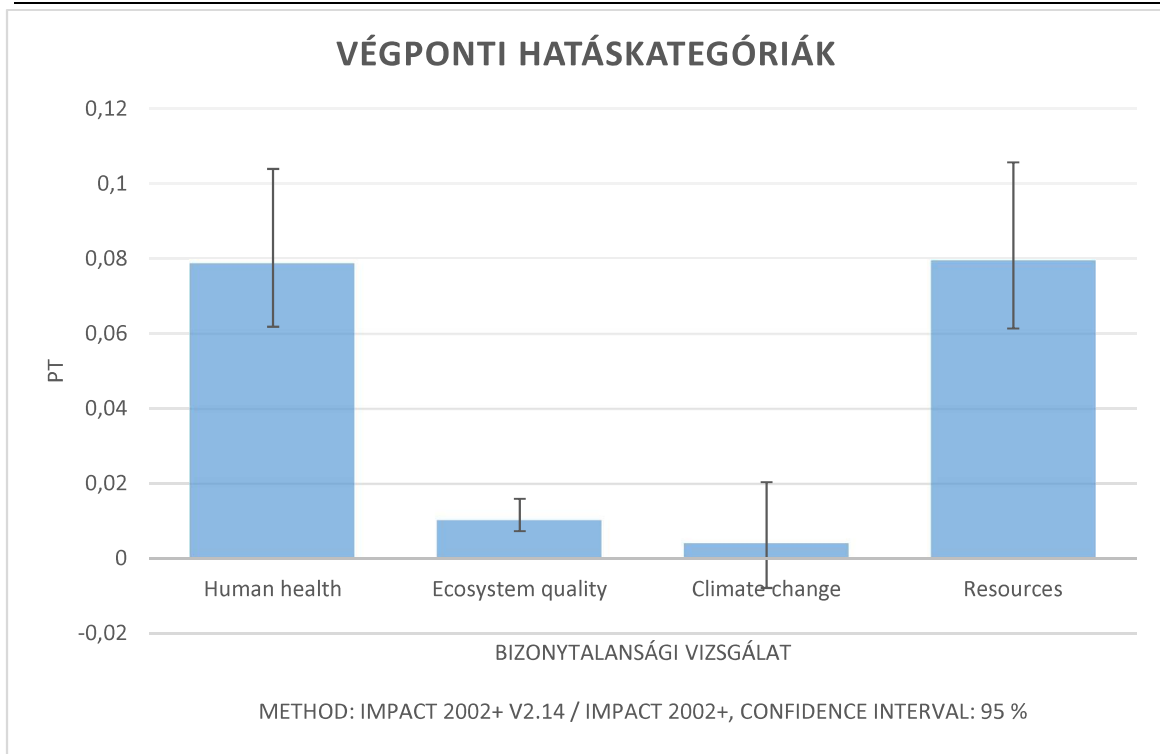
A végponti hatáskategóriákat tekintve megállapítható (l. 5. ábra), hogy az asztaxantin előállítása esetén a legjelentősebb hatások az erőforrások felhasználásához (45.9%), az emberi egészséget érintő hatásokhoz (45.5%), a ökoszisztémát érintő hatásokhoz (6.0%) és a klímaváltozási potenciálhoz társíthatóak (2.6%). Az erőforrások alkalmazásához és az emberi egészséghöz társítható hatások abszolút értéke a fosszilis energiahordozók kiváltásával csökkenthetőek, így ezen eredmények is megerősítik a megújuló energiaforrások alkalmazásának fontosságát.



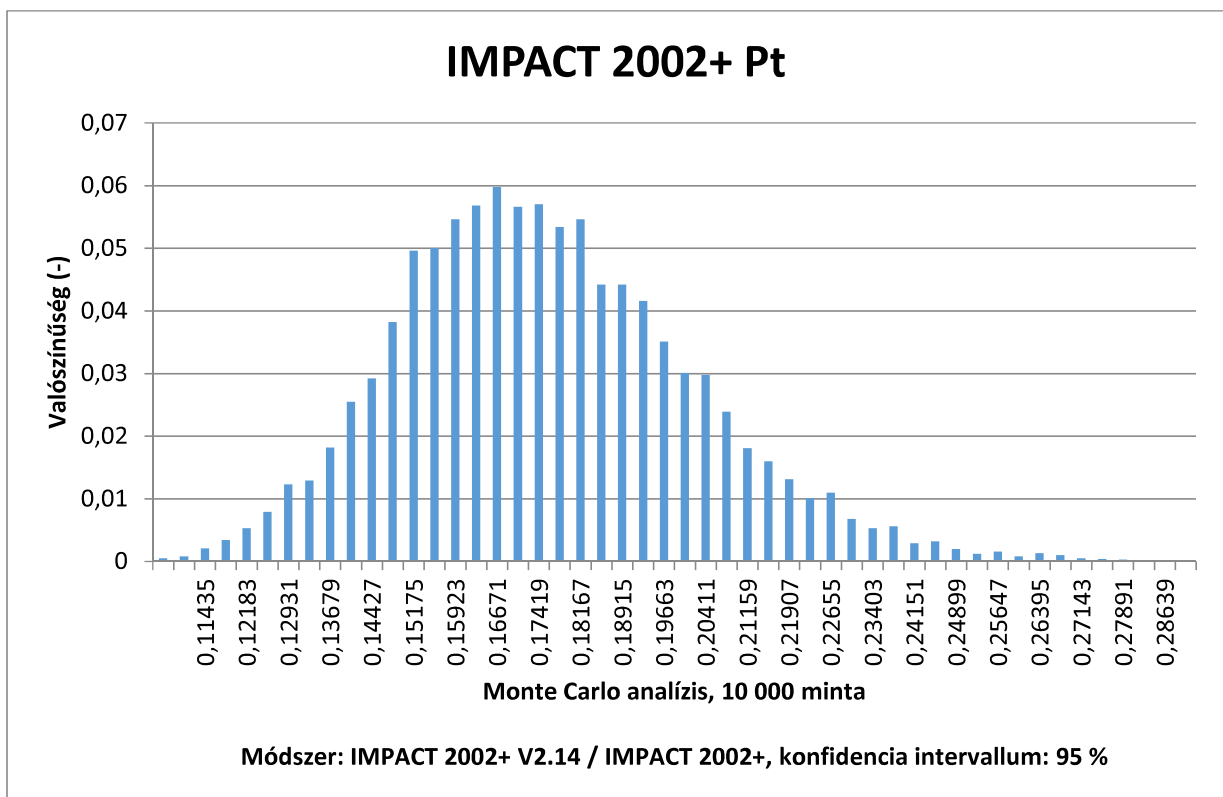
4. ábra. Globális felmelegedési potenciál az alkalmazott műveletek szerint

A felhasznált adatok kapcsán felmerülő bizonytalanság minősítése során kapott eredmények a 6. ábrán láthatóak. A 10 000 minta segítségével elvégzett analízis esetén megállapítható, hogy a szimulációs eredmények

tartanak az átlagos 176 IMPACT2002+ mPt értékhez és az eredmények túlnyomó többsége a vizsgált konfidencia intervallumon belül található.



5. ábra. Végponti hatáskategóriák, IMPACT2002+ módszer



6. ábra. Bizonytalansági vizsgálat, Monte Carlo analízis

ÖSSZEFOGLALÁS

A mikroalga biomassza ígéretes alapanyag a magas hozzáadott értékkel rendelkező termékek és energiahordozók előállítására. Hidrotermális technológiák alkalmazásával lehetőség nyílik asztaxantin és gáz halmazállapotú energiahordozók szimultán, megújuló alapokon történő előállítására. Életciklus elemzés alkalmazásával megállapítottuk, hogy mikroalgából történő asztaxantin előállítása során a melléktermékként keletkező sejttermék hidrotermális elgázosítása nem befolyásolja szignifikáns módon a környezetet érintő kibocsátásokat, valamint, hogy a folyamatláncához társítható kibocsátás mindösszesen 45.8 kg CO_{2,eq} kg asztaxantin⁻¹.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Az Emberi Erőforrások Minisztériuma NTP-NFTÖ-0154 kódszámú Nemzeti Tehetség Program Nemzet Fiatal Tehetségeiért Ösztöndíj támogatásával készült. A publikáció az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-19-4-BME-416 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Program, a Bolyai János Kutatási Ösztöndíj, a TUDFO/51757/2019-ITM kódszámú Tématerületi Kiválósági Program, az 112699-es és az 128543-as számú OTKA pályázatok támogatásával készült. A kutató munka az Európai Unió és a magyar állam támogatásával, az Európai Regionális Fejlesztési Alap társfinanszírozásával, a GINOP-2.3.4-15-2016-00004 projekt keretében valósult meg, a felsőoktatás és az ipar együttműködésének elősegítése céljából.

Kulcsszavak: mikroalga, biomassza, megújuló energi, életciklus elemzés

Keywords: microalgae, biomass, renewable energy, life cycle analysis

FELHASZNÁLT IRODALOM

Allen, M.R., Dube, O.P., Solecki, W., Aragón-Durand, F., Cramer, W., Humphreys, S., Kainuma, M., Kala, J., Mahowald, N., Mulgetta, Y., Perez, R., Wairiu, M., &

Zickfeld, K. (2018). Framing and Context. In: Global Warming of 1.5°C. An IPCC Special Report on the impacts of global warming of 1.5°C above pre-industrial levels and related global greenhouse gas emission pathways, in the context of strengthening the global response to the threat of climate change, sustainable development, and efforts to eradicate poverty.

Azaman, N.S.A., Nagao, N., Yusoff, F.M., Tan, S.W. & Yeap, S.K. (2017). A Comparison of the Morphological and Biochemical Characteristics of *Chlorella Sorokiniana* and *Chlorella Zofingiensis* Cultured under Photoautotrophic and Mixotrophic Conditions. *PeerJ* 5:e3473. <https://doi.org/10.7717/peerj.3473>.

Capelli, B., Bagchi, D. & Cysewski, G.R. (2013). Synthetic Astaxanthin Is Significantly Inferior to Algal-Based Astaxanthin as an Antioxidant and May Not Be Suitable as a Human Nutraceutical Supplement. *Nutrafoods*, 12, 145–152. <https://doi.org/10.1007/s13749-013-0051-5>.

Cheng, X., Riordon, J., Nguyen, B., Ooms, M. & Sinton, D. (2016). Hydrothermal Disruption of Algae Cells for Astaxanthin Extraction. *Green Chemistry*, 19: 106–111. <https://doi.org/10.1039/C6GC02746F>.

Christaki, E., Florou-Paneri, P. & Bonos, E. (2011). Microalgae: A Novel Ingredient in Nutrition. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 62(8), 794–799. <https://doi.org/10.3109/09637486.2011.582460>.

Dassey, A.J., Hall, S.G. & Theegala, C.S. (2014). An Analysis of Energy Consumption for Algal Biodiesel Production: Comparing the Literature with Current Estimates. *Algal Research*, 4, 105–115. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2013.12.006>.

Deniz, I., Vardar-Sukan, F., Yüksel, M., Sağlam, M., Ballice, L., & Yesil-Celiktas, O. (2015). Hydrogen Production from Marine Biomass by Hydrothermal Gasification. *Energy Conversion and Management*, 96: 124–130. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2015.02.048>.

- Dong, C., Chen, W., & Liu, C. (2014). Bioresource Technology Flocculation of Algal Cells by Amphoteric Chitosan-Based Flocculant. *Bioresource Technology*, 170: 239–247. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.07.108>.
- Fózer, D., Sziraky, F.Z., Racz, L., Nagy, T., Tarjani, A.J., Toth, A.J., Haaz, E., Benko, T., & Mizsey, P. (2017a). Life Cycle, PESTLE and Multi-Criteria Decision Analysis of CCS Process Alternatives. *Journal of Cleaner Production*, 147, 75–85. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.01.056>
- Fózer, D., Valentinyi, N., Racz, L. & Mizsey, P. (2017b). Evaluation of Microalgae-Based Biorefinery Alternatives. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 19(2), 501–515. <https://doi.org/10.1007/s10098-016-1242-8>.
- Fózer, D., Kiss, B., Lorincz, L., Szekely, E., Mizsey, P., & Nemeth, A. (2019). Improvement of Microalgae Biomass Productivity and Subsequent Biogas Yield of Hydrothermal Gasification via Optimization of Illumination. *Renewable Energy*, 138, 1262–1272. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2018.12.122>.
- John, R.P., Anisha, G.S., Madhavan Nampoothiri, K. & Pandey, A. (2011). Bioresource Technology Micro and Macroalgal Biomass: A Renewable Source for Bioethanol. *Bioresource Technology*, 102(1), 186–193. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.139>.
- Khoo, K.S., Lee, S.Y., Ooi, C.W., Fu, X., Miao, X., Tau, C.L. & Show, P.L.(2019). Bioresource Technology Recent Advances in Biorefinery of Astaxanthin from Haematococcus Pluvialis. *Bioresource Technology*, 288 (June): 121606. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121606>.
- Landels, A., Beacham, T.A., Evans, C.T., Carnovale, G., Cole, I.S., Goddard, P., Chuck, C., & Allen, M.J. (2019). Improving Electrocoagulation Floatation for Harvesting Microalgae. *Algal Research*, 39: 101446. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101446>.
- Ni, H., Chen, Q.H., Ruan, H., Yang, Y.F., Li, L.J., Wu, G.B., Hu, Y. & He. G.Q. (2007). Studies on Optimization of Nitrogen Sources for Astaxanthin Production by Phaffia Rhodozyma. *Journal of Zhejiang University SCIENCE B*, 8(5), 365–370. <https://doi.org/10.1631/jzus.2007.B0365>.
- Pérez-López, P., González-García, S., Jeffryes, C., Agathos, S.N., McHugh, E., Walsh, D., Murray, P., Moane, S., Feijoo, G. & Moreira, M.T. (2013). Life Cycle Assessment of the Production of the Red Anti-Oxidant Carotenoid Astaxanthin by Microalgae: From Lab to Pilot Scale. *Journal of Cleaner Production*, 64, 332–344. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2013.07.011>.
- Raposo, M.F.J., Morais, A.M. & Morais, R.M. (2012). Effects of Spray-Drying and Storage on Astaxanthin Content of Haematococcus Pluvialis Biomass. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(3), 1253–1257. <https://doi.org/10.1007/s11274-011-0929-6>.
- Sarada, A.R, Baskaran, V. & Ravishankar, G.R. (2009). Identification of Carotenoids from Green Alga Haematococcus Pluvialis by HPLC and LC - MS (APCI) and Their Antioxidant Properties. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 19(11), 1333–1341. <https://doi.org/10.4014/jmb.0905.03007>. DOI NOT FOUND, should be checked
- Shah, M.M.R., Liang, Y., Cheng, J.J. & Daroch, M. (2016). Astaxanthin-Producing Green From Single Cell to High Value Commercial Products. *Frontiers in Plant Science*, 7:531. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00531>.
- Wayama, M., Ota, S., Matsuura, H., Nango, N., Hirata, A. & Kawano, S. (2013). Three-Dimensional Ultrastructural Study of Oil and Astaxanthin Accumulation during Encystment in the Green Alga Haematococcus Pluvialis. *PLOS ONE* 8(1): e53618. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053618>

Xie, L., Cahoon, E., Zhang, Y. & Ciftci, O.N. (2019). Extraction of Astaxanthin from Engineered *Camelina Sativa* Seed Using Ethanol-Modified Supercritical Carbon Dioxide. *The Journal of Supercritical Fluids*, 143 (June 2018), 171–178. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2018.08.013>.

Yuan, J.-P., Peng, J., Yin, K. & Wang, L.-H. (2011). Potential Health-Promoting Effects of Astaxanthin: A High-Value Carotenoid Mostly from Microalgae. *Molecular Nutrition and Health Research*, 55(1), 150–165. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201000414>.