



ConBRepro

X CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA DE PRODUÇÃO



02 a 04
de dezembro 2020

Revisão sistemática sobre os métodos utilizados para a extração da proteína ficoeritrina

Gabriela Kovaleski

Departamento de Química- Universidade de Aveiro

Anaïs Kovaleski

Departamento de Economia, Gestão, Engenharia Industrial e Turismo - Universidade de Aveiro

Fanny Kovaleski

Departamento de Engenharia de Produção – UTFPR- Ponta Grossa

Resumo: A ficoeritrina é uma proteína encontrada em algas, onde a sua extração há um foco na biotecnologia industrial já que pode ser aplicada em diversas áreas, tornando assim necessário o seu estudo. O objetivo deste trabalho é identificar e analisar os métodos utilizados para a extração desta proteína. Para dar resposta a este objetivo a metodologia adotada foi a revisão sistemática de literatura utilizando a base de dados *Scopus* e *Science Direct*. A busca resultou em 46 artigos publicados em revistas e conferências, sendo que apenas 24 estudos relatam a extração da proteína ficoeritrina, quais foram considerados relevantes para a pesquisa. Os métodos utilizados e eficazes para extrair ficoeritrina de microalgas são a maceração, congelamento-descongelamento, ultrassom e hidrólise enzimática. Esse trabalho contribui na academia em reconhecer que há uma literatura no tema em questão, podendo trazer em futuros estudos uma análise mais aprofundada e abrangente, como por exemplo verificar quais são as algas com maior extração de ficoeritrina e os diferentes processos de purificação.

Palavras-chave: Proteína, Ficoeritrina, Extrações

Systematic review of the methods used to extract phycoerythrin protein

Abstract: Phycoerythrin is a protein found in algae, where its extraction has a focus on industrial biotechnology since it can be applied in several areas, thus making your study necessary. The objective of this work is to identify and analyze the methods used for the extraction of this protein. To meet this objective, the methodology adopted was a systematic literature review using the *Scopus* and *Science Direct* database. The search resulted in 46 articles published in journals and conferences, with only 24 studies reporting the extraction of phycoerythrin protein, which were considered relevant for the research. The methods used and effective to extract phycoerythrin from microalgae are maceration, freeze-thaw, ultrasound and enzymatic hydrolysis. This work contributes in the academy in recognizing that there is a literature on the subject in question and may bring in future studies a more in-depth and comprehensive analysis, such as verifying which are the algae with greater phycoerythrin extraction and the different purification processes.

Keywords: Protein, Phycoerythrin, Extractions

1. Introdução

Microalgas e macroalgas são microrganismos fotossintéticos, procariontes ou eucariontes, vivem em ambientes salinos ou de água doce, que sintetizam compostos valiosos de biomassa, como proteínas, antioxidantes, vitaminas, minerais, lipídios, pigmentos e ácidos graxos insaturados (MARKOU; NERANTZIS, 2013; BARKIA *et al.*, 2019). O isolamento e a identificação desses compostos surgiram como tendência para o desenvolvimento de novos alimentos funcionais, por serem de alto valor e possuírem benefícios para a saúde (BERMUDEZ *et al.*, 2014; CHRISTAKI *et al.*, 2015). Assim, surgiu o interesse da biotecnologia para a produção comercial em larga escala de microalgas (MARTINEZ-PORCHAS *et al.*, 2014; CHRISTAKI *et al.*, 2015) principalmente nas áreas de farmácia, alimentos funcionais, nutricional, cosméticos, aquicultura e biocombustíveis (BERMUDEZ, 2014).

As ficobiliproteínas são uma família de proteínas fotossintéticas, coletoras de luz, que estão presentes em cianobactérias, algas vermelhas, criptomonas e cianelas. São solúveis em água, compostos por proteínas e ligados covalentemente por meio de cromóforos de aminoácidos da cisteína chamados ficobilinas (MULDERS *et al.*, 2014; PAGELS, 2019). Ficobiliproteínas são divididas em quatro tipos: ficoeritrina, ficocianina, ficoeritrocianina e aloficocianina. A estrutura e o pico de absorção são o que fornecem a caracterização de cada tipo (Tabela 1) (PAGELS *et al.*, 2019).

Tabela 1 – Pico máximo de absorção para cada ficobiliproteína

Phycobiliprotein	Absorption maxima (nm)
Phycoerythrin	490-570
Phycoerythrocyanin	560-600
Phycocyanin	610-625
Allophycocyanin	650-660

Fonte: Liu *et al.* (2009)

Ficoeritrina (FE) é encontrada no cloroplasto de algas vermelhas e cianobactérias. Existem quatro principais classes de ficoeritrina: B-ficoeritrina (B-FE, picos em 545 nm, 565 nm e um ombro em 499 nm) e R-ficoeritrina (R-FE, picos em 499, 565 nm e um pico no ombro em 545 nm). A ficoeritrina é geralmente usada como um agente de coloração natural (KAMBLE *et al.*, 2018), sonda de marcador fluorescente (WANG *et al.*, 2016) e como agente farmacêutico (SEKAR *et al.*, 2007). Muitos estudos mostram várias atividades biológicas da ficoeritrina, como antioxidante (JUNG *et al.*, 2016), propriedades antitumorais (PAN *et al.*, 2013) e propriedades anticâncer (TAN *et al.*, 2016).

Para obter ficobiliproteínas de alta pureza a partir da biomassa de algas, o processo de extração e purificação deve ser eficiente, para isso existem diferentes métodos (MANIRAFASHA *et al.*, 2016). Além disso, um método que funciona bem em um organismo não será necessariamente bom para outro (RANJITHA; KAUSHIK, 2005). A extração de proteínas por ruptura celular, recuperação primária e purificação são as 3 etapas para a purificação da ficoeritrina (BERMUDEZ *et al.*, 2014). Os polissacarídeos presentes na parede celular de algas, como ágar e celulose, interferem na ruptura celular durante as extrações, portanto, há a necessidade de um método adequado para extração de FE (MITTAL *et al.*, 2017). Assim, esse trabalho tem como objetivo demonstrar, através de artigos publicados, quais são os métodos que estão sendo utilizados para a extração da ficoeritrina das algas.

2. Metodologia

O trabalho consistiu em uma revisão sistemática de literatura, um processo essencial para a compreensão inicial do tema pesquisado, com o objetivo de conhecer os estudos e autores de referência na área.

A revisão de literatura foi realizada nas bases de dados *Scopus* e *Science Direct*, os artigos encontrados foram migrados para o programa Mendeley, onde os autores puderam gerenciar os documentos de pesquisa. Para filtrar os documentos encontrados foram usadas *Tags* durante a leitura dos resumos diferenciando os artigos que deveriam ser lidos e excluídos da revisão.

A fim de relacionar os temas em questão utilizou-se as palavras-chave: *phycoerythrin*, *extraction* e *purification*. Todas as palavras deveriam estar presentes em “Title, Abstract, Keywords. Assim, o próximo tópico traz os resultados e discussões dos artigos encontrados.

3. Resultados

A busca sistemática resultou em 46 artigos publicados em revistas e conferências, sendo que apenas 24 estudos relatam a extração da proteína ficoeritrina e foram considerados relevantes para a pesquisa.

Como já mencionado, o primeiro passo para a obtenção de proteína em algas é o processo de ruptura celular. Günerken *et al.*, (2015) descrevem que o rompimento celular é a parte mais crucial para a obtenção de produtos com maior valor em algas. Os processos de rompimento celular que têm sido eficazes para extrair ficoeritrina de microalgas são: maceração, congelamento-descongelamento, ultrassom e hidrólise enzimática.

3.1 Maceração e Ultrassom

A maceração é uma operação física que auxilia na extração de compostos. Para extração de FE, pode-se usar pilão e almofariz ou em nitrogênio líquido. O processo com ultrassom atua criando compressão e descompressão através de ondas sonoras em frequência > 20 kHz (MITTAL *et al.*, 2017), pode ser usado para melhorar a estabilidade do FE, uma vez que requer menos tempo e menor temperatura (GUILLARD *et al.*, 2015). A Tabela 2 demonstra os melhores resultados desses processos.

Tabela 2 – Extrações da FE utilizando maceração e ultrassom em espécies de microalgas

Espécie	Ruptura do tecido/ Método de extração	Rendimento/ eficiência de extração	Referência
<i>Gracilaria gracili</i>	Maceração (almofariz e pilão)	3.58 ± 0.03 mg/g	Pereira et al. (2020)
<i>Spirulina maxima</i>	Ultrassom	0,8 mg/mL	Choi and Lee (2018)
<i>Gelidium pusillum</i>	Maceração + ultrassom	1.56 mg/g	Mittal et al. (2017)
<i>Gracilaria gracilis</i>	Maceração (almofariz e pilão)	7 mg/g d.w.	Francavilla et al. (2015)
<i>Grateloupia turuturu</i>	Ultrassom + hidrólise enzimática	3.6 mg /g (22°C)	Guillard et al. (2015)

Fonte: Autoria propria (2020)

Pereira *et al.*, (2020) compararam 5 processos de extração, maceração, banho ultrassônico, sonda ultrassônica, alta pressão e congelamento-descongelamento da alga vermelha *Gracilaria gracilis*, por meio da otimização utilizando a metodologia de superfície de

resposta obteve maior eficiência com o uso de maceração com almofariz e pilão ($3,58 \pm 0,03$ mg/g). Francavilla *et al.*, (2015) também usaram a maceração para extrair a FE da alga *Gracilaria gracilis*, utilizada como refino primário na biorrefinaria em cascata, alcançou um rendimento de 7 mg/g dw.

Diferentes conjuntos de extrações foram realizados em *Gelidium pusillum*, maceração com congelamento-descongelamento, homogeneização com ultrassom e maceração com ultrassom, sendo esta última mais eficaz no processo de extração de FE (MITTAL *et al.*, 2017). Guillard *et al.*, (2015) compararam dois processos de extração em *Grateloupia turuturu*, extração com ultrassom e por ultrassom com hidrólise enzimática, obtendo um melhor desempenho ao adicionar enzimas no ultrassom (3,6 mg/g, 22 °C). Choi e Lee (2018) extraíram FE da *Spirulina maxima* com ultrassom e obtiveram baixo rendimento de 0,8 mg/ml, o que pode ser explicado pelo fato da espirulina ser mais rica em ficocianina e não em ficoeritrina.

3.2 Congelamento-descongelamento

O método de congelamento-descongelamento é um método simples que consiste em congelar as células em um freezer e depois descongelar, fazendo com que as células se quebrem com os cristais de gelo formados no congelamento e se contraíam durante o descongelamento. Wang *et al.*, (2020) compararam o processo de congelamento-descongelamento (-20 °C e 4 °C) com maceração e hidrólise em *Pyropia yezoensis* e encontraram um aumento no rendimento ($3.766 \pm 0,021$ mg/g dw), mas quando comparado com a hidrólise enzimática obtiveram quase o dobro de FE ($6.953 \pm 0,020$ mg/g dw). Khan *et al.*, (2018) estudaram a produção de FE em *Pseudanabaena catenata*, já conhecido por ser rico em ficoeritrina, para isso utilizaram três ciclos repetidos de congelamento-descongelamento da biomassa em nitrogênio líquido e posteriormente maceração com uso de almofariz e pilão para extração, obtendo uma concentração de FE de $25,5 \pm 5,1$ mg/L.

A diferença entre o uso de algas frescas de *Porphyridium cruentum* ou liofilizadas foi verificada juntamente com o processo de congelamento-descongelamento e congelamento-descongelamento + ultrassom, obtendo-se maior rendimento de recuperação com a alga fresca (71%) e entre os processos não houve diferença (LAUCERI *et al.*, 2019). Outro estudo com *Porphyridium cruentum* fresco, usando cinco ciclos repetidos de congelamento-descongelamento, encontrou uma concentração de FE de 0,27 mg/mL e um maior rendimento de recuperação (86,6%) (IBÁÑEZ-GONZÁLEZ *et al.*, 2016).

Alguns estudos não comparam os métodos de extração, mas sim a melhor solução para o rompimento celular. Essas soluções podem ser tampão fosfato, ácido etilenodiamino tetraacético (EDTA), tampão acetato ou mesmo água. Para a otimização da extração Hemlata e Fatma (2018) utilizaram 5 tampões diferentes: tampão Citrato (pH-5,0; 0,1 M); tampão de acetato (pH-6,0; 0,1 M); tampão de carbonato (pH 9,6; 0,1 M); tampão Tris (pH-7,2; 0,05 M); Tampão de fosfato de sódio (pH-7,0; 0,1 M), obtendo um maior rendimento (65,21 mg/g) com tampão de acetato (pH-6,0; 0,1 M). Eles também mostram que o FE da *Microchaete* tem uma atividade antioxidante, antibacteriana, anticâncer e antifúngica. Sfriso *et al.*, (2018) utilizaram diferentes concentrações de tampões, tampão fosfato (0,1, 1, 10 e 100 mM) e EDTA (0,1, 1, 10 e 100 mM), para posteriormente investigar a fluorescência do FE. Sharmila *et al.*, (2017) também otimizaram o processo com diferentes tampões em diferentes pH, seguidos de diferentes rompimentos celulares e com este resultado encontrado, diferentes temperaturas. Os resultados foram melhores com fosfato de sódio pH 7,2 e uso de congelamento-descongelamento com -20 °C - 25 °C.

Nguyen *et al.*, (2016) compararam diferentes concentrações de tampão fosfato (20mM, 50mM e 0,1M) com água da torneira e água pura com maceração, e ainda usaram outro método, a hidrólise enzimática. O tampão fosfato 20 mM com pH 7,1 apresentou melhores resultados para FE e a enzima xilanase foi eficaz na degradação dos polissacarídeos da

parede celular de *M. stellatus*. Sudhakar *et al.*, (2015) também compraram as extrações com água (água destilada e água do mar) e tampão fosfato (0,1 M) na alga *Gracilaria crassa*, encontraram melhor rendimento para água destilada (0,35 mg/g).

3.3 Hidrólise Enzimática

A hidrólise enzimática também é usada na extração de FE, pois evita a despolimerização dos agarófitas e preserva as propriedades moleculares da FE (DENIS *et al.*, 2009). Esta técnica consiste em desintegrar a parede celular para liberar a proteína integrada da célula (MENSI *et al.*, 2011). O estudo das variáveis de hidrólise enzimática para otimizar o processo aumenta o rendimento da extração do FE (DUMAY *et al.*, 2013). Wang *et al.*, (2020) compararam quatro extrações: congelamento-descongelamento (-20 °C e 4 °C) com maceração, hidrólise e hidrólise enzimática em *Pyropia yezoensis* e encontrou um aumento no rendimento quando utilizado hidrólise com as enzimas agarase e celulase (6.953 ± 0,020 mg/g dw).

Nguyen *et al.*, (2016), Dumay *et al.*, (2013) e Mensi *et al.*, (2011) otimizaram o processo de hidrólise enzimática, mas com diferentes algas para extração de FE (*Mastocarpus stellatus*, *Palmaria palmata* e *Gracilaria verrucosa*, respectivamente). Nguyen *et al.*, (2016) alcançaram uma eficiência de extração de 1,99 mg/g dw demonstrando que a enzima xilanase foi eficaz na degradação dos polissacarídeos da parede celular de *M. stellatus*. Dumay *et al.*, (2013) mostraram uma diferença de eficiência quando o processo é otimizado, sem a otimização a eficiência foi de 3,28 ± 0,64 g/kg dw e após a otimização aumentou para 12,36 ± 0,37 g/kg dw, utilizando a enzima xilanase. Para a alga *Gracilaria*, utilizando a enzima xilanase com endocelulase para extração de PE, obteve-se rendimento de extração de 6,25 mg/g.

3.4 Outras Extrações

Além da maceração, congelamento-descongelamento, ultrassom e hidrólise enzimática, outros processos também foram encontrados (Tabela 3).

Tabela 3 – Diferentes extrações da FE em espécies de microalgas

Espécie	Ruptura do tecido/ Método de extração	Rendimento / eficiência de extração	Referência
<i>Spirulina</i> (<i>Arthrospira</i>) <i>platensis</i>	Diferentes líquidos iônicos próticos (LIPs), agitação mecânica e aquecimento	0.64 g/L (2-HEAA+2-HEAF)	Rodrigues <i>et al.</i> , (2019)
<i>Porphyridium</i> <i>cruentum</i>	Líquidos pressurizados	16.51 ± 0.21mg/g	Gallego <i>et al.</i> , (2019)
<i>Porphyridium</i> <i>cruentum</i>	Tratamentos de campo elétrico pulsado (PEF)	30 mg/g dw	Martínez <i>et al.</i> , (2019)
<i>Spirulina</i> (<i>Arthrospira</i>) <i>platensis</i>	Ultrassom + líquidos iônicos próticos (LIPs)	0,33 g/l (2-HEAA+2-HEAF)	Rodrigues <i>et al.</i> , (2018)
<i>Porphyridium</i> <i>purpureum</i>	Microondas (40°C)	73.7±2.3 µg/mg	Juin <i>et al.</i> , (2014)
<i>Porphyridium</i> <i>cruentum</i>	Ultrafiltração Processo de membrana: 300.000 + de 10.000	Índice de pureza 2.3.	Marcati <i>et al.</i> , (2014)

Fonte: Autoria propria (2020)

O uso de líquidos iônicos próticos são utilizados devido as condições operacionais exigidas são mais suaves em comparação com outras alternativas. Como os líquidos iônicos são de alto valor, os LIPs foram investigados por terem um preço reduzido. Rodrigues *et al.*, (2018) usaram os LIPs na *Spirulina (Arthrospira) platensis* em conjunto com ultrassom e obtiveram

uma concentração de FE de 0,33 g/L com LIP acetato de 2-hidroxietilamônio (2-HEAA) e formato de 2-hidroxietilamônio (2-HEAF). Rodrigues *et al.*, (2019) utilizaram LIPs com agitação mecânica e aquecimento na *Spirulina* e com o mesmo LIP (2-HEAA + 2-HEAF), obtiveram uma concentração de FE de 0,64 g/L, quase o dobro quando utilizado com ultrassom. A irradiação de micro-ondas consiste na transferência de calor instantânea e homogênea na amostra para quebrar a parede celular, Juin *et al.*, (2014) alcançaram a eficiência máxima de extração ($73,7 \pm 2,3 \mu\text{g/mg}$) com apenas 10 segundos de irradiação, a 40 °C, mostrando que esse procedimento é rápido e tem altos rendimentos.

Porphyridium cruentum foi usado para extrair FE em diferentes processos. Marcati *et al.*, (2014) usaram a ultrafiltração para separar a FE dos polissacarídeos de alto peso molecular, primeiro usando uma membrana de 300.000 e depois uma com 10.000, deixando a FE com índice de pureza de 2,3. A extração com líquidos pressurizados (PLE), é um método que utiliza solventes em altas temperaturas e pressões para a extração de compostos, tem a vantagem de ser um processo mais curto e com menos solvente. Este método foi aplicado na extração de FE e mostrou-se eficiente quando as temperaturas eram mais baixas e com água pressurizada ($16,51 \pm 0,21\text{mg/g}$) (GALLEGO *et al.*, 2019). Os campos elétricos pulsados (PEF), foram eficientes para extração de PE (30 mg g dw) em relação ao processo PEF, pois este processo aumenta a permeabilidade da membrana celular devido à aplicação de pulsos de alta tensão (kV) (MARTÍNEZ *et al.*, 2019).

4. Conclusão

Esse estudo teve como objetivo conhecer de modo geral o que a academia aborda sobre a extração da proteína ficoeritrina em algas, buscando através de uma análise sistemática de literatura encontrar os métodos que estão sendo estudados e utilizados. Com essa revisão sistemática percebe-se que há estudos que buscam o melhor rendimento da extração da FE assim como diferentes métodos e formas para a extração. Os métodos mais encontrados nos estudos foram a maceração, ultrassom, hidrólise enzimática e congelamento-descongelamento.

Ficou evidente que muitos estudos buscam a otimização dos métodos de extração, assim a contribuição desde trabalho está em reconhecer que há uma literatura no tema em questão, podendo trazer em futuros estudos uma análise mais aprofundada e abrangente, como por exemplo verificar quais são as algas com maior extração de FE e os diferentes processos de purificação.

Referências

BARKIA, I.; SAARI, N.; MANNING, S. R. Microalgae for High-Value Products Towards Human Health and Nutrition. **Mar. Drugs**, v.17, n.5, p. 304, 2019.

CHOI, W.; LEE, H. Effect of Ultrasonic Extraction on Production and Structural Changes of C-Phycocyanin from Marine *Spirulina maxima*. **International Journal of Molecular Sciences**, v.19, n.1, p. 220, 2018.

CHRISTAKI, E.; BONOS, E.; FLOROU-PANERI, P. Innovative Microalga Pigments as Functional Ingredients in Nutrition. In: KIM (org.). **Handbook of Microalgae: Biotechnology Advances**. Elsevier, 2015, p. 233-243.

DENIS C., MICHÈLE M., PIERRE G., FLEURENCE, J. Effect of enzymatic digestion on thallus degradation and extraction of hydrosoluble compounds from *Grateloupia turuturu*. **Bot Mar**, v. 52, p. 262–267, 2009.

DUMAY, J., CLEMENT, N., MORANÇAIS, M., FLEURENCE, J. Optimization of hydrolysis conditions of *Palmaria palmata* to enhance R-phycoerythrin extraction. *Bioresource Technology*, v. 131, p. 21–27, 2013.

FRANCAVILLA, M.; MANARA, P.; KAMATEROU, P.; MONTELEONE, M.; ZABANIOTOU, A. Cascade approach of red macroalgae *Gracilaria gracilis* sustainable valorization by extraction of phycobiliproteins and pyrolysis of residue. **Bioresource Technology**, v.184, p. 305-313, 2015.

GALLEGO, R.; MARTÍNEZ, M.; CIFUENTES, A.; IBÁÑEZ, E.; HERRERO, M. Development of a Green Downstream Process for the Valorization of *Porphyridium cruentum* Biomass. **Molecules**, v.24, n.8, 2019.

GÜNERKEN, E.; D'HONDT, E.; EPPINK, M. H. M.; GARCIA-GONZALEZ, L.; ELST, K.; WIJFFELS, R. H. Cell disruption for microalgae biorefineries. **Biotechnology Advances**, v.33, n.2, p. 243-260, 2015.

GUILLARD, L. C.; DUMAY, J.; DONNAY-MORENO, C.; BRUZAC, S., RAGON, J.-Y., FLEURENCE, J.; BERGÉ, J.-P. Ultrasound-assisted extraction of R-phycoerythrin from *Grateloupia turuturu* with and without enzyme addition. **Algal Research**, v.12, p. 522-528, 2015.

HEMLATA, A. S.; FATMA, T. Extraction, purification and characterization of phycoerythrin from *Microchaete* and its biological activities. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v.13, p. 84-89, 2018.

IBÁÑEZ-GONZÁLEZ, M. J.; MAZZUCA-SOBCZUK, T.; REDONDO-MIRANDA, R. M.; MOLINA-GRIMA, E.; COONEY, C. L. A novel vortex flow reactor for the purification of B-phycoerythrin from *Porphyridium cruentum*. **Chemical Engineering Research and Design**, v.111, p. 24-33, 2016.

JUNG, S.-M.; PARK, J. S.; SHIM, H. J.; KWON, Y. S.; KIM, H. G.; SHIN, H. S. Antioxidative effect of phycoerythrin derived from *Grateloupia filicina* on rat primary astrocytes. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v.21, n.5, p. 676-682, 2016.

JUIN, C.; CHÉROUVRIER, J.-R.; THIÉRY, V.; GAGEZ, A.-L.; BÉRARD, J.-B.; JOGUET, N.; ... PICOT, L. Microwave-Assisted Extraction of Phycobiliproteins from *Porphyridium purpureum*. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.175, n.1, p.1-15, 2014.

KAMBLE, S. P.; VIKHE, G. P.; CHAMLE, D. R. Extraction and Purification of Phycoerythrin-A Natural Colouring Agent from *Spirulina platensis*. **Journal of Pharmaceutical**, v.6, n.2, p. 78-84, 2018.

KHAN, Z.; WAN MAZNAH, W. O.; FARADINA MERICAN, M. S. M.; CONVEY, P.; NAJIMUDIN, N.; ALIAS, S. A. A comparative study of phycobilliprotein production in two strains of *Pseudanabaena* isolated from Arctic and tropical regions in relation to different light wavelengths and photoperiods. **Polar Science**, v. 20, n. 7, p. 3-8, 2018.

LIU, L.-N. ; SU, H.-N. ; YAN, S.-G. ; SHAO, S.-M. ; XIE, B.-B. ; CHEN, X.-L. ; ... ZHANG, Y.-Z. Probing the pH sensitivity of R-phycoerythrin: Investigations of active conformational and functional variation. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics**, v.1787, n.7, p. 939-946, 2009.

LAUCERI, R.; CHINI ZITTELLI, G.; TORZILLO, G. A simple method for rapid purification of phycobiliproteins from *Arthrospira platensis* and *Porphyridium cruentum* biomass. **Algal Research**, v.44, p. 101685, 2019.

MANIRAFASHA, E.; NDIKUBWIMANA, T.; ZENG, X.; LU, Y.; JING, K. Phycobiliprotein: Potential microalgae derived pharmaceutical and biological reagent. **Biochemical Engineering Journal**, v.109, p. 282-296. 2016.

MARCATI, A.; URSU, A. V.; LAROCHE, C.; SOANEN, N.; MARCHAL, L.; JUBEAU, S.; ... MICHAUD, P. Extraction and fractionation of polysaccharides and B-phycoerythrin from the microalga *Porphyridium cruentum* by membrane technology. **Algal Research**, v.5, p. 258-263, 2014.

MARTINEZ-PORCHAS, M.; MARTINEZ-CORDOVA, L. R.; LOPEZ-ELIAS, J. A.; PORCHAS-CORNEJO, M. A. Bioremediation of Aquaculture Effluents. **Microbial Biodegradation and Bioremediation**, p. 539-553, 2014.

MARTÍNEZ, J. M.; DELSO, C.; ÁLVAREZ, I.; RASO, J. Pulsed electric field permeabilization and extraction of phycoerythrin from *Porphyridium cruentum*. **Algal Research**, v.37, p. 51-56, 2019.

MENSI, F.; KSOURI, J.; SEALE, E.; ROMDHANE, M. S.; FLEURENCE, J. A statistical approach for optimization of R-phycoerythrin extraction from the red algae *Gracilaria verrucosa* by enzymatic hydrolysis using central composite design and desirability function. *Journal of Applied Phycology*, v. 24, n. 4, p. 915–926, 2011.

MITTAL, R.; TAVANANDI, H. A.; MANTRI, V. A.; RAGHAVARAO, K. S. M. S. Ultrasound assisted methods for enhanced extraction of phycobiliproteins from marine macro-algae, *Gelidium pusillum* (Rhodophyta). **Ultrasonics Sonochemistry**, v.38, p. 92-103, 2017.

MULDERS, K. J. M.; LAMERS, P. P.; MARTENS, D. E.; WIJFFELS, R. H. Phototrophic pigment production with microalgae: biological constraints and opportunities. **Journal of Phycology**, v.50, n.2, p. 229-242, 2014.

NGUYEN, H. P. T.; MORANÇAS, M.; FLEURENCE, J.; DUMAY, J. *Mastocarpus stellatus* as a source of R-phycoerythrin: optimization of enzyme assisted extraction using response surface methodology. **Journal of Applied Phycology**, v.29, n.3, p. 1563-1570, 2016.

PAN, Q.; CHEN, M.; LI, J.; WU, Y.; ZHEN, C.; LIANG, B. Antitumor function and mechanism of phycoerythrin from *Porphyra haitanensis*. **Biological Research**, v.46, n.1, p. 87-95, 2013.

PEREIRA, T.; BARROSO, S.; MENDES, S.; AMARAL, R. A.; DIAS, J. R.; BAPTISTA, T.; ... GIL, M. M. Optimization of phycobiliprotein pigments extraction from red algae *Gracilaria gracilis* for substitution of synthetic food colorants. **Food Chemistry**, 321, 2020.

PAGELS, F.; GUEDES, A. C.; AMARO, H. M.; KIJJOA, A.; VASCONCELOS, V. Phycobiliproteins from cyanobacteria: Chemistry and biotechnological applications. **Biotechnology Advances**, v.37, p. 422-443, 2019.

RANJITHA K.; KAUSHIK B.D. Purification of phycobiliproteins from *Nostoc muscorum*. **Journal of Scientific & Industrial Research**, v. 64, p. 372-375, 2015.

RODRIGUES, R. D. P.; DE LIMA, P. F.; SANTIAGO-AGUIAR, R. S.; ROCHA, M. V. P. Evaluation of protic ionic liquids as potential solvents for the heating extraction of phycobiliproteins from *Spirulina (Arthrospira) platensis*. **Algal Research**, v.38, p. 101391, 2019.

RODRIGUES, R. D. P.; DE CASTRO, F. C.; SANTIAGO-AGUIAR, R. S.; ROCHA, M. V. P. Ultrasound-assisted extraction of phycobiliproteins from *Spirulina (Arthrospira) platensis* using protic ionic liquids as solvent. **Algal Research**, v.31, p. 454-462, 2018.

SEKAR, S.; CHANDRAMOHAN, M. Phycobiliproteins as a commodity: trends in applied research, patents and commercialization. **Journal of Applied Phycology**, v.20, n.2, p. 113-136, 2007.

SFRISO, A. A.; GALLO, M.; BALDI, F. (2018). Phycoerythrin productivity and diversity from five red macroalgae. **Journal of Applied Phycology**, v.30 n.4, p. 2523-2531, 2018.

WANG, C., SHEN, Z., CUI, X., JIANG, Y., JIANG, X. Response surface optimization of enzyme-assisted extraction of R-phycoerythrin from dry *Pyropia yezoensis*. *Journal of Applied Phycology*, v.32, n.4, p. 1429-1440, 2020.