



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de Grado en Veterinaria

El futuro de las microalgas en la alimentación animal.

Future of microalgae in animal feeding.

Autor:

Emilio Trujillo Berriel

Tutor:

Antonio de Vega García

2021

Índice

| | |
|--|----|
| 1. Resumen/ Abstract..... | 1 |
| 2. Introducción..... | 2 |
| 3. Justificación..... | 2 |
| 4. Objetivos..... | 3 |
| 5. Metodología..... | 3 |
| 6. Resultados y discusión..... | 3 |
| 6.1 Concepto de microalgas y metabolismo fotosintético..... | 3 |
| 6.2 Situación del sector y principales especies comerciales..... | 5 |
| 6.3 Condiciones y tipos de cultivo..... | 7 |
| 6.4 Procesamiento y composición química..... | 13 |
| 6.5 Aplicaciones terapéuticas..... | 14 |
| 6.6 Inclusión de microalgas en alimentación animal..... | 15 |
| 6.6.1 Monogástricos..... | 16 |
| 6.6.1.1 Avicultura..... | 16 |
| 6.6.1.2 Porcino..... | 17 |
| 6.6.2 Acuicultura..... | 19 |
| 6.6.3 Rumiantes..... | 21 |
| 6.7 Otros posibles usos de las microalgas..... | 22 |
| 6.7.1 Producción de biocombustibles..... | 22 |
| 6.7.2 Tratamiento de aguas residuales..... | 23 |
| 6.8 Recapitulación..... | 24 |
| 7. Conclusiones/Conclusions..... | 25 |
| 8. Valoración personal..... | 27 |
| 9. Bibliografía..... | 28 |

1. Resumen

Las microalgas son organismos unicelulares fotosintéticos que representan un recurso natural rico en proteínas, vitaminas, ácidos grasos y minerales. Su gran potencial como alternativa a las fuentes de proteínas convencionales abarataría los costes en alimentación animal. Representan una oportunidad para la producción animal por tener un rendimiento anual continuo y estable además de ser interesantes medioambientalmente, no solo porque son sumideros de carbono atmosférico sino por favorecer una producción más ecológica y respetuosa. El futuro potencial de las microalgas nos incita a investigar sus diferentes especies y principales características, así como a desarrollar formas de cultivo que optimicen su producción a gran escala. Por otra parte, sería interesante implementar el consumo de microalgas en las dietas de animales en producción ya que se han demostrado efectos beneficiosos sobre su sistema inmunológico y salud intestinal. Son de vital importancia en la acuicultura por ser la base de numerosas cadenas tróficas y también en los monogástricos, al suponer una alternativa para sustituir ciertas fuentes de proteínas y ácidos grasos suplementados en los piensos, mientras que en los rumiantes se optimizaría su digestibilidad al tener la capacidad de digerir la celulosa y obtener energía directamente de su pared celular favoreciendo el equilibrio del microbiota ruminal.

Abstract

Microalgae are photosynthetic unicellular organisms that represent a natural resource rich in protein, vitamins, fatty acids and minerals. Their great potential as an alternative to conventional protein sources would lower animal feed costs. They represent an opportunity for animal production as they have a continuous and stable annual yield as well as being environmentally interesting, not only because they are atmospheric carbon sinks but also because they favor a more ecological and respectful production. The future potential of microalgae encourages us to investigate their different species and main characteristics, as well as to develop forms of cultivation that optimise their large-scale production. On the other hand, it would be interesting to implement the consumption of microalgae in the diets of animals in production, as beneficial effects on their immune system and intestinal health have been demonstrated. They show vital importance in aquaculture as they are the basis of numerous food chains and also in monogastrics, being an alternative to replace certain sources of proteins and fatty acids supplemented in feed, while in ruminants their digestibility would be optimised as they have the capacity to digest cellulose and obtain energy directly from their cell wall, favoring the balance of the ruminal microbiota.

2. Introducción

El estudio de las microalgas surge en el siglo XVIII englobando a varias disciplinas científicas que fueron empleadas como modelo para investigar la fisiología de los organismos fotosintéticos (Warburg, citado en Abalde et al., 1995). En Alemania durante la II Guerra Mundial se propuso la producción masiva de microalgas para utilizarlas como suplemento alimenticio. Posteriormente, con el mismo propósito, un grupo de científicos del Carnegie Institute de Washington encabezados por Spoehr y Millner en 1948 (citado en Abalde et al., 1995) establecieron los fundamentos científicos para su cultivo con la idea de utilizar especies del género *Chlorella* como fuente de proteínas alternativa para la producción a gran escala de alimento, abasteciendo así a la población mundial.

A partir de los años 50 del siglo XX, gracias a los trabajos realizados en EE. UU., comenzó el auge del desarrollo de la biotecnología de las microalgas. Por otro lado, se llevaron a cabo estudios para la utilización de estos microorganismos fotoautótrofos en el tratamiento de aguas residuales y en la bioconversión de la energía solar en metano (Oswald, citado en Abalde et al., 1995). Posteriormente, debido a la crisis del petróleo en 1973, fue necesario investigar fuentes alternativas de energía donde gracias al Institut Français du Pétrole (IFP) se comienza con la producción comercial del género conocido mundialmente como *Spirulina* (Koru, 2012).

Al final de la década de los 80 del siglo pasado ya existían numerosas plantas de producción a gran escala del género *Chlorella* y *Dunaliella*. Es en esta época cuando se inicia una nueva era para su cultivo y comienza a reconocerse a la biomasa algal como un suplemento alimentario de alta calidad. Dadas las predicciones de los expertos sobre la posible escasez de fuentes de proteína (Spolarore, 2006) paralelamente se comienza a desarrollar cultivos para la producción animal, sobre todo enfocado al abastecimiento de la acuicultura. En la actualidad, el auge tecnológico del sector ha dado lugar a una floreciente industria que ha motivado que un gran número de empresas sean conscientes del enorme potencial de las microalgas y sus posibles aplicaciones.

3. Justificación

El principal motivo de la elección de este tema para el trabajo de fin de grado es la búsqueda de alternativas ante la necesidad de fuentes de proteínas en la alimentación de animales de producción. Actualmente este sector es totalmente dependiente de dicha proteína lo que provoca grandes limitaciones a su desarrollo. Es por eso por lo que se considera que las microalgas podrían suponer una disyuntiva a la soja y a las harinas animales convencionales, generando una revolución

en el mercado al reducir costes y aumentar los márgenes de beneficios económicos. Por tanto, la finalidad de este trabajo es la de ahondar en el conocimiento del potencial de las especies comerciales de microalgas para implementarlas en la dieta animal y señalar las posibles ventajas que esto supondría en la mejora de las condiciones sanitarias de las explotaciones.

4. Objetivos

El objetivo del presente trabajo es analizar la importancia de las microalgas como alternativa viable a las fuentes de proteínas convencionales en la alimentación de los animales de producción, siendo además una fuente de proteína más respetuosa con el medio ambiente y que a la vez puede permitir el abaratamiento de costes de manera sostenible. En el presente trabajo expondremos los beneficios del cultivo de las microalgas y sus características principales con una visión de futuro en el uso alimentario para producción animal de las principales especies comerciales.

5. Metodología

La información para la elaboración de este trabajo ha sido recabada mediante una revisión bibliográfica de las bases de datos ofrecidas por la Universidad de Zaragoza (ALCORZE), así como de libros disponibles en la biblioteca de la Facultad de Veterinaria y consultas de artículos publicados en revistas de divulgación científica. También se han empleado como fuentes de información, páginas web de ámbito nacional, como la de la Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal (FEDNA) y la del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA), e internacional, como la de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE).

Palabras clave: Microorganismos, Microalgas, Biomasa, Nutrición, Dieta, Proteína, Ácidos grasos.

6. Resultados y discusión

6.1. Concepto de microalgas y metabolismo fotosintético

El término de microalgas se refiere, exclusivamente, a las algas microscópicas. Dependiendo de la especie su tamaño puede oscilar entre 2 y 200µm. Son organismos unicelulares, en su mayoría de vida libre, que pueden ser tanto eucariotas como procariotas. Presentan un metabolismo fotoautótrofo dependiente de una fuente de carbono, luz, nutrientes y una temperatura adecuada. Las microalgas son un grupo amplio y heterogéneo del que se han descubierto más de 40.000 especies distintas y que según numerosos estudios son responsables de, aproximadamente, más de la mitad del carbono total fijado en el planeta (Field et al.,1998).

Su clasificación taxonómica, basada en su estructura celular o la presencia de determinados pigmentos, se encuentra en discusión, pero gracias a la biología molecular se han desarrollado relaciones filogenéticas entre las diferentes especies conocidas. Actualmente, se entiende por microalga a todos aquellos organismos microscópicos con clorofila (a, b, c) y que tienen la capacidad de realizar la fotosíntesis oxigénica. Para simplificarlo, las clasificaremos en dos grupos:

- ❖ Las procariotas tienen una estructura simple, similar a las bacterias, que se caracteriza principalmente por no poseer núcleo celular sino nucleóide. Su metabolismo fotoautótrofo y sus sencillos requerimientos les han permitido adaptarse a innumerables hábitats (Sakamoto, citado en Forján et al., 2014). Las cianobacterias ocupan una posición intermedia, aunque taxonómicamente están dentro de las bacterias realizan la fotosíntesis oxigénica y presentan clorofila como las microalgas. Son los organismos más primitivos de la tierra y gracias a ellas apareció el oxígeno atmosférico. (Kasting y Siefert, 2002).
- ❖ Las eucariotas comprenden un grupo más amplio y de gran variabilidad morfológica, pueden tener un metabolismo autótrofo o heterótrofo. Presentan una estructura más compleja con un núcleo celular y en sus cloroplastos contienen una gran concentración de tilacoides, que son membranas que forman vesículas apiladas, donde se encuentran los pigmentos fotosintéticos que les permite fijar el CO₂ y utilizar la energía solar para producir una gran cantidad de biomasa. Los géneros más relevantes son *Chlorella* y *Dunaliella* que son microorganismos extremófilos y fuentes de β-carotenos naturales (Ben-Amotz,1999).

Las microalgas son uno de los organismos más eficientes en la utilización y conversión de la energía solar gracias a su simplicidad estructural, lo que le permite acceder directamente a los nutrientes que necesita del medio (Wijffels,2007). Al igual que las plantas superiores, estos microorganismos realizan la fotosíntesis oxigénica. Dicho procedimiento se da en dos fases:

1. En la fase luminosa es donde se utiliza la energía de la luz para producir la lisis de la molécula de agua. En ella sucede la transformación de la clorofila en una molécula con fuerte tendencia a ceder los electrones, estos son captados por la cadena de transporte en la membrana de los tilacoides hasta el aceptor final que es el NADP⁺ que se convierte en NADPH. Durante el proceso los electrones van pasando a niveles con menor energía y con la sobrante se bombean protones al espacio tilacoidal, con lo que se genera un gradiente, esa fuerza protón motriz es la responsable de la actividad de la ATPasa que en la fotofosforilación sintetiza ATP (Zeng et al., 2011).

- Posteriormente, en la fase oscura, el poder reductor en forma de NADPH y la energía concentrada en el ATP son utilizados por la enzima ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa (RuBisCO) para producir biomasa a partir del CO₂, proceso que tiene lugar en el estroma del cloroplasto de las microalgas eucariotas (Figura 1).

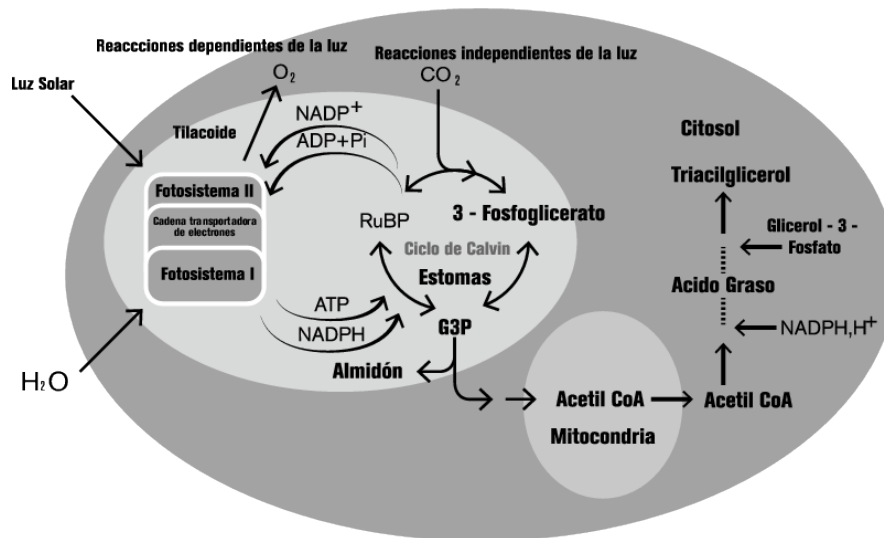


Figura 1. Esquema del metabolismo fotosintético de las microalgas (Zeng et al., 2011).

Por otro lado, la afinidad de la RuBisCO por el O₂ es veinte veces superior a la afinidad por el CO₂, lo que unido a que la concentración del dióxido de carbono en el agua es cuatro veces inferior a la del aire, se convierte en un impedimento para la disponibilidad de CO₂ en el medio acuático. Una de las características de las microalgas es que han desarrollado una adaptación en respuesta a la falta de CO₂ de los ecosistemas acuáticos. Por ello, la RuBisCO es capaz de utilizar varias fuentes de carbono inorgánico (CO₂, HCO₃⁻, H₂CO₃). El mecanismo se rige mediante el tampón bicarbonato. Ante el déficit de CO₂ y con objeto de asegurar la disponibilidad de este, entra en funcionamiento la enzima Anhidrasa Carbónica, que aumenta la concentración de HCO₃⁻ y de CO₂ en el entorno aumentando su disponibilidad para la enzima (Spalding, 2009).

6.2. Situación del sector y principales especies comerciales

La industria relacionada con las microalgas se encuentra en auge. En términos de productividad, algunas especies son capaces de producir entre 60-80 toneladas de peso seco por hectárea al año, frente a los cultivos agrícolas que pueden producir como máximo 30 toneladas al año (Kojima y Lee, citado en Forján et al., 2014). Actualmente, se estima que el mercado mundial de microalgas genera anualmente más de 7.000 millones de dólares y sus aplicaciones en alimentos y nutrición

representan 2.000 millones de dólares del total. Acorde con la OCDE (2017) se prevé que estas cifras sigan aumentando con un crecimiento anual del 5 %. El uso de estas materias primas puede resultar positivo para la ganadería, pues abarataría los costes de otros alimentos en producción animal. Acorde con la FAO (2017), las condiciones de su cultivo y su climatología son determinantes para su explotación a gran escala, repartiéndose la producción mundial principalmente en los siguientes países: Corea del Sur (20,7%), Indonesia (17,6%), China (17,4%) y Chile (12,6%).

Reconociendo su importancia, la Comisión Europea está desarrollando el proyecto “SABANA” con la finalidad de crear una biorrefinería industrial a gran a escala basada en la producción de microalgas. Actualmente, de acuerdo con la Asociación Europea de Biomasa de Algas (EABA), las empresas relacionadas con el sector en la UE son de pequeño tamaño y se concentran en países como Alemania e Italia (EABA,2020). La Asociación Empresarial de Acuicultura de España (APROMAR) afirma que en 2019 se recolectaron 8.000 toneladas para comercializar como alimentos fertilizantes y otros fines, el 83% de ellas en Andalucía y el 17% en Galicia. De acuerdo con APROMAR (2019), los inconvenientes que presenta el cultivo por empresas nacionales radican en la competencia de las importaciones internacionales y la complejidad en los trámites administrativos actuales para la ocupación de nuevas zonas cultivables pero sin embargo, ostenta una situación privilegiada por el estrecho contacto con los centros de investigación y universidades.

Existen identificadas más de 40.000 especies de microalgas, de las cuales se ha estudiado aproximadamente un centenar y se comercializan solamente una decena. Su consumo está restringido debido a la estricta regulación en materia de alimentación. El mercado internacional está dominado por los diferentes productos obtenidos de las siguientes especies:

- ❖ *Chlorella vulgaris*: Es la especie por excelencia, gracias a su alta eficiencia fotosintética ha sido ampliamente estudiada. Es una microalga unicelular de pequeño tamaño (2-10µm) que contiene pigmentos verdes fotosintetizadores de clorofila y presenta la capacidad de acumular altas concentraciones de carotenoides, lo que le otorga una potente acción antioxidante. Utilizada en Asia como medicina alternativa, su producción comercial comenzó en Japón en la década de los 60 y actualmente tiene una producción global de unas 2.000 toneladas/año de peso seco (Batista et al., 2013).

- ❖ *Arthrospira platensis*: Conocida mundialmente como Espirulina, concretamente es una cianobacteria, que crece en la naturaleza en lagos alcalinos y se caracteriza por sus floraciones masivas. Su cultivo comenzó a finales de la década de los 70 del siglo XX en México. Probablemente, su producción ronde las 3.000 toneladas/año de peso seco (Batista et al., 2013). Es considerada un “*superalimento*” por su alto contenido en proteínas, ácido γ -linolénico y vitamina B12. Se utiliza como suplemento dietético en alimentación humana y para la elaboración de piensos en acuicultura y aves de corral (Vonshak,1997).

- ❖ *Dunaliella salina*: Es una especie de microalga halófila de color rojizo utilizada por su gran actividad antioxidante, es la mayor productora de carotenoides especialmente β -carotenos. También se extrae de ellas la luteína que incrementa el color amarillo de la yema de huevo en gallinas ponedoras. Su composición bioquímica es rica en enzimas, vitaminas, ácidos grasos y reguladores del crecimiento como el glicerol, debido a que, al crecer en ambientes salinos, tienen la capacidad de bioacumularlo (Ben-Amotz, citado en Abalde et al., 1995).

6.3. Condiciones y tipos de cultivo

Las microalgas son organismos muy eficientes en la conversión de energía solar en biomasa. Su estructura es tan simple que les permite acceder directamente a los nutrientes y fuentes de carbono (Wijffels,2007). Existen diferencias significativas entre las especies de microalgas por lo que las condiciones de cultivo para cada especie son fundamentales. Los estudios de Vincent y Goldman en 1980 (Citado en Forján et al., 2014) han demostrado que los factores más importantes para el cultivo de las microalgas son la disponibilidad de nutrientes y los factores medioambientales (luz, temperatura y pH) lo que repercute directamente en su metabolismo fotosintético y, en definitiva, en su composición celular.

La importancia de las condiciones de cultivo lo ejemplificamos en la especie *Chlorella vulgaris* cuyas óptimas condiciones en el laboratorio le permiten alcanzar altas tasas de crecimiento. Necesita una temperatura aproximada de unos 28°C con un pH entre 6-7 y una intensidad lumínica de 2.000 Lx (Coverti, citado en Sánchez et al.,2018). Sin olvidarnos de que para su cultivo es fundamental el suministro de aire y un medio de cultivo rico en nutrientes como los indicados en la Tabla 1.

Tabla 1: Nutrientes utilizados en la preparación del medio de cultivo para *Chlorella vulgaris*.
(Sánchez et al., 2018)

| Reactivos | Masa molar (Kg/kmol) | Concentración (g/L) |
|--------------------------------|----------------------|---------------------|
| Cloruro de potasio | 74.55 | 0.25 |
| Sulfato de magnesio | 246.51 | 0.55 |
| Nitrato de calcio | 236.18 | 1.00 |
| Sulfato de hierro (II) | 278.05 | 0.02 |
| Dihidrógeno Fosfato de potasio | 136.09 | 0.26 |

La luz es una variable fundamental para el desarrollo de las microalgas. Numerosos estudios determinan que la intensidad lumínica afecta a la síntesis de macromoléculas a partir del CO₂ fijado en la fotosíntesis, condicionando los productos metabólicos que se producen (Dubinsky, citado en Forján et al., 2014). Actualmente se está investigando cómo la luz provoca alteraciones en la composición celular de las diferentes especies de microalgas, como indica la Tabla 2, y ha sido demostrado científicamente que ante intensidades bajas de luz se incrementa el contenido de clorofila y carotenoides, mientras que intensidades altas aumentan la síntesis de polisacáridos y carbohidratos (Eskling et al., citado en Forján et al., 2014).

Tabla 2. Velocidad de crecimiento, densidad celular y composición de pigmentos fotosintéticos obtenidos en los cultivos de distintas microalgas cultivadas con diferentes temperaturas e intensidades de luz (Lopez-Muñoz et al., 1992).

| | 16°C | | 20°C | |
|--|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| | 40μE m ⁻² s ⁻¹ | 80μE m ⁻² s ⁻¹ | 40μE m ⁻² s ⁻¹ | 80μE m ⁻² s ⁻¹ |
| <i>T. suecica</i> | | | | |
| dens.celular (cel 10 ⁶ ml ⁻¹) | 1.28±0.11 | 2.12±0.38 | 4.09±0.22 | 9.24±0.25 |
| clorofila a (pg cel ⁻¹) | 1.63±0.09 | 1.60±0.12 | 1.99±0.27 | 1.43±0.24 |
| clorofila b (pg cel ⁻¹) | 1.00±0.05 | 0.85±0.08 | 0.82±0.13 | 0.62±0.10 |
| <i>I. galbana</i> | | | | |
| dens.celular (cel 10 ⁶ ml ⁻¹) | 12.48±0.49 | 28.70±0.84 | 18.92±0.43 | 26.59±0.67 |
| clorofila a (pg cel ⁻¹) | 1.59±0.04 | 1.37±0.02 | 0.96±0.06 | 0.71±0.03 |
| clorofila c ₁ +c ₂ (pg cel ⁻¹) | 0.24±0.03 | 0.18±0.01 | 0.13±0.01 | 0.10±0.01 |
| <i>D. tertiolecta</i> | | | | |
| dens.celular (cel 10 ⁶ ml ⁻¹) | 2.05±0.13 | 3.79±0.05 | 5.84±0.17 | 9.36±0.66 |
| clorofila a (pg cel ⁻¹) | 2.36±0.15 | 2.11±0.09 | 3.10±0.22 | 2.17±0.09 |
| clorofila b (pg cel ⁻¹) | 0.64±0.04 | 0.49±0.03 | 0.94±0.06 | 0.59±0.05 |
| <i>P. tricornutum</i> | | | | |
| dens.celular (cel 10 ⁶ ml ⁻¹) | 17.05±0.08 | 39.35±0.40 | 28.14±0.32 | 48.32±1.04 |
| clorofila a (pg cel ⁻¹) | 0.64±0.05 | 0.26±0.02 | 0.58±0.03 | 0.27±0.03 |
| clorofila c ₁ +c ₂ (pg cel ⁻¹) | 0.23±0.01 | 0.11±0.01 | 0.09±0.01 | 0.05±0.005 |

Como muestra la Figura 2, relacionada con la tasa de crecimiento se encuentra la intensidad luminosa y la temperatura, debido a su repercusión en las reacciones bioquímicas. El déficit de crecimiento a bajas temperaturas se debe a la paralización de las reacciones enzimáticas y al cambio de estado de los lípidos de membrana lo que impide el funcionamiento de la célula (Nishida y Murata, citado en Forján et al., 2014). Aunque como bien sabemos temperaturas excesivamente altas pueden provocar la desnaturalización de las proteínas y son letales para la mayoría de las especies. Cada especie de microalga tiene una temperatura óptima de crecimiento que generalmente se encuentra entre 20-25 °C mientras que por debajo de los 15°C se paraliza el crecimiento (Thompson et al., citado en Forján et al., 2014).

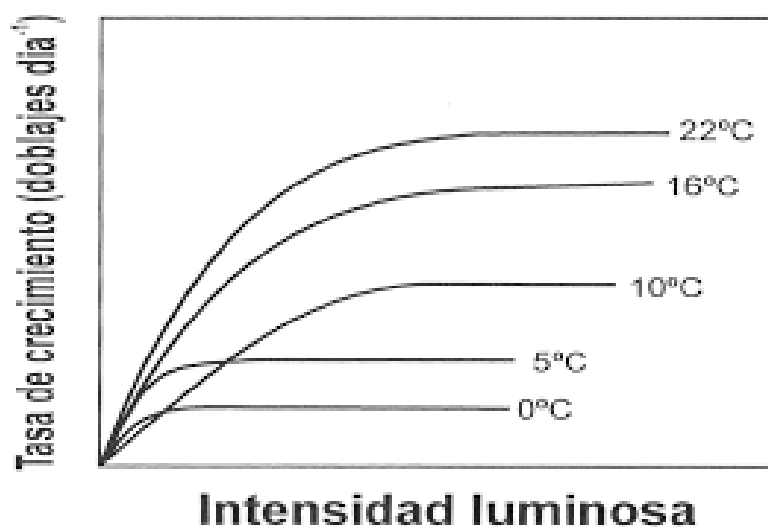


Figura 2: Interacción entre la temperatura, intensidad luminosa y tasa de crecimiento en microalgas (Abalde et al., 1995).

El pH es otro de los factores que condiciona el crecimiento de las microalgas, que solo pueden crecer en un rango entre 7 y 9 fuera del cual se produce la muerte celular. El pH intracelular es neutro lo que posibilita la obtención de energía dependiente de una diferencia de concentración de protones a ambos lados de la membrana. Es necesario recalcar que existen especies extremófilas que han sido capaces de adaptarse a la salinidad y tolerar pH extremos.

Por otro lado, tenemos que hablar de los factores nutricionales que influyen directamente en la tasa de crecimiento de las microalgas. A medida que la deficiencia de nutrientes aumenta, ésta repercute negativamente en la fotosíntesis y en la respiración celular, a la vez que la célula aumenta la capacidad de absorción de los nutrientes limitantes para subsistir (Richmond, 2004). El objetivo principal de la biotecnología de las microalgas es aportar esos nutrientes en calidad y cantidad suficientes para alcanzar unos rendimientos de crecimiento óptimos.

En términos generales, las necesidades de las microalgas se centran en una fuente de nitrógeno, principalmente nitritos como los indicados en la Tabla 3, una fuente de carbono inorgánico (CO₂ o HCO₃⁻) y determinados compuestos iónicos como el potasio, calcio, magnesio, sodio, cloruro, calcio, etc. Finalmente, algunas especies requieren de vitaminas u otras fuentes orgánicas de carbono como la glucosa, fructosa y ácido acético (Vonshak, citado en Forján et al.,2014).

Tabla 3. Efecto de la concentración de nitrógeno en el medio de cultivo sobre la composición en proteínas y lípidos de distintas microalgas (Piorreck et al., 1984).

| | Concentración de nitrógeno(%) | | | | |
|--|-------------------------------|-------|------|------|------|
| | 0.001 | 0.003 | 0.01 | 0.03 | 0.1 |
| <u>A. Proteína total (% de peso seco)</u> | | | | | |
| <i>Chlorella vulgaris</i> | 11.1 | 19.9 | 28.9 | 31.2 | - |
| <i>Scenedesmus obliquus</i> | 9.43 | 22.0 | 33.2 | 34.4 | - |
| <i>Chlorella vulgaris</i> | 6.75 | 14.5 | 30.7 | 31.1 | 32.2 |
| <i>Scenedesmus obliquus</i> | 9.00 | 8.81 | 34.0 | 32.1 | 32.9 |
| <i>Anacystis nidulans</i> | 18.3 | 33.4 | 33.9 | 39.7 | 46.3 |
| <i>Spirulina platensis</i> | 25.8 | 26.6 | 33.4 | 52.1 | 47.4 |
| <u>B. Lípidos totales (% de peso seco)</u> | | | | | |
| <i>Chlorella vulgaris</i> | 41.8 | 20.2 | 14.1 | 11.8 | - |
| <i>Scenedesmus obliquus</i> | 33.1 | 21.7 | 23.0 | 22.4 | - |
| <i>Chlorella vulgaris</i> | 62.9 | 42.7 | 22.0 | 21.8 | 22.6 |
| <i>Scenedesmus obliquus</i> | 44.3 | 50.1 | 26.9 | 29.8 | 21.2 |
| <i>Anacystis nidulans</i> | 12.7 | 13.6 | 12.0 | 15.4 | 14.8 |
| <i>Spirulina platensis</i> | 11.2 | 9.1 | 12.6 | 15.5 | 21.8 |

Para el cultivo de microalgas debemos conocer bien las especies con las que se trabaja pues pese a que son microorganismos similares poseen condiciones y necesidades muy distintas. Es necesario evaluar los parámetros a partir de los cuales podemos controlar los rendimientos y para ello es necesario monitorizar el oxígeno disuelto, la fluorescencia de la clorofila, la densidad celular y las concentraciones de nutrientes (Richmond, 2004). Partiendo de la base de que buscamos una producción a gran escala, nos centraremos en su cultivo en masa, lo que supone una alternativa a los cultivos tradicionales. Es cierto que para su desarrollo es necesaria una logística e inversión elevada pero sus beneficios son tales que son totalmente asumibles. El cultivo de las microalgas no compete con la agricultura y permite el aprovechamiento de tierras poco fértiles.

Según los estudios de Richmond (2004) uno de los condicionantes más importantes en el cultivo de los microorganismos fotoautotróficos es el uso efectivo de la luz para aumentar su productividad, dependiente de la densidad celular debido a que los compuestos como clorofilas, proteínas y lípidos disminuyen cuando la densidad es demasiado elevada. Para ello es necesario desarrollar la logística necesaria que permita la agitación del cultivo para favorecer el intercambio gaseoso y de nutrientes evitando la sedimentación de la biomasa y permitiendo la accesibilidad a la luz. En cultivos de exterior se suelen utilizar paletas rotatorias que mueven el cultivo y en sistemas cerrados, fotobiorreactores, basados en la aireación mediante aire comprimido.

Los sistemas se clasifican según su funcionalidad condicionada por las características de la zona de cultivo. Hay una gran variedad de diseños adaptados a las necesidades y al presupuesto disponible para construir la explotación. Para elegir la mejor opción debemos conocer las condiciones de cultivo de la especie de microalga con la que trabajaremos y posteriormente aplicar la logística necesaria que nos permita obtener la mayor rentabilidad (Acién et al., 2013). Los principales sistemas de producción son los abiertos y los cerrados que se definen a continuación:

- ❖ **Sistemas abiertos:** Son los empleados con más frecuencia tanto en medios naturales (lagunas) como artificiales (estanques). Estos cultivos tecnificados comenzaron en Asia donde eran comunes los estanques circulares para el cultivo del género *Chlorella* (Borowitzka, 1999). Entre estos tipos de sistemas el más reconocido es el modelo Raceway (Figura 3A), un estanque de poca profundidad dividido longitudinalmente por el centro formando dos canales por donde el cultivo circula mediante paletas rotatorias con una concentración celular de hasta 0,7 g/L (Contreras-Flores et al., 2003).

Este sistema es uno de los más rentables y duraderos, pudiendo ser utilizado para el tratamiento de aguas residuales con productividades por hectárea de hasta 50 toneladas al año (Rawat et al., 2011). Pese a esto presenta numerosos inconvenientes debido a que el control de las condiciones y parámetros de cultivo es escaso y los microorganismos tienen poca accesibilidad a la luz solar. Por ello, actualmente se cree que estos sistemas han alcanzado su límite de desarrollo quedando obsoletos para una biotecnología de las microalgas en avance constante.

- ❖ **Sistemas cerrados:** Permiten un control exhaustivo de los parámetros de cultivo por lo que las microalgas alcanzan una tasa de crecimiento óptima que permite realizar cultivos de alta densidad celular obteniendo una concentración por encima de los 3 g por L. (Contreras-Flores et al. 2003). Los diseños de fotobiorreactores son variados y pueden ser planos (Figura 3B) o tubulares (Figuras 3C, 3D). Están formados por un sistema de cañerías de PVC transparente por donde circula el cultivo con aire comprimido a velocidades de 15 cm por segundo (Richmond, 2004). Estos cultivos actualmente no son factibles a gran escala por lo que son recomendados para su utilización en laboratorios y para la obtención de productos específicos de alto valor biológico.

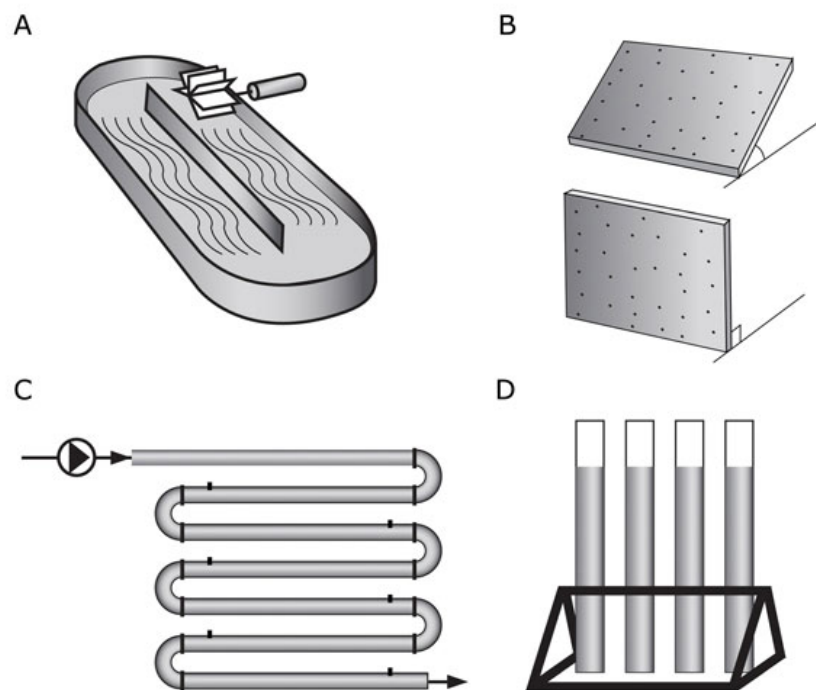


Figura 3: A) Cultivo tipo Raceway. B) Fotobiorreactor en paneles.

C/D) Fotobiorreactores tubulares (Richmond, 2004).

6.4. Procesamiento y composición química

El procesamiento de las microalgas es fundamental para que la biomasa sea correctamente aprovechada. La recolección dependerá de la especie y de la calidad del producto que queramos obtener. Actualmente la floculación es lo más adecuado para grandes volúmenes de biomasa. Esta técnica consiste en la adición de agentes químicos que aglutinan las microalgas presentes en el agua para su posterior centrifugación o sedimentación (Uduman et al., citado en Forján et al., 2014).

Una vez la biomasa es recolectada debe ser secada rápidamente debido a que es un producto perecedero por lo que la eliminación del agua permite su mejor almacenamiento. En cuanto al secado, la exposición solar resulta el método más económico pero en productos de valor biológico debemos considerar la liofilización (Chen et al., citado en Forján et al., 2014). Para la extracción y purificación de los productos de interés destacamos la cromatografía como el mejor método para la obtención de compuestos de alto valor añadido, como, por ejemplo, los carotenoides (Mogedas et al., citado en Forján et al., 2014).

Los carotenoides conforman la mayor categoría de pigmentos naturales presentes en plantas, animales, bacterias y hongos. En la naturaleza estos pigmentos facilitan la captación de luz y aportan protección celular frente a la fotooxidación. El carotenoide conocido comercialmente como Astaxantina pertenece a la clase de las xantofilas y es el pigmento más abundante encontrado en los animales marinos, siendo el responsable de la coloración roja de los crustáceos y salmónidos.

Estos no pueden producirlo endógenamente por lo que su principal fuente es la especie de microalga *Haematococcus pluvialis*. Es por eso por lo que su procesamiento lo convierte en un producto con potencial para la industria farmacéutica por sus efectos en la prevención del cáncer, el incremento de la respuesta inmune e inhibición de los radicales libres (Abalde et al., 1995).

El valor nutricional de una especie de microalgas se determina por su composición química y características intrínsecas. Este valor viene determinado por numerosos factores y no es constante, sino que varía dependiendo de las condiciones de cultivo y procesamiento ya citadas. Generalmente la composición bruta de las microalgas presenta un alto contenido en proteínas, lípidos y carbohidratos como indica la Tabla 4, sin olvidar otras moléculas de interés como las vitaminas, carotenoides, clorofilas, enzimas, aceites esenciales, etc. Es importante tener en cuenta la concentración de aminoácidos esenciales, así como el grado de insaturación de los ácidos grasos o el contenido en vitaminas que poseen (Brown et al., citado en Abalde et al., 1995).

Tabla 4. Composición química (%MS) de las diferentes especies de microalgas (Becker, 1994)

| <i>Clase</i> | <i>Proteína</i> | <i>Carbohidratos</i> | <i>Lípidos</i> |
|----------------------------------|-----------------|----------------------|----------------|
| <u>Agua dulce</u> | | | |
| <i>Scenedesmus obliquus</i> | 50-56 | 10-17 | 12-14 |
| <i>Scenedesmus quadricauda</i> | 47 | | 1.9 |
| <i>Scenedesmus dimorphus</i> | 8-18 | 21-52 | 16-40 |
| <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> | 48 | 17 | 21 |
| <i>Chlorella vulgaris</i> | 51-58 | 12-17 | 14-22 |
| <i>Dunaliella bioculata</i> | 49 | 4 | 8 |
| <i>Dunaliella salina</i> | 57 | 32 | 6 |
| <i>Euglena gracilis</i> | 39-61 | 14-18 | 22-38 |
| <i>Prymnesium parvum</i> | 28-45 | 25-33 | 22-38 |
| <i>Tetraselmis maculata</i> | 52 | 15 | 3 |
| <i>Porphyridium cruentum</i> | 28-39 | 40-57 | 9-14 |
| <i>Spirulina platensis</i> | 46-63 | 8-14 | 4-9 |
| <i>Spirulina maxima</i> | 60-71 | 13-16 | 6-7 |
| <i>Anabaena cylindrica</i> | 43-56 | 25-30 | 4-7 |
| <u>Marinas</u> | | | |
| <i>Isochrysis</i> sp Clon T-ISO | 44 | 9 | 25 |
| <i>Isochrysis galbana</i> | 41 | 5 | 21 |
| <i>Paulova lutheri</i> | 49 | 31 | 12 |
| <i>Chaetoceros calcitrans</i> | 33 | 17 | 10 |
| <i>Phaeodactylum tricornutum</i> | 33 | 24 | 10 |
| <i>Skeletonema costatum</i> | 37 | 21 | 7 |
| <i>Thalassiosira pseudonana</i> | 29 | 17 | 10 |
| <i>Dunaliella salina</i> | 57 | 32 | 9 |
| <i>Tetraselmis suecica</i> | 39 | 8 | 7 |

6.5. Aplicaciones terapéuticas

Actualmente existen numerosos estudios en microalgas que investigan el desarrollo de moléculas farmacológicamente activas. Se han encontrado alcaloides, carotenoides, terpenoides y compuestos fenólicos con propiedades antimicrobianas y antitumorales. Se ha acuñado el término de “algacéuticos” como aquellas moléculas bioactivas procedentes de las algas con un efecto beneficioso sobre las funciones fisiológicas del organismo, de los que destacaremos entre otros:

- ❖ **Actividades antimicrobianas:** La problemática aparición de resistencias bacterianas debido a la utilización indiscriminada de antibióticos, ha priorizado el desarrollo de compuestos antimicrobianos que inhiban el crecimiento de las bacterias infecciosas. Numerosos estudios han atribuido la actividad antimicrobiana de las microalgas a los ácidos grasos insaturados de cadena larga, como el ácido linolénico, con la capacidad de dañar la membrana bacteriana inhibiendo su crecimiento (Smith et al., 2010).

- ❖ **Actividad antitumoral:** Las microalgas presentan moléculas bioactivas antitumorales, sustancias inmunoestimulantes que podrían inhibir el crecimiento de células tumorales. En concreto, el β -1,3-glucano obtenido del género *Chlorella* ha demostrado que induce citotoxicidad *in vitro* sobre la línea tumoral hepática G2 (Jing-Gung et al., 2012). Otros estudios experimentales han demostrado una actividad antitumoral sobre la leucoplasia oral, con una regresión en las lesiones de los animales que fueron suplementados en la dieta con un gramo de *Spirulina* diariamente (Mathew et al., citado en Forján et al., 2014).
- ❖ **Actividades antiinflamatorias:** Las microalgas contienen altas concentraciones de ácido linoleico que estimula la síntesis de prostaglandinas implicadas en la respuesta antiinflamatoria. Existen estudios que destacan la capacidad de los ácidos grasos presentes en la *Spirulina* como moduladores de las células Th mediante la inhibición de la producción de la interleukina IL-4 (Mao et al., citado en Forjan et al, 2014).
- ❖ **Actividad antioxidante:** Las microalgas son fuentes de antioxidantes naturales como por ejemplo la Astaxantina, un carotenoide producido por la especie *Haemotococcus pluvialis* que proporciona protección contra peroxidación lipídica y proteínas de membrana contra daños en el ADN expuesto al estrés oxidativo o los efectos de la luz ultravioleta. También destacamos la presencia de la coenzima Q10, uno de los antioxidantes más efectivos utilizados en la especie humana (Klein et al., 2011).

6.6. Inclusión de microalgas en alimentación animal

Aunque las microalgas se han utilizado desde hace mucho tiempo, es en las últimas décadas cuando se ha desarrollado su cultivo a gran escala. La inclusión de microalgas en las dietas animales representa una oportunidad prometedora para la ganadería, limitada por los gastos en alimentación cada vez más elevados. Distintos estudios revelan que las microalgas favorecen la calidad del producto animal, factores valorados positivamente por los consumidores en la actualidad.

También aportan beneficios de cara al bienestar animal mejorando el sistema inmune, la reproducción, etc. Sin duda las microalgas tienen un futuro prometedor y desempeñarán un papel relevante en la producción animal. Para ello tenemos un reto, disminuir los costes de su producción a gran escala, y abaratar el procesamiento de la biomasa microalgal.

6.6.1 Monogástricos

6.6.1.1 Avicultura

La creciente demanda de reforzar los huevos y la carne de pollo con el ácido graso esencial poliinsaturado (DHA) y docosahexaenoico(DHA), se encuentra limitada por la falta de disponibilidad de la harina de pescado autorizada para las aves pero en desuso por su alto precio. Numerosos estudios indican que el DHA se relaciona con una influencia positiva para reducir la enfermedad de Alzheimer. Por ello, el empleo de microalgas se ha convertido en una fuente alternativa y sostenible de DHA (Jiang et al., 2004). El empleo de microalgas en gallinas ponedoras y broilers abre un camino para crear alimentos funcionales como los huevos y la carne de pollo con altos valores de ácidos grasos esenciales que mejoran la proporción de otros como los n-6 y n-3.

En un estudio realizado con gallinas ponedoras por Zahroojian (2013), en el que se utilizó *Spirulina máxima* (2%) y *Chlorella vulgaris* (1%), se mejoró notablemente la coloración de la yema sin disminuir su rendimiento productivo lo que se atribuyó a la presencia de los carotenoides presentes en las microalgas. Estudios posteriores revelaron que con la suplementación con microalgas de la especie *Schizochytrium limacinum* entre un 1-3% en dietas de harina de maíz y soja, se producía un aumento significativo de DHA en detrimento de otros ácidos como el linoleico y el araquidónico.

Paralelamente se realizó otro estudio (Simopoulos, 2008) para comprobar si los efectos de la dieta suplementada con microalgas tenían el mismo efecto positivo, presentándose los resultados en la Tabla 5, en donde se muestra que el contenido de ácidos grasos relevantes como AA (Ácido araquidónico), EPA (Ácido graso poliinsaturado esencial) y DHA (Ácido docosahexaenoico) en dietas implementadas con microalgas en pollos broilers aumentó considerablemente.

Tabla 5. Contenido en ácidos grasos esenciales (mg/100g) (Macalintal et al., 2013).

| Tratamientos (&) | AA, | EPA | DHA | Total n-3 | Total n-6 | Relación n-6 / n-3 |
|---------------------------|-------|-------|--------|-----------|-----------|--------------------|
| Pechuga | | | | | | |
| 0% algas | 47 a | 2,95 | 7 | 30 | 285 | 12,20 |
| 2% " | 33 b | 4,90 | 50 | 72 | 220 | 3,10 |
| 4% " | 24 c | 7,45 | 86 | 109 | 176 | 1,60 |
| Contramuslo | | | | | | |
| 0% algas | 81 a | 2,61 | 10,30 | 76 | 849 | 11 |
| 2% " | 56 b | 7,26 | 71,20 | 112 | 485 | 4,30 |
| 4% " | 51 c | 16,02 | 173,90 | 230 | 525 | 2,30 |
| Grasa abdominal | | | | | | |
| 0% algas | 0,295 | 00 | 2,203 | 27,334 | 0,012 | |
| 1% " | 0,353 | 0,198 | 0,531 | 2,721 | 26,986 | 0,010 |
| 2% " | 0,389 | 0,293 | 1,138 | 3,453 | 25,164 | 0,007 |
| <i>Según el USDA (\$)</i> | | | | | | |
| Pechuga | - | 0,00 | 0,0 | | | |
| Contramuslo | - | 0,01 | 0,0 | | | |

En conclusión, las microalgas abren una vía alternativa en la alimentación de las gallinas ponedoras y de los broilers. En relación con la dieta avícola ecológica hay poca información al respecto, sin embargo, en un estudio de Gerrald (2015) se añadió *Spirulina* al 3% a una ración 100% ecológica y se comparó con una ración ecológica convencional. En los resultados obtenidos no hubo una disminución significativa ni en el rendimiento productivo ni en el bienestar de las aves alimentadas por lo que podemos concluir que las microalgas pueden ser una fuente de proteínas alternativa en la dieta de pollos ecológicos. Ahora bien, las normas técnicas para la inclusión de microalgas en la UE están por definir, pero en EE.UU. no están prohibidas siempre y cuando "la producción de aditivos y suplementos debe haber sido producida por métodos ecológicos".

6.6.1.2 Porcino

Abalde y sus colaboradores (1995) señalan, refiriéndose a los cerdos, que los objetivos de los estudios hasta 1982 van encaminados a demostrar la potencialidad de las microalgas en la dieta de los cerdos para que puedan reemplazar a las proteínas convencionales. A partir de la segunda década del siglo XXI los trabajos van encaminados a la salud reproductiva, al bienestar animal y a la calidad de la carne con una creciente preocupación medioambiental en la gestión de los purines.

Así, el estudio realizado en 2017, encabezado por Furbeyre, quería demostrar que las microalgas pueden solucionar los trastornos digestivos asociados al destete en lechones para los que es necesario el uso de antibióticos, aceptando los inconvenientes que esto supone. Se trabajó con lechones de aproximadamente 9,1 Kg, todos ellos fueron destetados a los 28 días de vida y a cada uno se le asignó una de estas cuatro dietas durante dos semanas: una dieta estándar sin suplemento (NC) o una dieta estándar con 1% *Spirulina platensis* (SP), o una con 1% *Chlorella vulgaris* (CV), o con un 0,2% de colistina (antibiótico efectivo a las bacterias Gram -) como control (PC).

- ❖ En el primer ensayo se utilizó una dieta sin suplementos (NC), donde el 94% de los lechones tuvieron diarrea en la primera semana después del destete descartando causas bacterianas.
- ❖ La incidencia de diarrea se redujo en los lechones suplementados con un 1% de *Chlorella vulgaris* (CV) frente a los alimentados con otras dietas: (NC), (SP), o (PC).
- ❖ La digestibilidad en el tracto de los cerdos que recibieron dietas (SP) o (CV) fue mayor para la energía bruta, con una tendencia a ser mayor para la materia seca, materia orgánica y fibra neutro detergente (FND) en comparación con los cerdos (NC) y (PC).
- ❖ La altura de las vellosidades en el yeyuno fue mayor en los cerdos suplementados con microalgas en comparación con los cerdos (NC) y (PC).

Por consiguiente, Furbeyre et al. (2017) demostraron el efecto beneficioso de la suplementación con microalgas en las dietas que mejoraron la salud y el desarrollo intestinal de los lechones sin afectar a la ganancia media diaria (GMD) o al índice de conversión (IC) y la importancia de la especie *Chlorella vulgaris* en el tratamiento de los trastornos digestivos leves, reduciendo considerablemente las diarreas por destete de gran incidencia en las explotaciones de porcino.

En otro ensayo, (Otte et al., 2018) el objetivo de los investigadores fue evaluar los efectos de la suplementación de primerizas destetadas con PUFA omega-3 procedente de microalgas, en su rendimiento del crecimiento, marcadores metabólicos y expresión génica de enzimas esteroidogénicas y receptores hormonales.

Con este objetivo, se seleccionaron un total de 16 cerdas cruzadas (Landrace × Large White) que se destetaron a los 35 días aproximadamente y se asignaron al azar a 2 grupos homogéneos: un grupo control alimentado con dietas comerciales no suplementadas y otro alimentado con la misma dieta control a la que se le incorporó 25 gr/día de la especie *Schizochytrium sp.* (3,5 gr/día de omega-3 PUFA). El período experimental duró 52 días. Las primerizas se pesaron semanalmente y se tomaron muestras de sangre los días 0, 21 y 52. Al final del período experimental todas las primerizas se sacrificaron con $87,5 \pm 1,6$ días de edad y se recogieron muestras de ambos ovarios para su posterior análisis.

Los niveles de colesterol sérico total fueron más bajos para el grupo alimentado con omega-3 que para el grupo control, si bien los niveles de lipoproteínas de alta densidad se redujeron en el día 52 para ambos grupos. Las primerizas del grupo suplementado con omega-3 presentaron una menor ingesta de pienso, mejor conversión alimentaria y una menor intensidad de inmuno-marcaje para la leptina y su receptor en el citoplasma de los ovocitos incluidos en los folículos primordiales/primarios, en comparación con el grupo control. La expresión de los genes que codifican para la enzima LH en las células foliculares fue menor para las primerizas suplementadas con omega 3. En conclusión, suplementar la dieta de las primerizas con PUFA procedente de microalgas mejora la conversión alimentaria y disminuye el colesterol del suero.

Kalbe (2019) evaluó el efecto de la suplementación a largo plazo de microalgas de la especie *Schizochytrium sp.* sobre la microestructura muscular, la calidad de la carne y la composición de ácidos grasos en cerdos en crecimiento. Para ese propósito, 32 lechones hembra destetados de 8 cerdas Landrace (4 lechones/cerda) fueron seleccionados al azar y asignados a uno de dos tratamientos: un grupo control (n = 16) y un grupo suplementado con microalgas (n = 16) al día 28 de edad. Después de una semana de adaptación, se inició la suplementación con microalgas el día 33

de edad y se realizó hasta que los cerdos se sacrificaron a los 145 días de edad. La dieta de microalgas se suplementó al 7% (dieta de iniciación) o 5% (dieta de engorde). Los resultados del estudio mostraron que la suplementación con microalgas se ha convertido en una oportunidad única para mejorar los contenidos esenciales de PUFA n-3 en la carne de cerdo. La dieta con microalgas afectó la composición de ácidos grasos del músculo esquelético, aumentó la proporción de proteínas y dio como resultado un cambio en la composición del tipo de miofibra más oxidativa en el músculo semitendinoso, pero no en el músculo longísimo.

Resultan también muy interesantes los trabajos llevados a cabo por el Centro de investigación Biotecnológico (CIB), el Instituto tecnológico de Puerto Rico (ITER) y la doctora Guerrero, que en colaboración con empresas privadas desarrollan un proyecto donde se utilizan los residuos de la granja porcina para la producción de microalgas, lo que supone implementar la economía circular con la consiguiente mejora del medio ambiente.

6.6.2 Acuicultura

De acuerdo con la FAO (2020) la escasez de especies pesqueras y la sobrepesca han propiciado en los últimos 50 años un sorprendente desarrollo de la acuicultura (Figura 4), llegando a equipararse con la pesca extractiva actual. Los avances que se han producido en la biotecnología de las microalgas han impulsado un sector como el de la acuicultura en auge. Las microalgas son interesantes por su valor nutricional para implementarlas en las dietas de las especies comerciales, sin olvidarnos del aporte de cualidades culinarias. Un ejemplo de ello es el caso de los salmónidos donde mejora la coloración rojiza de la carne al ser ricas en pigmentos carotenoides (Guerin et al., citado por Forján et al., 2014).

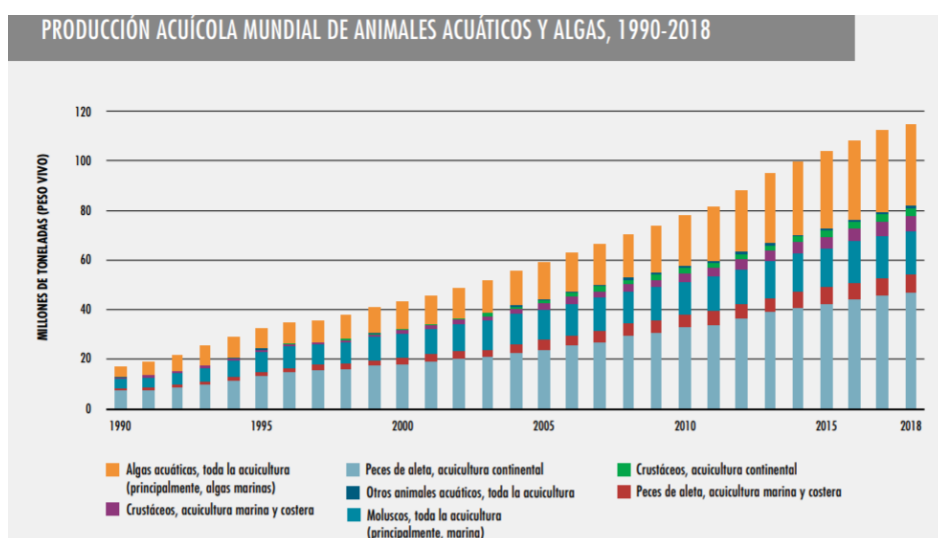


Figura 4: Producción acuícola mundial de animales acuáticos y algas (FAO, 2020).

Debemos destacar la importancia de las microalgas como punto de partida de numerosas cadenas tróficas en los animales acuáticos. Actualmente sus elevados costes de producción limitan su implementación en la alimentación de la acuicultura pese a que son un componente esencial en la dieta de bivalvos, gasterópodos, crustáceos y algunas especies de peces de interés comercial. Es preciso no olvidar que las microalgas son la principal fuente de alimento del zooplancton, fundamental en la naturaleza para la alimentación de los animales acuáticos (Abalde et al., 1995).

Las microalgas pueden ser especialmente implementadas en la dieta de las larvas de las especies utilizadas en acuicultura, ya sea de forma directa para los estadios larvarios, o de forma indirecta alimentando con microalgas a los rotíferos y pequeños crustáceos que posteriormente servirán de alimento a los adultos (Lavens y Sorgeloos, citado en Forján et al., 2014). El uso de rotíferos presentes en el zooplancton constituye la única fuente de alimento de los estados larvarios de los peces planos. Es un requisito fundamental para la alimentación de especies de interés de comercial como la dorada y el rodaballo. En el caso de la producción de mariscos, la alimentación larval consiste en estados tempranos de la especie de crustáceo *Artemia salina* que se alimenta de microalgas de los géneros *Chlorella*, *Skeletonema* y *Tetraselmis* (Muller, citado en Forján et al., 2014). Para ser utilizados con esta finalidad, estos microorganismos deben de poseer un alto contenido en proteínas, concretamente, aminoácidos esenciales como los indicados en la Tabla 6. Por otro lado, los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), ricos en Omega 3, cumplen una labor importante en la acuicultura por que son fundamentales para el crecimiento de bivalvos, crustáceos y peces. Una deficiencia de AGPI no solo repercute negativamente en el crecimiento si no que también afecta directamente a la fertilidad. Los animales acuáticos son incapaces de producirlo endógenamente, por lo que tenemos que incluirlos obligatoriamente (Becker, citado en Forján et al., 2014).

Tabla 6. Aminoácidos esenciales para acuicultura presentes en las microalgas. (Brown et al. 1989).

| Aminoácidos | Bivalvos | Crustáceos | Peces | Intervalos en algas |
|--------------|----------|------------|-------|---------------------|
| Treonina | 6.9 | 3.8 | 5.0 | 3.6-6.2 |
| Valina | 5.0 | 5.6 | 5.9 | 4.2-7.1 |
| Metionina | 2.4 | 3.7 | 1.8 | 1.6-3.2 |
| Isoleucina | 4.0 | 5.9 | 6.3 | 2.9-5.1 |
| Leucina | 7.7 | 7.8 | 8.0 | 6.7-10.2 |
| Fenilalanina | 3.7 | 5.6 | 4.6 | 2.8-6.0 |
| Lisina | 4.8 | 8.4 | 7.7 | 5.1-12.0 |
| Histidina | 1.3 | 2.9 | 3.4 | 1.4-3.6 |
| Arginina | 5.9 | 9.1 | 6.5 | 5.7-11.3 |
| Triptófano | 0.4 | 4.1 | n.d | 0-1.7 |
| Prolina | 1.5 | 6.6 | 10.9 | 3.2-6.7 |

Por último, hay que destacar que las microalgas además ayudan a estabilizar y mejorar la calidad del medio para los animales acuáticos. De hecho, numerosas especies permiten que se obtengan mejores resultados en términos de supervivencia y crecimiento. Se cree que las microalgas podrían excretar determinados compuestos con efectos prebióticos y antimicrobianos, estimulando el sistema inmunitario de los animales acuáticos en el medio (Rodolfi, citado en Forján et al., 2014).

6.6.3. Rumiantes

Lamminen (2019) afirmó en su tesis doctoral que no existen limitaciones biológicas o fisiológicas para el uso de las microalgas en las dietas de ganado lechero de sistemas intensivos. Para su tesis trabajó con diferentes fuentes proteicas en la producción, estudiando su metabolismo energético, la utilización del nitrógeno y su consumo. Realizó varios experimentos sustituyendo las fuentes tradicionales de proteínas como la colza o la soja por microalgas de las especies *Spirulina platensis* y *Chlorella vulgaris* en 600-700 g/kg de materia seca y *Nannochloropsis gaditana* en 385 g/kg de materia seca en la dieta concentrada de los animales.

En el primer ensayo, el sabor y la textura de las dietas suplementadas con las microalgas mencionadas anteriormente, fue peor que el de las dietas convencionales, de tal manera que si el concentrado de microalgas y la fibra se ofrecía por separado, las vacas disminuían la ingesta del concentrado y comían más fibra. Pero cuando se ofrecía de manera mezclada, el consumo general disminuía. No quedó claro realmente si los resultados eran debidos a la mala palatabilidad de las microalgas o a una respuesta fisiológica contra su ingestión. Lo que si se demostró fue que el sabor de las microalgas resultó claramente peor que el de las fuentes de proteína habituales, por lo que el reto de mejorar la palatabilidad se centra en la forma de presentación de las microalgas y su proporción en la dieta.

En el segundo ensayo, el efecto de las microalgas en la utilización del nitrógeno dependía del concentrado proteico convencional sustituido. Así, cuando se sustituyó la colza por microalgas del género *Spirulina platensis* se observó un efecto negativo sobre el metabolismo del nitrógeno del animal, pero cuando se sustituía a la colza por la soja el efecto de las microalgas fue positivo, mejorando la utilización del nitrógeno con respecto a los ingredientes tradicionales.

La forma más simple de implementar las microalgas en la alimentación de rumiantes es como biomasa fresca, sin la necesidad de tratamientos de secado específicos. Se estudió el valor nutritivo de las microalgas en ganado vacuno y el coeficiente de digestibilidad fue del 73% mucho mayor al de otras especies. Se cree que esto es debido a la capacidad intrínseca de los rumiantes de digerir la celulosa y al aprovechamiento del metabolismo del nitrógeno eficientemente (Abalde et al., 1995).

Los animales alimentados con microalgas y alfalfa presentaron una ganancia mayor que los alimentados solamente con la leguminosa mencionada (Hintz et al., citado en Abalde et al., 1995). Estudios en la alimentación con biomasa microalgal fresca donde alimentaron a los becerros con concentrados de la especie *Scenedesmus obliquus* durante tres semanas demostraron un aumento de la digestión intestinal sobre la total, se cree que por las biomoléculas y prebióticos presentes en las microalgas que mejoran la salud intestinal de los animales (Ganowski et al., citado en Abalde et al., 1995).

En conclusión, las microalgas pueden ser utilizadas como fuente de proteínas para la dieta del ganado lechero en sistemas de producción intensivos y producción cárnica, especialmente para reemplazar a las leguminosas. Ahora bien, la poca rentabilidad de los sistemas de cultivo es un problema para su utilización a gran escala. Las microalgas o sus respectivos extractos no son consideradas como fuente de alimento sino más bien para mejorar la formulación de alimentos estándar. Por lo pronto, se utilizan en la alimentación de animales cuyos productos finales están destinados a los productos gourmet porque estos componentes mejoran la calidad y el sabor de la carne. Sin embargo, se requiere desarrollar adecuadamente la biotecnología de las microalgas para que estos suplementos tengan precios competitivos en el mercado.

6.7. Otros posibles usos de las microalgas

El desarrollo de la biotecnología de las microalgas ha alcanzado una inmensa relevancia debido a la gran cantidad de aplicaciones que éstas tienen y sus posibles combinaciones. Actualmente la industria farmacéutica investiga estos microorganismos en busca de la obtención de productos de alto valor añadido para su empleo en nutrición y salud humana. En ganadería se desarrollan nuevas dietas a base de microalgas y en la agricultura se emplean como biofertilizantes orgánicos. Pero sin duda, la aplicación de mayor repercusión es su utilización con fines energéticos y medioambientales.

6.7.1. Producción de biocombustibles

El modelo energético actual, basado en los combustibles fósiles, está obsoleto por lo que se debe priorizar el desarrollo de energías renovables más sostenibles y ecológicas. En esta búsqueda se encuentran las microalgas como firmes candidatas para la producción de biodiésel. Estos combustibles líquidos, producidos predominantemente a partir de los excedentes de las cosechas como la soja y la palma, han encontrado en estos microorganismos una alternativa que no compite con la alimentación humana (Sing et al., 2011).

El desarrollo de nuevos combustibles a partir de microalgas se planteó tras la crisis del petróleo en 1970. Los científicos de la época se interesaron en ellas debido a su alta productividad ya que pueden cultivarse durante todo el año excediendo a la biomasa producida por cualquier otro cultivo de plantas oleaginosas con la ventaja de desligarse directamente de la tierra (Chisti, citado en Forján et al., 2014). Las microalgas requieren de menos cantidad de agua que los cultivos agrícolas y no necesitan herbicidas de ningún tipo (Rodolfi et al., citado en Forján et al., 2014). También tienen la capacidad de acumular grandes concentraciones de triglicéridos ideales para la producción de biodiésel, donde una vez extraídas las grasas pueden fermentarse para producir etanol o metano (Brennan y Owende, 2010). Igualmente son excelentes sumideros de CO₂ atmosférico, contribuyendo a mitigar el efecto invernadero.

6.7.2. Tratamiento de aguas residuales:

La combinación del tratamiento de aguas residuales con la producción de microalgas fue una idea revolucionaria materializada por el científico Oswald (citado en Forján et al., 2014). Se ha investigado la capacidad de algunas especies para biodegradar contaminantes orgánicos nocivos como los hidrocarburos. Con ello puede conseguirse la eliminación de la carga orgánica e inorgánica e incluso de la biorremediación de metales pesados presente en las aguas residuales ofreciéndose como una medida contra los problemas de contaminación y eutrofización ocasionados por los vertidos (Juhasz y Naidu, citado en Forján et al., 2014).

La eutrofización es un problema ambiental grave producido por la contaminación del agua debido al exceso de nutrientes. Para mitigarla, la eliminación de estos nutrientes debe realizarse con anterioridad a ser liberados al ecosistema, sin embargo, una de las principales fuentes responsables de la eutrofización son los efluentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales. (Rasoul-Amini et al., 2014) Como alternativa se ha investigado el cultivo de microalgas por su capacidad de eliminación de nutrientes, siendo una opción más sostenible y ecológica que los tratamientos convencionales. La aplicación de microalgas podría ser rentable económicamente, siempre y cuando se cultiven de forma eficiente. La biomasa generada podría ser aprovechada como un valor añadido para su uso como alimento para animales de producción o materia prima para biofertilizantes en la agricultura (Wang et al., 2010).

El mecanismo para el tratamiento de aguas residuales viene representado en la Figura 5. Durante la fotosíntesis las microalgas asimilan carbono inorgánico en forma de CO₂ de diferentes fuentes (Abinandan y Shanthakumar, 2015) destacando que la mayoría tienen un metabolismo fotoautótrofo con la capacidad de utilizar la luz y nutrientes inorgánicos. No obstante, en ausencia de éstos, las microalgas pueden llevar a cabo un metabolismo heterótrofo caracterizado por consumir compuestos orgánicos como fuente de energía (Chojnacka y Marquez, 2004). Este proceso en la práctica se realiza en “lagunas de oxidación”, estanques de poca profundidad que cuentan con sistemas de aireación y agitación donde las microalgas junto con las bacterias eliminan la materia orgánica presentes (Bassi et al., citado en Forján et al., 2014).

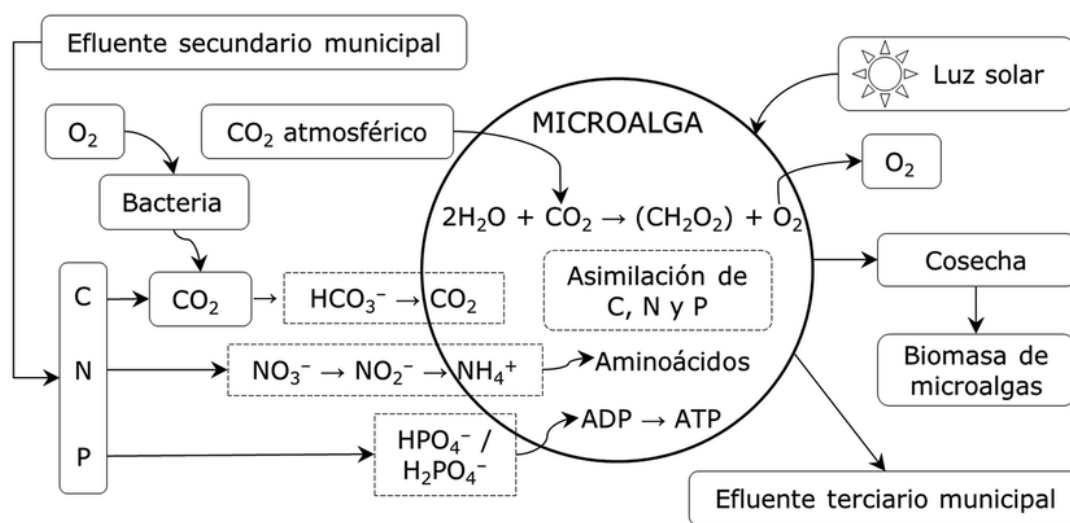


Figura 5. Mecanismo de asimilación de C, N y P en el tratamiento de efluentes (Abinandan y Shanthakumar, 2015)

6.8. Recapitulación

Es cuanto menos sorprendente que algo de tamaño microscópico tenga el potencial como para cambiar el mundo. La biotecnología de las microalgas tiene un futuro más que prometedor, sobre todo si somos capaces de perfeccionar las técnicas laborales para extraer de su biomasa los compuestos bioactivos necesarios para la producción animal como pigmentos, carotenoides, polisacáridos, triglicéridos, ácidos grasos y vitaminas, de alto valor biológico para sus dietas.

Con un interés creciente, numerosos científicos investigan en proyectos encaminados a encontrar un método estable para la transferencia de genes. Según el investigador español Diego López, que trabaja con las especies de microalgas *Tetraselmis chui* y *Nannochloropsis gaditana*, se logró una

transferencia de genes de la especie vegetal *Echium pitardi*, consiguiendo que los genes se expresen y sean capaces de mejorar la producción de los aceites esenciales en las microalgas. Según el investigador principal, después de elegir el método de transferencia, el segundo paso fue elegir el tipo de gen y el promotor para que se exprese. Por ello, en el futuro, las microalgas pueden llegar a ser "factorías celulares" para la expresión de proteínas recombinantes incluyendo anticuerpos, vacunas y otras proteínas terapéuticas tanto humanas como animales.

También es primordial encontrar soluciones que permitan mejorar los cultivos de microalgas para que sean más rentables y puedan emplearse sus subproductos para desarrollar una agricultura más ecológica. Es tal la cantidad de oportunidades que nos brindan estos microorganismos que sería muy conveniente enfocarnos en investigar sobre todo en pos de la lucha contra el cambio climático con el desarrollo de biocombustibles y el tratamiento de aguas residuales.

7. Conclusiones:

- I.** El estudio de las microalgas comienza en el siglo XVIII al ser utilizadas como modelo para comprender la fotosíntesis y continúa en la actualidad, donde se investigan detalladamente sus cualidades para aplicarlas en la industria farmacéutica, alimentaria y energética.
- II.** Las microalgas son organismos unicelulares y de pequeño tamaño entre 2-200µm con un metabolismo fotoautótrofo dependiente de fuentes de carbono, luz y nutrientes.
- III.** Gracias a la fotosíntesis oxigénica son los microorganismos más eficientes en la utilización de la energía solar y su posterior conversión en biomasa microalgal.
- IV.** Su mayor producción se encuentra localizada en Asia pero actualmente la UE esta invirtiendo en desarrollar biorrefinería industrial a gran a escala. En España la producción se focaliza en Andalucía ligada a los centros de investigación e universidades.
- V.** Se conocen aproximadamente 40.000 especies de las que actualmente se comercializan principalmente: *Chlorella vulgaris*, *Arthrospira platensis* y *Dunaliella salina*.
- VI.** Las condiciones de cultivo son determinantes para su producción dependiendo de la especie. Necesitan una temperatura entre 20-25°C, una intensidad lumínica de 2.000 Lx y un rango de pH entre 7 y 9, además de constante suministro de nutrientes principalmente nitrogenados y la agitación del medio por el aire.
- VII.** Su composición química está determinada directamente por sus condiciones de cultivo. Las microalgas son ricas en proteínas, vitaminas, ácidos grasos y minerales destacando su alta concentración en pigmentos β- carotenos y prebióticos de alto valor biológico.
- VIII.** En las gallinas ponedoras mejoran las características del huevo por su alta concentración en carotenoides y aportan ácidos grasos esenciales AA, DHA y EPA en la carne de broilers.

- IX.** En los cerdos se ha demostrado que al suplementar con microalgas las dietas convencionales se mejora la salud intestinal de los lechones. Además aportan ácidos grasos ricos en omega 3 que favorecen el correcto desarrollo de los animales.
- X.** En los rumiantes pese a que tienen la capacidad de digerir la celulosa de su pared celular, la palatabilidad de las microalgas se debe mejorar o encontrar la forma de implementarlas en la dieta por su alta concentración en energía metabolizable.
- XI.** En la acuicultura son la base de numerosas cadenas tróficas por lo que su uso está totalmente justificado sobre todo durante en fases larvarias de desarrollo.
- XII.** Debemos rentabilizar su explotación a gran escala, desarrollando otros posibles usos como la producción de biocombustibles o el tratamiento de aguas residuales.

Conclusions

- I.** The study of microalgae began in the 18th century when they were used as a model for understanding photosynthesis and continues today, where their qualities are being investigated in detail for application in the pharmaceutical, food and energy industries.
- II.** Microalgae are unicellular and small organisms between 2-200µm in size with a photoautotrophic metabolism dependent on carbon, light and nutrient sources.
- III.** Thanks to oxygenic photosynthesis, they are the most efficient micro-organisms in the use of solar energy and its subsequent conversion into microalgal biomass.
- IV.** Their main production is located in Asia but the EU is currently investing in the development of large-scale industrial biorefineries. In Spain, production is focused in Andalusia linked to research centres and universities.
- V.** Approximately 40.000 species are known, of which the main ones currently marketed are: *Chlorella vulgaris*, *Arthrospira platensis* and *Dunaliella salina*.
- VI.** Cultivation conditions are decisive for their production depending on the species. They need a temperature between 20-25°C, a light intensity of 2,000 Lx and a pH range between 7 and 9, as well as a constant supply of mainly nitrogenous nutrients and agitation of the medium by air.
- VII.** Their chemical composition is directly determined by their culture conditions. Microalgae are rich in proteins, vitamins, fatty acids and minerals, with a high concentration of β-carotene pigments and prebiotics of high biological value.
- VIII.** In laying hens, they improve egg characteristics due to their high concentration of carotenoids and provide essential fatty acids AA, DHA and EPA in broiler meat.

- IX.** In pigs, it has been shown that supplementing conventional diets with microalgae improves the intestinal health of piglets. They also provide fatty acids rich in omega 3 that promote proper development of the animals.
- X.** In ruminants, although they have the capacity to digest the cellulose of their cell wall, the palatability of microalgae must be improved or a way must be found to implement them in the diet due to their high concentration of metabolizable energy.
- XI.** In aquaculture, they are the basis of numerous food chains, so their use is fully justified, especially during the larval stages of development.
- XII.** We must make their large-scale exploitation profitable, developing other possible uses such as the production of biofuels or sewage treatment.

8. Valoración personal

La realización de este trabajo me ha supuesto un reto debido a la elección del tema. El interés por plantearme otra forma de desarrollo más sostenible y el tratar de buscar soluciones a los actuales problemas de la producción animal me llevaron a decidirme por las microalgas. El desarrollo de este TFG ha sido muy gratificante sobre todo durante la búsqueda previa de información y la redacción de la revisión bibliográfica en base a los estudios realizados anteriormente. Me ha sorprendido la cantidad de trabajos relacionados con el tema y las diferentes áreas de la ciencia que abarca lo cual denota la inquietud de la sociedad académica en la búsqueda de soluciones a los problemas que se nos presentan y reafirma que el cambio es la única constante.

Gracias a mi tutor he gozado de libertad en la realización del trabajo pudiendo centrarme en la potencialidad de estos microorganismos. Por último, también agradecer a aquellos profesores y compañeros que me han motivado a seguir aprendiendo día a día y especialmente a mi familia por su apoyo incondicional.

9. Bibliografía

- ❖ Abalde J., Cid A., Fidalgo J., Torres E., Herrero C. (1995) *Microalgas: cultivo y aplicaciones*. Universidad de Coruña: Tórculo. 210 pp.
- ❖ Abinandan S., S Shanthakumar S. (2015). Challenges and opportunities in application of microalgae (Chlorophyta) for wastewater treatment: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 52: 123-1.
- ❖ Acién F., Fernández J., Molina E. (2013). Photobioreactors for the production of microalgae. *Environmental Science Biotechnology*.
- ❖ Asociación Empresarial de Acuicultura de España (2019). APROMAR. Disponible en: <http://www.apromar.es/content/la-acuicultura-en-espa%C3%B1a-2019>. [Consultado 04-09-2021].
- ❖ Asociación Europea de Biomasa de Algas (2020). EABA. Disponible en: <https://www.eaba-association.org/en>. [Consultado 04-09-2021].
- ❖ Batista A., Gouveia L., Bandarra N., Franco J., Raymundo A. (2013). "Comparison of microalgal biomass profiles as novel functional ingredient for food products".
- ❖ Becker E. (1994). *Biotechnology and Microbiology*. Cambridge University Press. 293 pp.
- ❖ Ben-Amotz A. (1999). Production of β -caroteno in *Dunaliella*. *Chemicals from Microalgae*. Cohen Z. (Ed). Taylor, Francis, London, UK, pp. 196-204.
- ❖ Borowitzka MA. (1999). Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. *Journal of Biotechnology* 70: 313-332.
- ❖ Brennan L., Owende P. (2010). Biofuels from microalgae-A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14: 557-577.
- ❖ Brown M., Jeffrey S., Garland C. (1989). Nutritional aspects of microalgae used in mariculture: a literature review. *CSIRO Marine Reports*, nº 205.
- ❖ Chojnacka K., Márquez-Rocha F. (2004). Kinetic and stoichiometric relationships of the energy and carbon metabolism in the culture of microalgae. *Biotechnology* 3(1): 21-34.
- ❖ Contreras-Flores C., Peña-Castro J., Flores-Cotera L., Cañizares-Villanueva R. (2003). Avances en el diseño conceptual de fotobiorreactores para el cultivo de microalgas. *Interciencia* 28(8): 450-456.
- ❖ Converti A. (2019). Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel production. *Chemical Engineering and Processing*. 48: p. 1146- 1151.

- ❖ Field C., Behrenfeld M., Randerson J., Falkowski P. (1998). Primary production of the biosphere integrating terrestrial and oceanic components. *Science*,281:237-240.
- ❖ Forján E., Vílchez C., Vega J. *Biotecnología de microalgas*.(2014). CEPSA. 256 pp.
- ❖ Furbeyre H., Van Milgen J., Mener T., Gloaguen M., Labussière E. (2017). Effects of dietary supplementation with freshwater microalgae on growth performance, nutrient digestibility and gut health in weaned piglets.
- ❖ Jing-Gung C., Hsin-Yi P., Yu-Chan C., You-Miin H., San-Der W., Su-Tze C. (2012). Anti-invasion and apoptosis induction of chlorella in Hep G2 human hepatocellular carcinoma cells. *J. Functional Foods*,4:302-310.
- ❖ Kalbe C., Priepke A., Nürnberg G., Dannenberger D. (2019). Effects of long-term microalgae supplementation on muscle microstructure, meat quality and fatty acid composition in growing pigs.
- ❖ Kasting J., Siefert J. (2002). Life and evolution of Earth´s atmosphere.
- ❖ Klein B., Walter C., Lange H., Buchholz R. (2001). Microalgae as natural sources for antioxidative compounds. *J. Appl. Phycol.*24:1133-1139.
- ❖ Koru E. (2012). *Earth Food Spirulina (Arthrospira): Production and Quality Standarts*.
- ❖ Lamminen M. (2019). Potential of microalgae to replace conventional protein feeds for sustainable dairy cow nutrition. Thesis. University of Helsinki.
- ❖ López-Muñoz I., Fidalgo P., Cid A. Herrero C. (1992). Tasas de fotosíntesis de la microalga marina *Phaeodactylum tricornutum* bajo diferentes condiciones de intensidades de luz y temperatura. *Biotec-92*. Santiago de Compostela.
- ❖ Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (2020). FAO. Disponible en: <http://www.fao.org/state-of-fisheries-aquaculture>. [Consultado 04-09-2021].
- ❖ Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (2017). FAO-OCDE. Disponible en: <http://www.fao.org/3/BT098s/BT098s.pdf>. [Consultado 04-09-2021].
- ❖ Otte M., Moreira F., Bianchi I., Oliveira J., Mendes R., Haas C., Anciuti A., Rovani M., Gasperin B., Lucia T. (2018). Effects of supplying omega-3 polyunsaturated fatty acids to gilts after weaning on metabolism and ovarian gene expression.
- ❖ Piorreck M., Baasch K., Pohl P. (1984). Biomass production, total protein, chlorophylls, Lipids and fatty acids of freshwater green and blue-green algae under different nitrogen regimes. *Phytochemistry*, 23: 207-216.
- ❖ Rasoul-Amini S., Montazeri-Najafabady N., Shaker S., Safari A., Kazemi A., Mousavi P., Mobasher M., Ghasemi Y. (2014). Removal of nitrogen and phosphorus from wastewater

using microalgae free cells in bath culture system. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 3(2): 126-131.

- ❖ Rawat I., Ranjith-Kumar R., Mutanda T., Bux F. (2011). Dual role of microalgae: Phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production. *Applied Energy* 88: 3411-3424.
- ❖ Richmond A. (2004). Biological principles of mass cultivation. *Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phycology*, pp. 125-177.
- ❖ Sánchez Y., Tobío I., Romero J., Díaz Y., Melo E., Piloto R. (2018). Evaluación de las condiciones experimentales básicas para la producción de biomasa a partir de la microalga *Chlorella vulgaris*.
- ❖ Selecciones avícolas. (2019). Disponible en: [Selecciones Avícolas - Productos de algas en dietas avícolas \(seleccionesavicolas.com\)](http://seleccionesavicolas.com) [Consultado 04-09-2021].
- ❖ Sing G., Nigam P.S., Murphy J.D. (2011) Mechanism and challenges in commercialization of algal biofuels. *Biores. Technol* 102:26-34.
- ❖ Spalding M. (2009) The CO₂-concentrating mechanism and carbon assimilation. *Chlamydomonas sourcebook*. Second edition. Stern D. B., Harris E.H.(Eds.). Elsevier-Academic Press. Amsterdam, Holland. Vol.2, pp.257-301.
- ❖ Spoehr., Millner. (1948). *The Chemical Composition of Chlorella; Effect of environmental conditions*.
- ❖ Spolare P., Joanis-Cassan C., Duran E., Isambert A. (2006). Commercial Applications of Microalgae. *J. Bios.Bioeng*.101:87-96.
- ❖ Todo cerdos. (2018). Disponible en: [Las microalgas, fuente de alimentación animal y de mejora medioambiental - Todo Cerdos - El portal de noticias del sector porcino](http://www.todo-cerdos.com). [Consultado 04-09-2021].
- ❖ Vonshak, A. (1997). *Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, Cell-biology and Biotechnology*. London: Taylor & Francis.
- ❖ Wang L., Min M., Li Y., Chen P., Chen Y., Liu Y., Wang Y., Ruan R. (2010). Cultivation of green algae *Chlorella* sp. in different wastewaters from municipal wastewater treatment plant. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 162(4): 1174-1186.
- ❖ Wijffels R. (2007). Potencial of sponges and microalgae for marine biotechnology.
- ❖ Zeng X., Danquah M., Chen X., Lu Y. (2011). Microalgae bioengineering; From CO₂ fixation to biofuel production. *Renew. Sustain. Energy Rev*.15:3252-3260.
- ❖ Zeng X., Danquah M., Chen X., Lu Y. (2011). Microalgae bioengineering; From CO₂ fixation to biofuel production. *Renew. Sustain. Energy Rev*.15:3252-3260.