

Advances in microalgal biotechnology in Costa Rica: contributions from the Costa Rica Institute of Technology


Avances en biotecnología microalgal en Costa Rica: contribuciones del Instituto Tecnológico de Costa Rica


Francinie Murillo-Vega¹, Margie Faith-Vargas², Mauricio Chicas-Romero³, Karla Meneses-Montero⁴, Fabián Villalta-Romero⁵

Murillo-Vega, F; Faith-Vargas, M; Chicas-Romero, M; Meneses-Montero, K; Villalta-Romero, F. Advances in microalgal biotechnology in Costa Rica: contributions from the Costa Rica Institute of Technology. *Tecnología en Marcha*. Vol. 37, N° especial. 30 Aniversario del Centro de Investigación en Biotecnología. Noviembre, 2024. Pág. 54-68.


 <https://doi.org/10.18845/tm.v37i9.7609>


1 Centro de Investigación en Biotecnología, Instituto Tecnológico de Costa Rica, Costa Rica.

 frmurillo@itcr.ac.cr

 <https://orcid.org/0000-0002-2751-8390>

2 Centro de Investigación en Administración, Economía y Gestión Tecnológica, Instituto Tecnológico de Costa Rica, Costa Rica.

 mfaith@itcr.ac.cr

 <http://orcid.org/0000-0002-8750-8100>

3 Centro de Investigación en Biotecnología, Instituto Tecnológico de Costa Rica, Costa Rica.

 mchicas@itcr.ac.cr

 <https://orcid.org/0000-0002-5046-1740>

4 Centro de Investigación en Biotecnología, Instituto Tecnológico de Costa Rica, Costa Rica.

 kmeneses@itcr.ac.cr

 <https://orcid.org/0009-0008-4062-7728>

5 Centro de Investigación en Biotecnología, Instituto Tecnológico de Costa Rica, Costa Rica.

 fvillalta@itcr.ac.cr

 <https://orcid.org/0000-0001-7484-8125>

Keywords

Biotechnology; environment; agriculture; food; biofuels; microalgae.

Abstract

Microalgal biotechnology in Costa Rica is a constantly growing field of research. The Microalgae research group of the Biotechnology Research Center (CIB) at Costa Rica Institute of Technology (ITCR) carries out research with microalgae in different areas, including environmental and agricultural applications, and food and biofuel development. In these fields, microalgae have been used to develop solutions to various national needs. This review addresses the main applications of microalgae in four key areas: environment, food, agriculture and bioenergy, at the national level, highlighting the contribution of this research group in the country. In addition, the challenges and opportunities that microalgal biotechnology must face for its effective integration in society and its potential to contribute to the environmental, social and economic development of Costa Rica are discussed.

Palabras clave

Biología; ambiente; agrícola; alimenticio; biocombustible; microalgas.

Resumen

La biotecnología microalgal en Costa Rica es un campo de investigación en constante crecimiento. El grupo de investigación en Microalgas del Centro de Investigación en Biotecnología (CIB) del Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITCR) realiza investigaciones con microalgas en distintas áreas, incluyendo aplicaciones ambientales y agrícolas, y desarrollo de alimentos y biocombustibles. En estos campos, las microalgas se han utilizado para desarrollar soluciones a diversas necesidades nacionales. Esta revisión aborda las principales aplicaciones de las microalgas en cuatro áreas clave: ambiente, alimentación, agricultura y biocombustibles, a nivel nacional, destacando el aporte de este grupo de investigación en el país. Además, se discuten los desafíos y oportunidades que la biotecnología microalgal debe de enfrentar para su integración efectiva en la sociedad y su potencial para contribuir al desarrollo ambiental, social y económico de Costa Rica.

Introducción

Las microalgas son organismos unicelulares fotosintéticos y pueden crecer en diversos ambientes acuáticos y terrestres. Son productoras primarias, aportando nutrientes a las cadenas alimenticias y afectando los ciclos del carbono, nitrógeno y otros elementos. Se han cultivado en estanques abiertos y fotobiorreactores, y aunque son productivas, el cultivo en estanques presenta desafíos como la autolimitación de la luz y las plagas. Por su parte, los fotobiorreactores ofrecen una producción más controlada, pero mayores costos [1]. Su capacidad para capturar CO₂ y degradar sustratos diversos las convierten en una herramienta valiosa para combatir el cambio climático y en procesos de biorremediación [1]; por su diverso metabolismo y perfil nutricional presentan aplicaciones en la elaboración de alimentos [2]; por su rol en los ecosistemas pueden utilizarse en agricultura sostenible [3]; y por el contenido lipídico de algunas especies, son útiles en la producción de biocombustibles [4]. Sin embargo, los avances en el uso y aplicación de las microalgas son limitados por la falta de financiamiento para la investigación, operaciones a pequeña escala y en su implementación [6].

Desde el 2020, el ITCR es contraparte nacional a la Red RENUWAL, una colaboración multidisciplinaria que impulsa el uso sostenible de microalgas para el reciclaje de residuos en la industria y el medio ambiente, en concordancia con la Economía Circular (Figura 1). Esta red reúne a 35 grupos, incluidos centros de investigación y desarrollo (I+D) y empresas de nueve países iberoamericanos —entre ellos Costa Rica—, además de entidades de Portugal, Brasil y España, todos comprometidos con el objetivo de desarrollar estrategias innovadoras para la valorización de la biomasa algal [14].

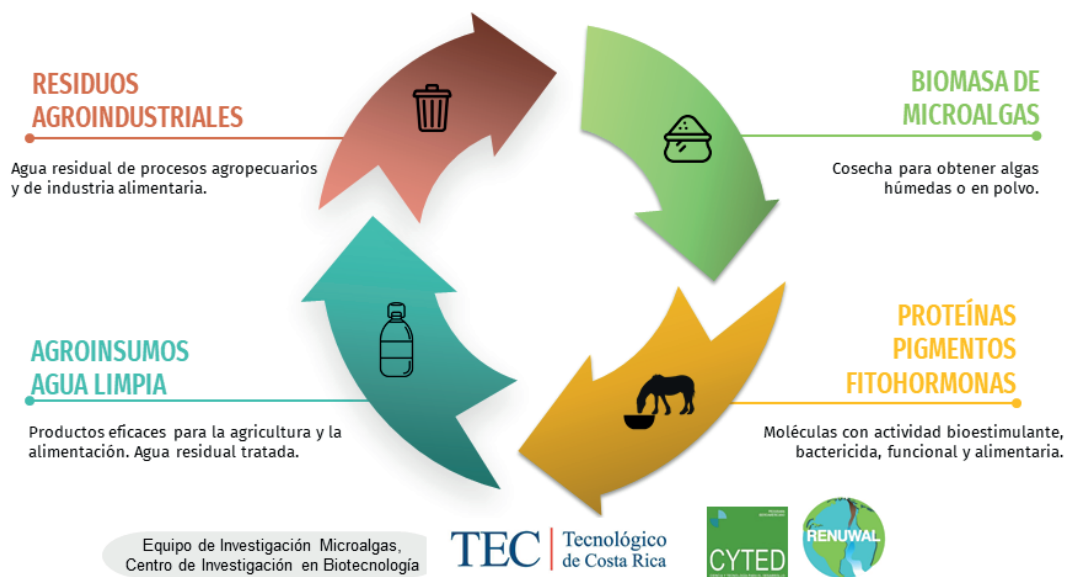


Figura 1. Revalorización de efluentes agroindustriales y producción de microalgas bajo un modelo de economía circular desarrollado en el Instituto Tecnológico de Costa Rica (Adaptado de Faith y Ferreira, 2022) [15].

En la actualidad, el ITCR cuenta con un prototipo de modelo del montaje de tanquetas y estanques para el escalamiento del cultivo microalgal, con el fin de obtener biomasa para diferentes aplicaciones (Figura 2).

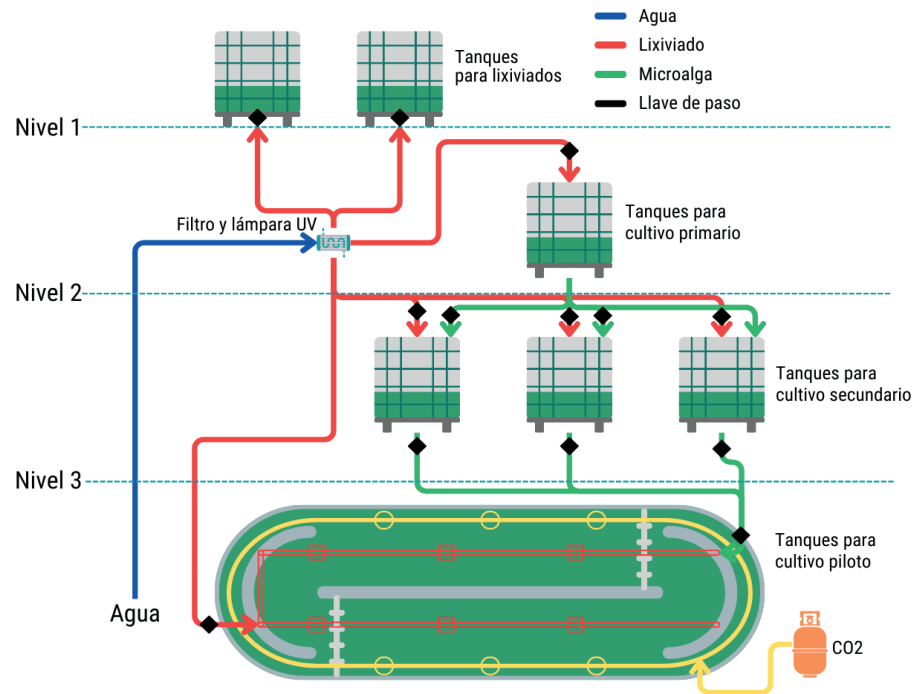


Figura 2. Prototipo modelo del montaje de las tanquetas y estanques para el escalamiento del cultivo de microalgas implementado en el Centro de Investigación en Biotecnología del Instituto Tecnológico de Costa Rica.

Aplicaciones de las microalgas en el campo ambiental

La eficiencia en la captura de CO_2 de las microalgas es notablemente alta con respecto a las plantas terrestres; en comparación, se estima que las microalgas pueden capturar hasta 10 veces más CO_2 que las plantas; por ejemplo, 280 toneladas/ha/año de microalgas secuestran 514 toneladas de CO_2 consumiendo un 10% de energía solar [7]. Esta alta eficiencia se debe a varios factores, incluyendo su rápida tasa de crecimiento, y su capacidad para crecer en condiciones adversas y para utilizar diferentes fuentes de carbono, como el CO_2 atmosférico, el bicarbonato, y el dióxido de carbono disuelto en el agua [8]. Por lo anterior, pueden emplearse en sistemas de captura y almacenamiento de carbono, donde aprovechan CO_2 de emisiones industriales o de combustión y lo convierten en biomasa que puede ser utilizada para la producción de biocombustibles o productos químicos [1]. También son útiles en sistemas de tratamiento de aguas residuales para eliminar contaminantes y nutrientes como el nitrógeno y el fósforo [9] y, durante este proceso, capturan CO_2 y producen oxígeno, lo que ayuda a mejorar aún más la calidad del agua y reducir la huella de carbono del proceso de tratamiento de aguas residuales en general [10].

La capacidad única de las microalgas para degradar una amplia gama de contaminantes orgánicos e inorgánicos, como hidrocarburos, metales pesados y pesticidas [11], las convierte en una herramienta eficaz para la biorremediación de aguas y suelos contaminados. Además, producen enzimas y compuestos bioactivos, que las hacen ideales para la recuperación de entornos contaminados porque aceleran los procesos naturales de restauración [12].

El grupo de investigación en microalgas del Centro de Investigación en Biotecnología del ITCR inició sus investigaciones estudiando las propiedades de algunas microalgas nativas de Costa Rica. Las aplicaciones ambientales (Cuadro 1) iniciaron en el año 2013, cuando se inició el

primer proyecto enfocado en el aprovechamiento de residuos, en donde se aprovechó parte del efluente de un biodigestor y un emisor de CO₂. Algunos de los proyectos más recientes desarrollados en esta área se han centrado en la disminución de las huellas de carbono en la producción de peces de cultivo. Los resultados preliminares han mostrado que el uso de microalgas acoplado a un aprovechamiento de los efluentes del cultivo puede reducir la huella de carbono de la producción de tilapia a valores cercanos a cero cuando se comercializan las tilapias en comunidades cercanas al sitio de producción.

Por otro lado, el proyecto “Desarrollo de una estrategia interinstitucional para la reducción de contaminantes emergentes en cuerpos de agua de la GAM, Costa Rica” busca aprovechar las capacidades de las microalgas para la recuperación de cuerpos de agua urbanos. Los resultados preliminares del proyecto muestran que las aguas de cuerpos de agua urbanos analizados presentan toxicidad a pesar de que no se detecten contaminantes comunes o emergentes conocidos. Se analizaron por cromatografía de gases-espectrometría de masas más de 80 compuestos relacionados con contaminación por aire, plaguicidas, fármacos y otros, sin encontrar ninguno en niveles elevados, por lo que se considera que las cantidades están por debajo de límites de alerta o detección; sin embargo, es posible que la acción conjunta de varios compuestos genere toxicidad, que se evidenció mediante la prueba de inhibición del crecimiento según directrices de la OCDE para el ensayo de sustancias químicas, sección 2, prueba 201 “Algas de Agua Dulce y Cianobacterias”. A pesar de que el origen certero de la toxicidad se desconoce, el cultivo de microalgas eliminó el efecto tóxico, evaluado como inhibición del crecimiento, de las muestras de cuerpos de agua urbanos, y se están realizando pruebas de ajustes de dosis en condiciones de campo variables, con lo cual se busca generar una guía para la implementación de procesos de biorremediación en cuerpos de agua contaminados.

Cuadro 1. Proyectos desarrollados en el campo ambiental por el Laboratorio de Microalgas del Centro de Investigación en Biotecnología del Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITCR).

| Proyecto | Productos | Financiamiento | Vigencia y estado actual |
|---|--|--|-------------------------------|
| Biorrefinería de microalgas: Desarrollo de un proceso integral sostenible para la producción de compuestos bioactivos a base de microalgas para la agricultura, ganadería y acuicultura | Sistema de cultivo de microalgas mediante consorcios. Artículo publicado “Advances in the Development of Biofertilizers and Biostimulants from Microalgae” [13] | Consejo Nacional para Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT); Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED) | 2021-2023 Finalizado |
| Acuicultura Descarbonizada: Mitigación de carbono mediante la generación de suplementos alimenticios con microalgas nativas | Modelos de producción y aprovechamiento de biomasa microalgal con muy baja huella de carbono | Ministerio de Planificación Nacional y Política Económica (MIDEPLAN)-Unión Europea | 2022 - 2023 Finalizado |
| Desarrollo de una estrategia interinstitucional para la reducción de contaminantes emergentes en cuerpos de agua de la GAM, Costa Rica | Desarrollo de procesos de biorremediación con microalgas en cuerpos de agua contaminados | Vicerrectoría de Investigación y Extensión, ITCR | 2023 - 2024 En proceso |

Aplicaciones de las microalgas en el campo alimenticio

Las aplicaciones de las microalgas en la alimentación humana y animal son campos en auge en Costa Rica, siendo más diversos los reportes en el sector agropecuario y más recientemente dirigidos a la alimentación humana.

Productos alimenticios en el sector agropecuario

El primer proyecto del ITCR en este tema realizó un estudio de factibilidad para la producción de la microalga espirulina y su utilización en el concentrado para cerdos en el año 2019 [16]. La colaboración entre el ITCR y Grupo Zamora concluyó en el diseño del proceso e infraestructura requerida para el aprovechamiento de las microalgas para el tratamiento de aguas residuales, la captura de carbono y como fuente de alimento rico en proteínas para animales. La inversión proyectada para una producción en 1 ha de terreno fue de aproximadamente USD 1.3 millones para operar durante 5 años, lo cual se considera un valor promedio para proyectos de esta dimensión. Además, se resaltó que el costo del recurso humano es elevado, debido a la mano de obra intensiva necesaria por la falta de tecnología especializada.

En 2017, se estudiaron dietas con y sin microalgas para pollos de engorde y se evaluó la conversión alimenticia de la progenie resultante. Tras el análisis de la penetración espermática durante 24 semanas, se encontró una mayor fertilidad en las aves tratadas con microalgas [17]. Una investigación subsiguiente desarrollada conjuntamente por el Laboratorio de Microalgas del ITCR y la escuela de Zootecnia de la Universidad de Costa Rica (UCR) reveló el potencial de *Arthrospira maxima* como aditivo en alimento para gallinas ponedoras. La inclusión de 4% de microalgas en las dietas no afectó el rendimiento productivo, mientras que un 6% de microalgas generó un color de yema aceptable para el mercado local sin necesidad de colorantes en el concentrado [18].

En el campo acuícola se emplea el fitoplancton cultivado para satisfacer necesidades nutricionales en fases larvianas de peces y especies marinas; el fitoplancton se utiliza en forma de pasta preservada congelada o incorporada en los alimentos formulados [19]. En esta línea, el Laboratorio de Fitoplancton de la Universidad Nacional (UNA), ubicado en la Estación de Biología Marina en Puntarenas, suministra *Isochrysis sp.* para alimentar ostras [20]. En colaboración con este laboratorio, el ITCR investigó los efectos de la longitud de onda de luz, el fotoperiodo y la salinidad en la producción de *Isochrysis galbana*[21].

El ITCR, en colaboración con el Instituto Costarricense de Pesca y Acuicultura (INCOPESCA), ha progresado en la investigación del potencial de la microalga *A. maxima* como suplemento en dietas acuícolas, lo que resultó en el desarrollo de un alimento suplementado que reduce el factor de conversión alimenticia en tilapia de 2.3 a 1.67 en ejemplares de 141 días de edad. Además, se ha proporcionado capacitación en este tema a 87 productores, con el apoyo de la Unión Europea y la Promotora Costarricense de Innovación e Investigación [22].

Investigación y aplicaciones para el consumo humano

Más allá de la alimentación animal, las microalgas son reconocidas por sus beneficios nutricionales en la dieta humana. Ricas en proteínas, hierro, vitamina B, ácidos grasos y antioxidantes, las microalgas se consideran alimentos de alto valor nutricional y un complemento ideal de las dietas basadas en plantas. A nivel nutraceutico, se ha evidenciado el efecto positivo del consumo de cápsulas de espirulina en la reducción de ansiedad y reducción de tejido graso en mujeres universitarias [23]. Investigaciones recientes han identificado isómeros de α -tococomoenol en microalgas [24], subrayando el valor nutricional que aportan estos microorganismos. Tales hallazgos apuntan hacia las microalgas como una fuente prometedora de compuestos esenciales beneficiosos para la salud y la nutrición.

La investigación del ITCR sobre tecnologías de cultivo y procesamiento ha sido sumamente importante para obtener biomasa microalgal de alta calidad, que conserve sus propiedades nutricionales y sensoriales, con miras al uso de las microalgas como materia prima de diversos alimentos, en porcentajes mayores a una dosis nutraceútica.

En esta línea, el Laboratorio de Microalgas del ITCR ha gestado varios proyectos (Cuadro 2) para buscar soluciones tecnológicas para incorporarlas en alimentos, con un enfoque centrado en el consumidor, para satisfacer las necesidades nutricionales y maximizar la aceptación sensorial. El proyecto “Desarrollo de un producto alimenticio a partir de biomasa microalgal de *Arthrospira maxima* con alto valor nutricional”, con la participación del ITCR, la UCR y el Centro Nacional de Innovaciones Biotecnológicas (CENIBiot), permitió desarrollar una metodología de procesamiento de la biomasa de *A. maxima* y la creación de una fórmula cítrica de una bebida con espirulina. Por su parte, en el proyecto “Alimentómica de microalgas”, se investigó la producción de biomasa de diversas microalgas enriquecida con oligoelementos, y posteriormente la incorporación en prototipos de alimento animal y humano. En este mismo proyecto Corrales [26], investigó diversos tratamientos de desodorización de la biomasa del alga *A. maxima* con miras a la incorporación en una barra de cereal; entre estos, se probó la fermentación de la biomasa microalgal con levaduras y bacterias, y la adición de esencias naturales previas al secado. Los resultados mostraron el potencial de la fermentación alcohólica para mejorar el aroma, así como el aumento de la aceptabilidad general de la biomasa seca con la adición de esencia de menta [26].

Cuadro 2. Proyectos desarrollados en el campo alimenticio por el Laboratorio de Microalgas del Centro de Investigación en Biotecnología del Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITCR).

| Proyecto | Productos | Financiamiento | Vigencia y Estado |
|---|---|--|---------------------------|
| Desarrollo de un producto alimenticio a partir de biomasa microalgal de <i>Arthrospira maxima</i> con alto valor nutricional | Proceso para producción/ cosecha/secado y caracterización fisicoquímica de <i>A. maxima</i> Producto mínimo viable de una bebida verde fuente de proteína microalgal de <i>A. maxima</i> | Consejo Nacional de Rectores (CONARE) | 2020 - 2023 Finalizado |
| Alimentómica de microalgas: determinación de metabolitos primarios y secundarios en biombras microalgales para la elaboración de alimentos funcionales | Protocolo de producción de microalgas suplementadas con Manganeso y Selenio Protocolo para obtención de nibs de <i>A. maxima</i> suplementada y deodorizada Fórmula de una barra de cereal suplementada con <i>I. galbana</i> | Vicerrectoría de Investigación y Extensión, ITCR | 2020 - 2023 Finalizado |
| Caracterización del contenido proteico y lipídico de biombras obtenidas de las microalgas <i>Isochrysis galbana</i> y <i>Arthrospira maxima</i> como fuente potencial en alimentos funcionales (FASE I) | Caracterización físico química de las biombras microalgales | Vicerrectoría de Investigación y Extensión, ITCR | 2018- 2019 Finalizado |
| Desarrollo sostenible en acuicultura: Nutrición de alevines con nuevo suplemento microalgal rico en proteína | Un producto mínimo viable de alimento extrusado para tilapia, suplementado con <i>A. maxima</i> | Vicerrectoría de Investigación y Extensión, ITCR | 2021-2022 Finalizado |

Aplicaciones de las microalgas en el campo agrícola

Las microalgas juegan un papel importante ante los retos de la agricultura, que garantizan la seguridad alimentaria y, a la vez, de hacerlo con prácticas sostenibles. Diversas investigaciones han demostrado el efecto de las microalgas como fijadoras de nitrógeno [28], participantes del ciclo del fósforo [29], efectos moduladores en las comunidades microbiológicas [30], promotoras de crecimiento de otras especies, reciclaje de nutrientes, liberación de fitohormonas, efectos biocontroladores [31], [32] y de estabilización del suelo [31], [33]. Las microalgas tienen también la capacidad de fijar el dióxido de carbono CO₂ [34] y producir carbohidratos simples o exopolisacáridos que ayudan a mejorar la estructura del suelo [35].

Las microalgas incluyen a un diverso grupo de microorganismos fotosintéticos que incluye Cianobacterias (organismos procariontas) y eucariotas. Las cianobacterias pueden utilizarse como biofertilizantes porque pueden fijar nitrógeno atmosférico (N₂) y solubilizar el fósforo que se encuentra inmovilizado en el suelo [36].

También se pueden utilizar las microalgas como bioestimulantes, en donde diversas investigaciones han mostrado efectos positivos en cultivos agrícolas, como incremento en la longitud de las raíces, aumento en las cosechas, mejora en la calidad de los frutos, tolerancia a la salinidad, aumento en la actividad fotosintética y resistencia al ataque de patógenos.

En el ITCR se ha desarrollado la investigación en el uso de las microalgas en la agricultura en diversos proyectos (Cuadro 3); desde el año 2017 se inició con el proyecto “Evaluación del potencial biofertilizante de la biomasa de especies de microalgas nativas de Costa Rica” el cual tenía como objetivo determinar el potencial biofertilizante de la biomasa microalgal utilizando tres especies de microalgas nativas de Costa Rica. En este primer abordaje fue posible demostrar el efecto positivo de la aplicación de las microalgas en cultivos como chile dulce, alcanzando incrementos en la producción de hasta un 20%. Posteriormente, por medio del proyecto “Determinación de las características fisicoquímicas y evaluación de la viabilidad económica de un prototipo de biofertilizante a base de microalgas costarricenses (Fase II)” se logró avanzar en el desarrollo de microalgas como bioinsumo agrícola mediante una formulación que permitió mantener la viabilidad de las microalgas a temperatura ambiente. Posteriormente se inició el proyecto “NanoBiofertilizantes: Uso de arcillas en la preparación de Emulsiones de *Pickering* para formulados agrícolas a partir de biomasa microalgal de *Arthrospira máxima*”, en el cual se combinaron los beneficios de las arcillas con las microalgas, en este caso como agentes surfactantes para la generación de bioinsumos en los que se reduce el uso de ingredientes derivados del petróleo.

Con estos avances a nivel académico, se detectó la necesidad de poder llevar estas tecnologías a los agricultores, por lo que actualmente se trabaja en propuestas de proyectos de extensión para poder validar y transferir la implementación de las microalgas en los programas de manejo de diversos cultivos en Costa Rica.

Cuadro 3. Proyectos desarrollados en el campo agrícola por el Laboratorio de Microalgas del Centro de Investigación en Biotecnología del Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITCR).

| Proyecto | Productos | Financiamiento | Vigencia y estado |
|---|---|--|---------------------------|
| Evaluación del potencial biofertilizante de la biomasa de especies de microalgas nativas de Costa Rica | Resultados de campo del efecto de las microalga en hortalizas. Artículo publicado "Biotecnología microalgal en Costa Rica: Oportunidades de negocio para el sector productivo nacional" [37] | Vicerrectoría de Investigación y Extensión, ITCR | 2017 – 2018 Finalizado |
| Determinación de las características fisicoquímica y evaluación de la viabilidad económica de un prototipo de biofertilizante a base de microalgas costarricenses (Fase II) | Formulación de bioestimulantes con biomasa de microalga (secreto industrial) | Vicerrectoría de Investigación y Extensión, ITCR | 2019- 2021 Finalizado |
| NanoBiofertilizantes: Uso de arcillas en la preparación de Emulsiones de <i>Pickering</i> para formulados agrícolas a partir de biomasa microalgal de <i>Arthrospira máxima</i> | Formulación de emulsiones Pickering | Vicerrectoría de Investigación y Extensión, ITCR | 2020 –2023 Finalizado |

Aplicaciones de las microalgas en el campo de los biocombustibles

Desde hace unos años, Costa Rica ha estado promocionando el uso de biocombustibles como una alternativa sostenible a los combustibles fósiles. En el país la principal fuente de biocombustibles es el etanol derivado de los cultivos de la caña de azúcar [38] y el biodiesel obtenido de los cultivos de aceite de palma [39] y de *Jatropha* [40]. La producción de biocombustibles se realiza principalmente a nivel local, lo que contribuye a la seguridad energética y al desarrollo económico rural. En el sector de transportes los biocombustibles derivados de los cultivos de la caña de azúcar y de la palma aceitera [41], se mezclan con la gasolina y el diésel convencionales [42] para reducir las emisiones de carbono [43] y mejorar la calidad del aire.

En Costa Rica el uso de microalgas como materia prima para elaborar biocombustible, es un área de investigación y desarrollo que ha ganado interés en los últimos años, por su potencial para ofrecer una fuente de energía renovable y sostenible [35],[44]. El país posee ecosistemas adecuados para el cultivo de microalgas, incluyendo estanques, lagunas y áreas costeras. La alta radiación solar y las condiciones climáticas idóneas en algunas regiones del país también favorecen el crecimiento de microalgas [45], [46], [47]. Estos microorganismos pueden ser una fuente prometedora de biocombustibles debido a su alta productividad en la fotosíntesis [48] y a su capacidad para acumular lípidos [49], [50], que pueden ser convertidos en biodiesel [51], [52]. El cultivo de microalgas para biocombustibles ofrece varios beneficios ambientales, incluyendo la captura de dióxido de carbono (CO₂) atmosférico durante la fotosíntesis [44], [53] y la capacidad de crecer en aguas residuales, lo que podría contribuir a la depuración de estas [54].

El ITCR ha estado investigando de forma proactiva el uso de microalgas para la producción de biocombustibles como parte de su compromiso con la investigación en energías renovables y sostenibles. El Laboratorio de Microalgas ha realizado proyectos de investigación para estudiar el cultivo de microalgas para producir biocombustibles (Cuadro 4). Estos proyectos se han centrado tanto en identificar regiones del país donde las condiciones climatológicas favorezcan el cultivo de las microalgas, así como en identificar cepas de microalgas adecuadas para optimizar las condiciones de cultivo localmente y en desarrollar métodos eficientes de cultivo y extracción de lípidos.

Cuadro 4. Proyectos desarrollados en el campo de los biocombustibles por el Laboratorio de Microalgas del Centro de Investigación en Biotecnología del Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITCR).

| Proyecto | Productos | Financiamiento | Vigencia y estado actual |
|--|---|---|--------------------------|
| Desarrollo de un sistema integrado de microalgas para la producción de aceites, acoplado a un biodigestor y a un emisor de CO ₂ | Prototipo modelo del montaje de las tanquetas y estanques para el escalamiento del cultivo microalgal | Vicerrectoría de Investigación y Extensión, ITCR Banco Interamericano de Desarrollo (BID) \$185,000 USD | 2013 –2015 Finalizado |
| Caracterización de actividad lipasa endógena de especies de microalgas y desarrollo de transesterificación <i>in situ</i> para la producción de ésteres etílicos de ácidos grasos, como materia prima para biocombustibles | Perfil de ésteres metílicos de ácidos grasos (FAMES) determinados mediante análisis por cromatografía de gases de una transesterificación <i>in situ</i> por medio de catálisis enzimática de <i>I. galbana</i> . | Vicerrectoría de Investigación y Extensión, ITCR | 2020–2023 Finalizado |

Durante la ejecución del proyecto “Desarrollo de un sistema integrado de microalgas para la producción de aceites, acoplado a un biodigestor y a un emisor de CO₂” se instalaron estanques de producción microalgal acoplados a biodigestores, utilizados por las industrias para mitigar la contaminación por desechos sólidos; además, se les integraron a los cultivos de microalgas fuentes emisoras de CO₂. Los tres sistemas integrados funcionan sosteniéndose uno al otro. Las microalgas necesitan CO₂ para su crecimiento que viene de la industria emisora, y nutrientes que fueron extraídos de los fluidos desechados en el proceso final de la descomposición orgánica del biodigestor, y la energía producida por el biodigestor se utiliza para mover el sistema microalgal (Figura 2). Los tres procesos son de bajo costo, lo que permitió que se lograran instaurar en diversos sitios del país. La producción de biomasa y lípidos a partir de *Chlorella vulgaris* en este sistema generó 0.16 g/L/día de biomasa y 0.025 g/L/día de lípidos, lo cual es comparable con otros estudios con *Chlorella* que han obtenido entre 0.01 – 0.20 g/L/día de biomasa y entre 0.004 – 0.037 g/L/día de lípidos [55], [56], [57]. Por su parte, el proyecto “Caracterización de actividad lipasa endógena de especies de microalgas y desarrollo de transesterificación *in situ* para la producción de ésteres etílicos de ácidos grasos, como materia prima para biocombustibles” tuvo como objetivo principal investigar las lipasas endógenas presentes en las microalgas, y caracterizar su actividad enzimática. Estas enzimas tienen la capacidad de catalizar la hidrólisis de lípidos en ácidos grasos y glicerol; esto es fundamental para producir biocombustibles (ácidos grasos que pueden transformarse en biodiesel) a partir de materiales biológicos [58]; también pueden utilizarse aceites vegetales o grasas animales como sustratos.

El trabajo desarrollado en el Laboratorio de Microalgas del ITCR sobre biocombustibles de microalgas no se ha limitado a la investigación académica, sino que se ha enfocado en la transferencia de tecnología y en la promoción de aplicaciones industriales. A su vez, se mantiene el objetivo del desarrollo de proyectos piloto o la colaboración con empresas públicas o privadas interesadas en la producción comercial de biocombustibles a partir de microalgas. A medida que avanza la investigación y el desarrollo en esta área, se espera que las microalgas jueguen un papel importante en la transición hacia una economía más sostenible y respetuosa con el ambiente.

Desafíos y oportunidades de las aplicaciones microalgales en Costa Rica

El uso de microalgas para la producción de biocombustibles representa una prometedora alternativa ambiental y económica ya que son productoras de aceites, carbohidratos [59] (materia prima para biocombustibles); o bien comprimida la biomasa en forma de pellets para producción de calor y energía [60], [61]; además, a partir de esta biomasa es posible obtener enzimas, proteínas, pigmentos o producir biofertilizantes [62]; producción de compuestos bioactivos para usos terapéuticos bajo modelos sostenibles [27]; y alimento para humanos y animales, lo que permitiría aplicar el concepto de bioeconomía [63].

Entre los desafíos que deben abordarse para que el uso de microalgas como biocombustible sea viable en Costa Rica, se señalan la selección de cepas adecuadas, la optimización de las condiciones de cultivo, la maximización de la productividad y la viabilidad económica de la producción a gran escala.

A nivel ambiental y alimentario, a pesar de los reconocidos beneficios y aplicaciones de las microalgas, la limitada capacidad de producción local para satisfacer la demanda de alimentos y piensos, especialmente para acuicultura, ha requerido la importación de microalgas. Esta dependencia resalta la oportunidad para el desarrollo e investigación y subraya la necesidad de inversiones en capacidades de producción local. Además, la expansión de las microalgas en los sectores agrícola y de alimentos enfrenta desafíos como la aceptación del mercado, limitaciones tecnológicas para el cultivo a gran escala, y la competencia con fuentes de proteínas ya establecidas. Incentivos para la investigación, el desarrollo y la comercialización de productos basados en microalgas podrían catalizar avances en este sector.

En los análisis y estudios de factibilidad realizados para los proyectos de microalgas en el ITCR, se ha determinado que los costos de producción son superiores a los comparados con el uso de materias primas convencionales debido a las economías de escala y requerimientos de mano de obra especializada, entre otros. Los proyectos resultan viables, con indicadores financieros favorables, como la tasa interna de retorno (TIR) y valor actual neto (VAN), donde se ha determinado que se recupera la inversión inicial y se proyectan ganancias adicionales, lo que indica una viabilidad financiera de los proyectos y potencial económico a futuro.

Además, se han identificado limitaciones para llevar los productos al mercado, sobre todo relacionados con la transferencia de tecnología y conocimientos al sector productivo desde la universidad, ya que no hay un modelo para la transferencia de resultados de investigación ni mecanismos de apoyo que favorezcan el proceso.

Conclusiones

Las investigaciones en el tema de biotecnología microalgal en el ITCR han mostrado que estos organismos pueden ser utilizados para resolver necesidades en áreas como la ambiental, la alimenticia, la agrícola y la de los biocombustibles. Pese a las bondades de estos microorganismos, hay retos; entre ellos, la selección adecuada de cepas, direccionadas

para las diferentes aplicaciones, mejorar los rendimientos productivos en sistemas abiertos de cultivo y disminuir los costos de producción. También se requiere aumentar la conciencia sobre los beneficios nutricionales y ambientales de las microalgas entre consumidores y partes interesadas para impulsar la demanda y la aceptación de estos productos y aplicaciones.

Los 20 años de estudios del ITCR en diversas microalgas autóctonas y las aplicaciones más recientes que aprovechan las propiedades de las microalgas para captura de CO₂ y para biorremediación, han trazado una ruta hacia la sostenibilidad y la mitigación del cambio climático. En el futuro, se espera que la investigación en microalgas continúe avanzando en el ITCR, explorando nuevas aplicaciones y optimizando los procesos existentes. Además, es fundamental continuar fomentando la colaboración entre la academia, la industria y el gobierno para impulsar el desarrollo y la implementación de tecnologías basadas en microalgas. Estas colaboraciones pueden facilitar la transferencia de conocimientos, acelerar la adopción de tecnologías sostenibles y promover el crecimiento económico y ambientalmente responsable.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Vicerrectoría de Investigación y Extensión del Instituto Tecnológico de Costa Rica, por financiar y apoyar la Investigación desarrollada en el Laboratorio de Microalgas del Centro de Investigación en Biotecnología del ITCR. También agradecen al INCOPECSA por el apoyo técnico hacia el ITCR en la investigación acuícola desarrollada conjuntamente con el Laboratorio de Microalgas; a la Unión Europea-MIDEPLAN por financiar el proyecto “Acuicultura descarbonizada (2022-2023)”, y al Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo-CYTED (a través de la Red RENUWAL 320rt0005).

Referencias

- [1] E. S. J. Thoré, K. Muylaert, M. G. Bertram, y T. Brodin, «Microalgae», *Current Biology*, vol. 33, n.º 3, pp. R91-R95, 2023, doi: 10.1016/j.cub.2022.12.032.
- [2] L. E. Rioux *et al.*, «Commercial and industrial applications of micro algae – A review», *J Appl Phycol*, vol. 5, n.º 1, pp. 52-63, 2014, doi: 10.1021/jf901070g.
- [3] N. Renuka, A. Guldhe, R. Prasanna, P. Singh, y F. Bux, «Microalgae as multi-functional options in modern agriculture: current trends, prospects and challenges», *Biotechnol Adv*, vol. 36, n.º 4, pp. 1255-1273, 2018, doi: 10.1016/j.biotechadv.2018.04.004.
- [4] B. A. Abdulmajeed y A. R. Ibrahim, «Potential of Microalgae Cultivation in Dairy Wastewater as a Step in Low-Cost Biofuel Production», *Journal of Engineering*, vol. 24, n.º 4, p. 58, 2018, doi: 10.31026/j.eng.2018.04.04.
- [5] Y. Su, K. Song, P. Zhang, Y. Su, J. Cheng, y X. Chen, «Progress of microalgae biofuel's commercialization», *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 74, pp. 402-411, jul. 2017, doi: 10.1016/J.RSER.2016.12.078.
- [6] P. Loke Show, «Global market and economic analysis of microalgae technology: Status and perspectives», *Bioresour Technol*, vol. 357, p. 127329, ago. 2022, doi: 10.1016/J.BIORTECH.2022.127329.
- [7] M. Hasnain *et al.*, «Utilization of microalgal-bacterial energy nexus improves CO₂ sequestration and remediation of wastewater pollutants for beneficial environmental services», *Ecotoxicol Environ Saf*, vol. 267, n.º October, p. 115646, 2023, doi: 10.1016/j.ecoenv.2023.115646.
- [8] Y. Yang, S. Tang, y J. P. Chen, «Carbon capture and utilization by algae with high concentration CO₂ or bicarbonate as carbon source», *Science of the Total Environment*, vol. 918, n.º January, p. 170325, 2024, doi: 10.1016/j.scitotenv.2024.170325.
- [9] L. N. Nguyen *et al.*, «Nutrient Removal by Algae-Based Wastewater Treatment», *Curr Pollut Rep*, vol. 8, n.º 4, pp. 369-383, 2022, doi: 10.1007/s40726-022-00230-x.
- [10] A. Abdelfattah *et al.*, «Microalgae-based wastewater treatment: Mechanisms, challenges, recent advances, and future prospects», *Environmental Science and Ecotechnology*, vol. 13, p. 100205, 2023, doi: 10.1016/j.ese.2022.100205.
- [11] H. E. S. Touliabah, M. M. El-Sheekh, M. M. Ismail, y H. El-Kassas, «A Review of Microalgae-and Cyanobacteria-Based Biodegradation of Organic Pollutants», *Molecules*, vol. 27, n.º 3, 2022, doi: 10.3390/molecules27031141.



- [12] L. M. Gonzalez-Gonzalez y L. E. De-Bashan, «The Potential of Microalgae–Bacteria Consortia to Restore Degraded Soils», *Biology (Basel)*, vol. 12, n.º 5, p. 693, may 2023, doi: 10.3390/biology12050693.
- [13] A. M. Miranda, F. Hernandez-Tenorio, F. Villalta, G. J. Vargas, y A. A. Sáez, «Advances in the Development of Biofertilizers and Biostimulants from Microalgae», *Biology (Basel)*, vol. 13, n.º 3, pp. 1-19, 2024, doi: 10.3390/biology13030199.
- [14] «CYTED». Accedido: 7 de abril de 2024. [En línea]. Disponible en: RENUWAL - Red iberoamericana para el tratamiento de efluentes con microalgas
- [15] M. Faith y A. Ferreira, «Infografías RED RENUWAL - CYTED». Accedido: 9 de abril de 2024. [En línea]. Disponible en: <https://www.cytmed.org/assets/img/redes/108/publicacao/Infografías Red Renuwal - 1 Edición.pdf>
- [16] J. Umaña Venegas, «Es factible producir microalgas para alimento animal y a la vez ayudar al ambiente», Hoy en el TEC. Accedido: 2 de abril de 2024. [En línea]. Disponible en: <https://www.tec.ac.cr/hoyeneltec/2019/09/11/factible-producir-microalgas-alimento-animal-vez-ayudar-ambiente>
- [17] N. Rojas Araya, «Efecto de la suplementación con harina de microalgas sobre el desempeño de reproductores pesados», Tesis de Licenciatura, Universidad de Costa Rica, 2017.
- [18] G. Poveda-Viquez, F. Villalta-Romero, F. Murillo-Vega, M. Guerrero-Barrantes, y C. Salas-Durán, «Effect of inclusion of *Arthrospira maxima* microalgae in laying hen diets on production parameters and egg characteristics», *Revista Brasileira de Ciencia Avícola / Brazilian Journal of Poultry Science*, vol. 25, n.º 4, 2023, doi: 10.1590/1806-9061-2022-1753.
- [19] R. Mariculture, «INSTANT ALGAE® | SINGLE SPECIES FEEDS – Reed Mariculture». Accedido: 4 de abril de 2024. [En línea]. Disponible en: <https://reedmariculture.com/collections/instant-algae-feeds>
- [20] Michelle Soto, «Ostras comen dos toneladas de microalgas cada día | La Nación», San José, 8 de julio de 2017. [En línea]. Disponible en: <https://www.nacion.com/ciencia/medio-ambiente/ostras-comen-dos-toneladas-de-microalgas-cada-dia/LBC46R62TFAZNDVAIBXPF5RCAA/story/>
- [21] S. Ramírez-Flores, M. Guerrero-Barrantes, F. Murillo-Vega, y F. Villalta-Romero, «Efectos de la longitud de onda de luz, el fotoperiodo y la salinidad en los parámetros de producción de *Isochrysis galbana*», *Revista Tecnología en Marcha*, 2023, doi: 10.18845/TM.V3711.6693.
- [22] J. Umaña Venegas, «Alimento con microalgas mejora sustancialmente la producción en tilapias», Hoy en el TEC. Accedido: 2 de abril de 2024. [En línea]. Disponible en: <https://www.tec.ac.cr/hoyeneltec/2023/10/09/alimento-microalgas-mejora-sustancialmente-produccion-tilapias>
- [23] M. M. Beltranena Falla de Enríquez, L. F. Aragón Vargas, y W. Salazar Rojas, «III Simposio Internacional en Ciencias del Deporte y la Salud», en *III simposio Internacional en Ciencias del Deporte y la Salud*, 1996, pp. 24-31.
- [24] A. Montoya-Arroyo, K. Lehnert, P. E. Lux, y others, «11'- α -Tocomonoenol is the major α -tocomonoenol isomer in cyanobacteria and microalgae from Costa Rica», *Journal of Food Composition and Analysis*, 2022, [En línea]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889157521005251>
- [25] F. Bolaños Quirós y A. M. Quiros Blanco, «Desarrollo de un prototipo de bebida verde utilizando espirulina (*Arthrospira* sp.) como ingrediente», 2023.
- [26] C. Corrales Picado, «Establecimiento de un pretratamiento de desodorización óptimo para alterar el perfil organoléptico de *Arthrospira maxima* antes de su adición como suplemento alimenticio en barras de cereal.», Instituto Tecnológico de Costa Rica, 2023.
- [27] K. Núñez-Montero, M. Guerrero-Barrantes, y O. Gómez-Espinoza, «Microalgae-based approaches to overcome the effects of the COVID-19 pandemic», *Tecnología en Marcha*, vol. 35, n.º May, pp. 84-93, 2022.
- [28] J. S. Singh, A. Kumar, A. N. Rai, y D. P. Singh, «Cyanobacteria: A precious bio-resource in agriculture, ecosystem, and environmental sustainability», *Front Microbiol*, vol. 7, n.º APR, pp. 1-19, 2016, doi: 10.3389/fmicb.2016.00529.
- [29] N. Siebers *et al.*, «Towards phosphorus recycling for agriculture by algae: Soil incubation and rhizotron studies using ^{33}P -labeled microalgal biomass», *ALGAL RESEARCH-BIOMASS BIOFUELS AND BIOPRODUCTS*, vol. 43, 2019, doi: 10.1016/j.algal.2019.101634.
- [30] X. Song *et al.*, «Potential applications for multifunctional microalgae in soil improvement», *Front Environ Sci*, vol. 10, n.º October, pp. 1-10, 2022, doi: 10.3389/fenvs.2022.1035332.
- [31] J. A. V Costa, B. C. B. Freitas, C. G. Cruz, J. Silveira, M. G. Morais, y A. L. Gonçalves, «The Use of Microalgae and Cyanobacteria in the Improvement of Agricultural Practices: A Review on Their Biofertilising,

- Biostimulating and Biopesticide Roles», *APPLIED SCIENCES-BASEL*, vol. 11, n.º 5, pp. 366-375, 2021, doi: 10.1080/03601234.2019.1571366.
- [32] J. A. V Costa, B. C. B. Freitas, C. G. Cruz, J. Silveira, y M. G. Morais, «Potential of microalgae as biopesticides to contribute to sustainable agriculture and environmental development», *JOURNAL OF ENVIRONMENTAL SCIENCE AND HEALTH PART B-PESTICIDES FOOD CONTAMINANTS AND AGRICULTURAL WASTES*, vol. 54, n.º 5, pp. 366-375, 2019, doi: 10.1080/03601234.2019.1571366.
- [33] A. L. Alvarez, S. L. Weyers, H. M. Goemann, B. M. Peyton, y R. D. Gardner, «Microalgae, soil and plants: A critical review of microalgae as renewable resources for agriculture», *ALGAL RESEARCH-BIOMASS BIOFUELS AND BIOPRODUCTS*, vol. 54, 2021, doi: 10.1016/j.algal.2021.102200.
- [34] V. E. J. Jassey *et al.*, «Contribution of soil algae to the global carbon cycle», *New Phytologist*, vol. 234, n.º 1, pp. 64-76, 2022, doi: 10.1111/nph.17950.
- [35] B. Ramakrishnan, N. R. Maddela, K. Venkateswarlu, y M. Megharaj, «Potential of microalgae and cyanobacteria to improve soil health and agricultural productivity: a critical view», *Environmental Science: Advances*, vol. 2, n.º 4, pp. 586-611, 2023, doi: 10.1039/d2va00158f.
- [36] A. L. Alvarez, S. L. Weyers, H. M. Goemann, B. M. Peyton, y R. D. Gardner, «Microalgae, soil and plants: A critical review of microalgae as renewable resources for agriculture», *Algal Res*, vol. 54, p. 102200, abr. 2021, doi: 10.1016/J.ALGAL.2021.102200.
- [37] F. Villalta-Romero, F. Murillo-Vega, B. Martínez-Gutiérrez-, J. Valverde-Cerdas, A. Sánchez-Kopper, y M. Guerrero-Barrantes, «Microalgal biotechnology in Costa Rica : Business opportunities to the national productive sector Biotecnología microalgal en Costa Rica : Oportunidades de negocio para el sector productivo nacional», *Tecnología en Marcha*, vol. 32, pp. 85-93, 2019.
- [38] RECOPE, «Estudio de factibilidad del proyecto de mezcla de gasolina con etanol a nivel nacional», 2020. [En línea]. Disponible en: <https://www.recope.go.cr/wp-content/uploads/2020/02/ESTUDIO-FACTIBILIDAD.pdf>
- [39] L. P. Vega, K. T. Bautista, H. Campos, S. Daza, y G. Vargas, «Biofuel production in Latin America: A review for Argentina, Brazil, Mexico, Chile, Costa Rica and Colombia», *Energy Reports*, vol. 11, n.º October 2023, pp. 28-38, 2024, doi: 10.1016/j.egyr.2023.10.060.
- [40] E. Arnáez-Serrano *et al.*, «Establecimiento de cultivos bioenergéticos como fuente de energías alternativas, mediante el desarrollo de materiales de siembra en tres sitios de Costa Rica», *Revista Tecnología en Marcha*, vol. 32, pp. 25-34, 2019, doi: 10.18845/tm.v32i6.4225.
- [41] Ministerio de Ambiente y Energía MINAE, *VII Plan Nacional de Energía 2015-2030*. 2015.
- [42] Ministerio de Ambiente y Energía ; Ministerio de Agricultura y Ganadería, *Reglamento de Biocombustibles líquidos y sus mezclas. Gobierno de la República de Costa Rica*. http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_texto_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=83579&nValor3=107514&strTipM=TC, 2016. [En línea]. Disponible en: http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_texto_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=83579&nValor3=107514&strTipM=TC
- [43] M. Antar, D. Lyu, M. Nazari, A. Shah, X. Zhou, y D. L. Smith, «Biomass for a sustainable bioeconomy: An overview of world biomass production and utilization», *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 139, p. 110691, abr. 2021, doi: 10.1016/J.RSER.2020.110691.
- [44] M. Cordoba-Perez y H. de Lasa, «CO₂-derived carbon capture using microalgae and sodium bicarbonate in a photobioCREC unit: Kinetic modeling», *Processes*, vol. 9, n.º 8, 2021, doi: 10.3390/pr9081296.
- [45] G. Allorent *et al.*, «UV-B photoreceptor-mediated protection of the photosynthetic machinery in *Chlamydomonas reinhardtii*», *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 113, n.º 51, pp. 14864-14869, 2016, doi: 10.1073/pnas.1607695114.
- [46] Y. Wu, F. Yue, J. Xu, y J. Beardall, «Differential photosynthetic responses of marine planktonic and benthic diatoms to ultraviolet radiation under various temperature regimes», *Biogeosciences*, vol. 14, n.º 22, pp. 5029-5037, 2017, doi: 10.5194/bg-14-5029-2017.
- [47] C. Y. Wong, M. L. Teoh, S. M. Phang, P. E. Lim, y J. Beardall, «Interactive effects of temperature and uv radiation on photosynthesis of chlorella strains from polar, temperate and tropical environments: Differential impacts on damage and repair», *PLoS One*, vol. 10, n.º 10, pp. 1-14, 2015, doi: 10.1371/journal.pone.0139469.
- [48] Q. T. Gao y N. F. Y. Tam, «Growth, photosynthesis and antioxidant responses of two microalgal species, *Chlorella vulgaris* and *Selenastrum capricornutum*, to nonylphenol stress», *Chemosphere*, vol. 82, n.º 3, pp. 346-354, 2011, doi: 10.1016/j.chemosphere.2010.10.010.
- [49] L. Li, J. Cui, Q. Liu, Y. Ding, y J. Liu, «Screening and phylogenetic analysis of lipid-rich microalgae», *Algal Res*, vol. 11, pp. 381-386, 2015, doi: 10.1016/j.algal.2015.02.028.



- [50] I. Rawat, R. Ranjith Kumar, T. Mutanda, y F. Bux, «Biodiesel from microalgae: A critical evaluation from laboratory to large scale production», *Appl Energy*, vol. 103, pp. 444-467, 2013, doi: 10.1016/j.apenergy.2012.10.004.
- [51] S. Isah y G. Ozbay, «Valorization of Food Loss and Wastes: Feedstocks for Biofuels and Valuable Chemicals», *Front Sustain Food Syst*, vol. 4, n.º June, 2020, doi: 10.3389/fsufs.2020.00082.
- [52] P. Maheshwari *et al.*, «A review on latest trends in cleaner biodiesel production: Role of feedstock, production methods, and catalysts», *J Clean Prod*, vol. 355, n.º November 2021, 2022, doi: 10.1016/j.jclepro.2022.131588.
- [53] M. Adamczyk, J. Lasek, y A. Skawińska, «CO₂ Biofixation and Growth Kinetics of *Chlorella vulgaris* and *Nannochloropsis gaditana*», *Appl Biochem Biotechnol*, vol. 179, n.º 7, pp. 1248-1261, 2016, doi: 10.1007/s12010-016-2062-3.
- [54] A. Carrasquilla-Batista, A. Chacón-Rodríguez, F. Murillo-Vega, K. Núñez-Montero, O. Gómez-Espinoza, y M. Guerrero-Barrantes, «Characterization of biomass pellets from *Chlorella vulgaris* microalgal production using industrial wastewater», *Energy and Sustainability in Small Developing Economies, ES2DE 2017 - Proceedings*, 2017, doi: 10.1109/ES2DE.2017.8015352.
- [55] O. K. Agwa, S. N. Ibe, y G. O. Abu, «Economically effective potential of *Chlorella sp.* for biomass and lipid production», *J Microbiol Biotechnol Res*, vol. 2, n.º 1, pp. 35-45, 2012.
- [56] L. Rodolfi *et al.*, «Microalgae for oil: Strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor», *Biotechnol Bioeng*, vol. 102, n.º 1, pp. 100-112, ene. 2009, doi: 10.1002/BIT.22033.
- [57] Y. Liang, N. Sarkany, y Y. Cui, «Biomass and lipid productivities of *Chlorella vulgaris* under autotrophic, heterotrophic and mixotrophic growth conditions», *Biotechnol Lett*, vol. 31, n.º 7, pp. 1043-1049, jul. 2009, doi: 10.1007/S10529-009-9975-7.
- [58] R. R. Philippini *et al.*, «Agroindustrial Byproducts for the Generation of Biobased Products: Alternatives for Sustainable Biorefineries», *Front Energy Res*, vol. 8, n.º July, pp. 1-23, 2020, doi: 10.3389/fenrg.2020.00152.
- [59] M. Vigani *et al.*, «Food and feed products from micro-algae: Market opportunities and challenges for the EU», *Trends Food Sci Technol*, vol. 42, n.º 1, pp. 81-92, 2015, doi: 10.1016/j.tifs.2014.12.004.
- [60] M. K. Awasthi *et al.*, «Refining biomass residues for sustainable energy and bio-products: An assessment of technology, its importance, and strategic applications in circular bio-economy», *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 127, n.º May, p. 109876, 2020, doi: 10.1016/j.rser.2020.109876.
- [61] B. Khiari, M. Jeguirim, L. Limousy, y S. Bennici, «Biomass derived chars for energy applications», *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 108, n.º November 2018, pp. 253-273, 2019, doi: 10.1016/j.rser.2019.03.057.
- [62] Y. Lu y J. Xu, «Phytohormones in microalgae: A new opportunity for microalgal biotechnology?», *Trends Plant Sci*, vol. 20, n.º 5, pp. 273-282, 2015, doi: 10.1016/j.tplants.2015.01.006.
- [63] Ç. Yarkent, C. Gürlek, y S. S. Oncel, «Potential of microalgal compounds in trending natural cosmetics: A review», *Sustain Chem Pharm*, vol. 17, n.º July, 2020, doi: 10.1016/j.scp.2020.100304.