

Análisis de las aplicaciones de la microalga *Botryococcus braunii* en procesos industriales

Analysis of The Applications of the Microalgae *Botryococcus braunii* in Industrial Processes

Derly Darleyn Carrascal Rivera¹, Angie Camila Tasco Quintero¹, Andrés Fernando Barajas-Solano¹, Janet Bibiana García-Martínez² y Fiderman Machuca Martínez³

Resumen

Las microalgas y cianobacterias son la nueva plataforma biotecnológica por la producción de diversos metabolitos de interés industrial como carbohidratos, proteínas, lípidos, carotenoides e incluso metabolitos menos comunes como lo son los hidrocarburos y los exopolisacáridos. Una de las especies con la capacidad de producir un amplio espectro de metabolitos es *Botryococcus braunii*. Esta alga verde colonial posee la peculiaridad de sintetizar hidrocarburos, Exopolisacáridos y otros metabolitos. La presente contribución presenta un panorama bibliométrico de la investigación mundial sobre la producción de *B. braunii* y sus principales metabolitos de interés para procesos industriales. Los datos de publicaciones científicas durante los últimos 21 años (2000-2021) se obtuvieron de la base de datos SCOPUS® y se filtraron mediante una estrategia de búsqueda sistemática. A partir del análisis se obtuvo un total de 675 documentos científicos enfocados en el aislamiento, producción y mejoramiento de cepas pertenecientes a la especie *Botryococcus braunii*. De acuerdo con la información obtenida la mayor cantidad de trabajos publicados se han enfocado en la producción y mejoramiento de hidrocarburos tanto para la obtención de biocombustibles. Los principales países que mas han aportado a la investigación de esta especie son Estados Unidos, Japón, China e India; Sin embargo países con alta concentración de biodiversidad como Colombia presentan pocos trabajos con cepas aisladas dentro del territorio nacional. Este análisis bibliométrico permite evidenciar el alto grado de desarrollo obtenido en los últimos 20 años para generar plataformas biotecnológicas para la obtención de nuevas materias primas para diferentes sectores industriales.

Palabras clave: aplicaciones industriales, análisis bibliométrico, biocombustibles, exopolisacáridos, hidrocarburos, microalgas

Abstract

Microalgae and cyanobacteria are the new biotechnological platform to produce diverse metabolites of industrial interest such as carbohydrates, proteins, lipids, carotenoids, and even fewer common metabolites such as hydrocarbons and exopolysaccharides. One of the species with the capacity to produce a broad spectrum of metabolites is *Botryococcus braunii*. This colonial green alga has the peculiarity of synthesizing hydrocarbons, exopolysaccharides, and other metabolites. The present contribution presents a bibliometric overview of the worldwide research on the production of *B. braunii* and its primary metabolites of interest for industrial processes. Data on scientific publications during the last 21 years (2000-2021) were obtained from the SCOPUS® database and filtered using a systematic search strategy. A total of 675 scientific papers focused on the isolation, production, and improvement of strains belonging to the *B. braunii* species were obtained from the analysis. According to the information obtained, most of the published works have focused on producing and improving hydrocarbons to produce biofuels. The major countries that have contributed the most to research on this species are the United States, Japan, China, and India; however, countries with a high concentration of biodiversity, such as Colombia, present few studies with isolated strains within the national territory. This bibliometric analysis shows the high degree of development obtained in the last 20 years to generate biotechnological platforms to obtain new raw materials for different industrial sectors.

Keywords: industrial applications, bibliometric analysis, biofuels, exopolysaccharide, hydrocarbons, microalgae

Recepción: 30-Mar-2021

Aceptación: 27-May-2021

¹Grupo de Investigación Ambiente y Vida GIAV, Departamento de Ciencias del Medio Ambiente, Universidad Francisco de Paula Santander, Cúcuta, Colombia.

²Grupo de Investigación en Ingeniería Ambiental GRIAMB, Departamento de Ciencias del Medio Ambiente, Universidad Francisco de Paula Santander, Cúcuta, Colombia.

³Escuela de Ingeniería Química, Universidad del Valle, Cali, Colombia. Autor de correspondencia: andresfernandobs@ufps.edu.co

1 Introducción

En los últimos años la aplicación biotecnológica de las microalgas y cianobacterias han adquirido un puesto importante en el desarrollo tecnológico de diversos sectores industriales como la farmacéutica, cosmética, alimentaria e incluso la energética [1]. Este grupo de microorganismos fotosintéticos poseen la capacidad de emplear fuentes de nitrógeno (NO₃) y fosforo (PO₄) mientras capturan CO₂ atmosférico y lo transforman en biomasa y metabolitos de interés industrial [2]. Actualmente, se estima que existen aproximadamente 30.000 especies entre microalgas y cianobacterias, sin embargo, hasta la fecha solo se explotan comercialmente menos de 20 especies [3]. Estas especies poseen atributos que las hacen más llamativas como lo son: altas tasas de captura de CO₂, alta concentración de metabolitos específicos (carbohidratos, proteínas, lípidos, etc) [4, 5] que son explotados en diferentes sectores industriales [6]. Según las especies de algas, algunas pueden sintetizar metabolitos de alto valor agregado como EPA (Ácido eicosapentaenoico), DHA (Ácido docosahexaenoico) [7], antioxidantes, pigmentos (clorofilas, carotenoides), compuestos fenólicos [8] y vitaminas como A, B₁, B₂, B₆, B₁₂, C, E, biotina y ácido fólico [9]. Dentro de las especies de microalgas *Botryococcus braunii* es considerada como una de las especies promisorias para la producción de energía y lípidos de alto valor agregado [10]. Este microorganismo colonial posee la capacidad única de sintetizar altas concentraciones de lípidos (hasta 65% p/p), especialmente hidrocarburos [11, 12]. Debido a su química la convierte en una plataforma versátil para la producción de biocombustibles como bioetanol, biodiesel, jet fuel, gasolina [13], y otros productos para fines farmacéuticos, cosméticos, alimentarios, entre otros [14]. *B. braunii* es una de las pocas especies de microalgas con la capacidad de sintetizar hidrocarburos; debido a esto se ha clasificado a esta especie en 3 razas fotoquímicas dependiendo del tipo de hidrocarburos, estas son: Raza A, la cual produce principalmente n-alcadienos y n-alcatrienos; La raza B produce principalmente triterpenoides, y la raza L produce un solo tetraterpenoide llamado licopadieno. [15, 16]. Si bien esta especie es posible encontrar en diferentes hábitats como lagunas, embalses y estanques [11,

12], posee uno de los ciclos de crecimiento más lentos reportados para microalgas, con tiempos de duplicación de hasta 72 horas [17]. Esta capacidad de lento crecimiento le permite a *B. braunii* adaptarse a condiciones de crecimiento y a diferentes medios de cultivo de igual manera a diversas condiciones de estrés como a condiciones anaeróbicas, iluminación continua y oscuridad prolongada [17]. Debido a sus diferentes atributos, esta especie ha sido estudiada extensamente en los últimos 21 años, por lo cual es posible encontrar trabajos enfocados en el mejoramiento del medio de cultivo, los cuales van desde la mejor fuente de carbono [17], nitrógeno [18] y fósforo [19] y otros componentes menores, hasta del efecto de la concentración de CO₂ en la deposición de hidrocarburos [20]. El objetivo de este trabajo es realizar un análisis bibliométrico de las diferentes publicaciones realizadas en los últimos 21 años (2020-2021) en relación con la microalga *Botryococcus braunii*. Este artículo de revisión busca presentar a los lectores información sobre las diversas cepas de empleadas a nivel mundial, al igual que los medios de cultivo y las condiciones de crecimiento más empleadas en la producción de esta microalga.

2 Metodología

2.1 Análisis bibliométrico y de co-ocurrencia

Para realizar el presente estudio la información se obtuvo a partir de la base de datos SCOPUS®. Para la selección de la información se incluyeron todos los documentos tipo documentos publicados durante los últimos 21 años (2000-2021) que tuvieran en su título, resumen, o palabras clave “*Botryococcus braunii*”. La información recuperada de la base de datos fue utilizada para desarrollar el análisis de co-ocurrencia entre palabras claves con el software de acceso gratuito VOSviewer [21], el cual se puede descargar en el siguiente enlace: www.vosviewer.com.

2.2 Metabolitos principales de *Botryococcus braunii* y su aplicación industrial

La información recuperada de la base de datos SCOPUS® fue empleada para determinar el impacto los principales metabolitos como hidrocarburos,

exopolisacáridos, carotenoides, proteínas; los cuales son de gran importancia para la generación de biocombustibles, farmacéuticos, cosméticos, entre otros.

3 Resultados y discusión

3.1 Análisis bibliométrico

El análisis correspondiente de los documentos recopilados entre los años 2000 a 2021, se encontraron 675 documentos repartidos entre artículos científicos (561), conference papers (52), reviews (43), capítulos de libros (11) entre otros (Figura 1). Si bien durante los primeros 10 años (2000-2010) las publicaciones en torno a esta microalga no superaron la barrera de los 30 documentos por año, en el año 2011 se puede apreciar un crecimiento exponencial (de 20 a más de 50 documentos anuales), seguido de un nivel constante de publicaciones anuales hasta una reducción significativa en los últimos 2 años (2020-2021). Cabe resaltar que la mayor cantidad de publicaciones se concentra en países como Alemania [22-25]; Australia [26]; Brasil [13, 27-30]; Chile [31, 32]; China [33-44]; Colombia [12]; Francia [45-47]; India [48-53]; Inglaterra [54], Japón [55-72]; Korea [73-77]; Marruecos [78]; Países Bajos [79]; Reino Unido [80]; República Checa [81-82]; Tailandia [83-87]; Estados Unidos [88-95] y otros (Figura 2). Lo anterior muestra un alto grado de interés en la búsqueda, aislamiento y determinación de metabolitos específicos de esta especie.

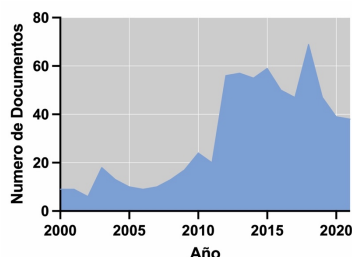


Figura 1. Número de documentos publicados desde el año 2000 al 2021 sobre *B. braunii*.

3.2 Análisis de co-ocurrencia

De acuerdo con el análisis de co-ocurrencia para la palabra clave "*Botryococcus braunii*" se obtuvieron 75 palabras que más repiten de forma consecutiva

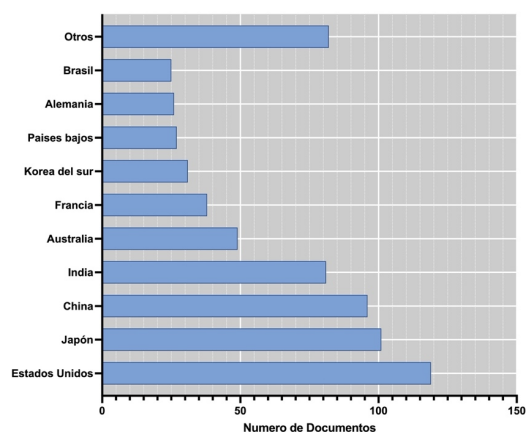


Figura 2. Número de documentos publicados desde el año 2000 al 2021 sobre *B. braunii* por países.

en los diferentes documentos científicos evaluados (Figura 3). Estas palabras fueron organizadas en 5 clusters diferenciados por colores (verde, violeta, azul, amarilla, y roja). En la tonalidad verde se encuentran palabras clave que hacen referencia a las aplicaciones industriales como biodiesel, gases, aceite de algas, disolventes orgánicos, hexano, combustibles, motores diésel, éster, las cuales son las palabras que más se destacan en un gran número de publicaciones científicas en el campo de la microalga *B. braunii* de interés industrial. En la tonalidad violeta se mencionan palabras como bioacumulación, crecimiento celular, cultivo de especies, cultivo de células de algas. La tonalidad azul se refiere a las palabras clave relacionadas con el crecimiento de algas, se encuentran palabras como fotobiorreactor, salinidad, fósforo, nutrientes, efluentes, esto demuestra el interés en utilizar las condiciones de cultivo y condiciones de crecimiento más adecuadas para la producción de los metabolitos de *B. braunii*. Seguidamente, la tonalidad amarilla presenta un campo sobre biosíntesis, secuencia de nucleótidos, terpeno, escualeno, ADN complementario, triterpenoide, genética. Finalmente, en la tonalidad roja se comprende palabras clave como ácido insaturado, análisis químico, lípidos de éter, pirólisis, kerogeno, derivado de escualeno, los cuales tienen propósitos comerciales a partir de microalgas.

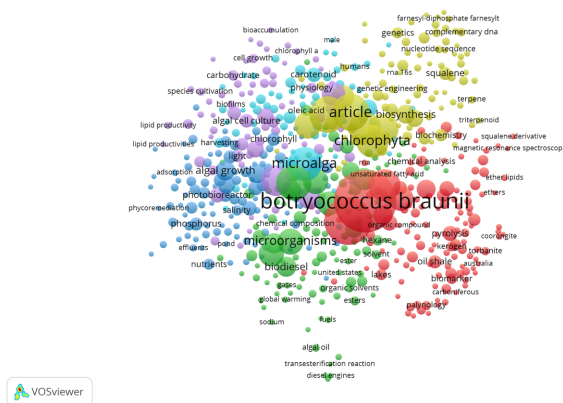


Figura 3. Análisis de redes de co-ocurrencia de palabras clave con cinco colores (**verde**: 15 palabras; **violeta**: 12 palabras; **azul**: 17 palabras; **amarilla**: 15 palabras; **roja**: 19 palabras).

3.3 Principales metabolitos de *B. braunii* y su aplicación industrial

A partir de la información recopilada en la sección anterior se pudo separar en 3 grandes grupos de metabolitos más estudiados como lo son (1) hidrocarburos y lípidos, (2) EPS, carbohidratos y plásticos y (3) carotenoides, proteínas y otros. En la Figura 4 se presenta la producción anual de documentos científicos durante los últimos 21 años. De acuerdo con esta información, durante el año 2012 se presentó un aumento significativo en la publicación de documentos científicos enfocados en la síntesis y producción de hidrocarburos, lo anterior se debe a que durante el 2010 y 2014 surgió un interés internacional por reemplazar los combustibles tradicionales (1ra generación) por aquellos obtenidos de microalgas (3ra generación) [96]. A diferencia de los hidrocarburos, otros metabolitos como lo son carotenoides, proteínas, han tenido una representación modesta. Por último, si bien esta especie es conocida no solo por su capacidad de sintetizar hidrocarburos, sino exopolisacáridos, la cantidad de documentos científicos publicados es muy inferior (23 documentos) en comparación con las otras dos categorías.

3.4 Hidrocarburos y biocombustibles

Los hidrocarburos son compuestos naturales conformados únicamente en su totalidad por átomos

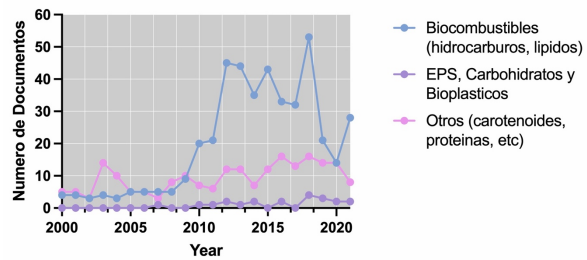


Figura 4. Publicación de documentos científicos en los últimos 21 años separados por grupo de metabolitos de interés industrial.

de hidrógeno y carbono, y son una de las fuentes de energía más importantes [97]. *B. Braunii* puede generar cantidades significativas tanto de hidrocarburos de cadena larga como tetrametil escualeno, trans-licopadieno, botriococeno C_{30} , dieno C_{27} , trieno C_{27} , escualeno [98], al igual que carbohidratos y, por lo tanto, es un organismo industrial prometedor para el desarrollo de componentes básicos para biopolímeros. [99]. Estos hidrocarburos no solo se pueden transformar mediante craqueo catalítico en combustibles de alta calidad, como jet fuel, gasolina y diésel [100-102]. Los parámetros más importantes para el crecimiento de microalgas son el carbono y el nitrógeno, y una relación C: N eficiente es crucial para evaluar la productividad de los lípidos y la biomasa de *B. braunii* [103]. así mismo, se han realizado diversos estudios donde se ha demostrado el efecto potenciador de ciertos medios de cultivo como Chu-13, BG-11 [15] y el AF-2 [67]; sin embargo es importante recordar que de acuerdo con los resultados reportados por Largeau *et al* [104], la síntesis y deposición de hidrocarburos y lípidos son directamente proporcionales al crecimiento del microorganismo. Los resultados reportados por Manchanda *et al* [105] indican que el control de las concentraciones de ciertos nutrientes y la explotación potencial de las condiciones de estrés nutricional pueden contribuir a mejorar tanto la cantidad como los tipos deseables de componentes de biocombustibles con una tasa de crecimiento significativa de *B. Braunii* para la producción de bioenergía para cultivo comercial [106]. Otros factores reportados como críticos para la síntesis de hidrocarburos y lípidos son la salinidad, la temperatura, la nutrición, la turbidez, el OD, el CO_2 y el pH. [24, 26, 107]. La tabla 1 reúne las

condiciones empleadas para la producción de 8 cepas de *B. braunii* ampliamente estudiadas.

Tabla 1. Principales cepas de *B. braunii* para la producción de hidrocarburos

Cepa	Condiciones de cultivo	Contenido de hidrocarburos % (p/p)	Referencia
SAG30.81	Medio Chu 13 intensidad de luz: 1.2 k lux fotoperiodo de luz: oscuridad 16: 8 h CO ₂ ambiental 25 °C agitación mecánica a 90 rpm	46	[17]
LB572	Medio de cultivo Chu 13 intensidad de luz: 1.2 klux fotoperiodo de luz: oscuridad 16: 8 h CO ₂ ambiental 25 °C agitación mecánica a 90 rpm	33	
BOT22	Medio de cultivo AF-2 intensidad de luz: 80 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fotoperiodo de luz: oscuridad 24:0 h CO ₂ ambiental 25 °C	36	[67]
Showa	Medio Chu 13 pH: 7,2 intensidad de luz: 60 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fotoperiodo de luz: oscuridad 18: 6 h CO ₂ ambiental 23 °C	25	[97]
AC761	Medio Chu 13 pH: 7,2 intensidad de luz: 60 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fotoperiodo de luz: oscuridad 18: 6 h CO ₂ ambiental 23 °C agitación mecánica a 60 rpm	45	
AC759	Medio Chu 13 pH: 7,2 intensidad de luz: 60 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fotoperiodo de luz: oscuridad 18: 6 h CO ₂ ambiental 23 °C agitación mecánica a 60 rpm	21	
CCALA777	Medio Chu 13 pH: 7,2 intensidad de luz: 60 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fotoperiodo de luz: oscuridad 18: 6 h CO ₂ ambiental 23 °C agitación mecánica a 60 rpm	10	
AC755	Medio Chu 13 pH: 7,2 intensidad de luz: 60 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fotoperiodo de luz: oscuridad 18: 6 h CO ₂ ambiental 23 °C	16	

3.5 Exopolisacáridos, carbohidratos y/o bioplásticos

Los polisacáridos extracelulares (Exopolisacáridos) (EPS) consisten en la mayor parte de la materia orgánica liberada al entorno por microalgas y cianobacterias en océanos, lagos y ríos [108]. Los EPS son comúnmente utilizados por la industria como agentes biológicos (antioxidantes, antiinflamatorios, antiparasitarios, etc.) e hidrocoloides (agentes espesantes, gelificantes) [109]. Algunos también se pueden emplear como biolubricantes y biomateriales [110]; Sin embargo una de las aplicaciones más populares es la biorremediación, ya que poseen una alta variedad de grupos funcionales cargados negativamente, por lo tanto pueden ser empleados para la remoción de metales pesados y contaminantes orgánicos [111-113]. Los EPS

aislados de *B. Braunii* poseen amplias cantidades de galactosa, y pequeñas cantidades de glucosa, ácido úrico, ramnosa, fucosa, ácido galacturónico y ácido orgánico glucurónico [14]. Debido a su heterogeneidad en su composición, los EPS producidos por *B. braunii* pueden ser utilizados para importantes aplicaciones industriales como pinturas de paredes o textiles, adhesivos, papel, productos de lavandería, materiales, productos farmacéuticos y alimentos, de igual forma podrían usarse en la industria química para la producción de poliésteres [48,114], e incluso en productos para el cuidado de la piel de la industria cosmética [115].

3.6 Otros metabolitos (carotenoides, etc.)

Uno de los principales metabolitos secundarios de las microalgas son los carotenoides. Entre los metabolitos secundarios se destacan glucósidos, alcaloides, terpenoides, fenazinas, flavonoides y fenoles, los cuales estos compuestos químicos se encuentran en los microorganismos. El uso de estas moléculas como fármacos y nutracéuticos importantes para el desarrollo de nuevos fármacos [116]. Los carotenoides están compuestos de violaxantina, neoxantina, luteína, loroxantina, β -caroteno y α -caroteno, mientras que el cetocarotenoide, equinenona es el componente principal de los carotenoides extracelulares. Se ha encontrado que *B. Braunii* es una fuente potencial de luteína para alimentos funcionales, piensos, pigmentos para acuicultura, avicultura, los cuales tienen un alto valor comercial en el mercado mundial y para la prevención de enfermedades degenerativas [117]. La concentración de los carotenoides también dependen de la raza fotoquímica. Cepas de la raza A sintetizan carotenoides como luteína, mientras que cepas de las razas B y L almacenan principalmente adonixantina, equinenona, cantaxantina y violaxantina [114,118].

4 Conclusiones

Un total de 675 documentos científicos entre artículos científicos, conference papers, reviews, capítulos de libros y otro tipo de documentos fueron publicados entre los años 2000 a 2021 enfocados en el aislamiento, producción y mejoramiento de cepas pertenecientes a la especie *Botryococcus*

braunii. Los clusters del análisis de co-ocurrencia muestran que la mayor cantidad de trabajos se han enfocado en la producción de hidrocarburos tanto para la obtención de biocombustibles de tercera generación (gasolina, jet fuel, biodiesel) como para la obtención de productos de alto valor agregado. Otros metabolitos poco explorados como los exopolisacaridos y los carotenoides han sido poco estudiados en este lapso de tiempo, sin embargo su importancia para el desarrollo de nuevos productos aun esta por determinarse. Los principales países por producción científica fueron Estados Unidos, Japón, China e India; cabe resaltar que países con mayor biodiversidad como Colombia presentan pocos trabajos con cepas aisladas dentro del territorio nacional. Por último, es necesario reforzar la bioprospección de cepas pertenecientes a *Botryococcus braunii* que puedan ser bioplataformas para la obtención de nuevas materias primas para diferentes sectores industriales.

Referencias

- [1] A. Zorro, J. B. García-Martínez, A. F. Barajas-Solano, "The Application of Catalytic Processes on the Production of Algae-Based Biofuels: A Review," *Catalysts*, Vol 11, no. 1, pp. 1-25, 2021, DOI: 10.3390/catal11010022
- [2] J. A. Garrido-Cardenas, F. Manzano-Agugliaro, F. G. Acien-Fernandez, and E. Molina-Grima, "Microalgae research worldwide," *Algal Res.*, vol. 35, no. May, pp. 50-60, 2018, DOI: 10.1016/j.algal.2018.08.005
- [3] W. J. Bourne, "What's it all about?," *Engineer*, vol. 294, no. 7781, p. 16, 2009.
- [4] Y. Chisti, "Biodiesel from microalgae," *Biotechnol. Adv.*, vol. 25, no. 3, pp. 294-306, 2007, DOI: 10.1016/j.biotechadv.2007.02.001
- [5] B. Wang, Y. Li, N. Wu, and C. Q. Lan, "CO₂ bio-mitigation using microalgae," *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 79, no. 5, pp. 707-718, 2008, DOI: 10.1007/s00253-008-1518-y
- [6] O. Pulz and W. Gross, "Valuable products from biotechnology of microalgae," *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 65, no. 6, pp. 635-648, 2004, DOI: 10.1007/s00253-004-1647-x
- [7] M. R. Brown, S. W. Jeffrey, J. K. Volkman, and G. A. Dunstan, "Nutritional properties of microalgae for mariculture," in *Aquaculture*, May 1997, vol. 151, no. 1-4, pp. 315-331, DOI: 10.1016/S0044-8486(96)01501-3
- [8] L. M. Lubián *et al.*, "Nannochloropsis (Eustigmatophyceae) as source of commercially valuable pigments," *J. Appl. Phycol.*, vol. 12, no. 3-5, pp. 249-255, 2000, DOI: 10.1023/a:1008170915932.
- [9] M. R. Brown, M. Mular, I. Miller, C. Farmer, and C. Trenerry, "The vitamin content of microalgae used in aquaculture," *J. Appl. Phycol.*, vol. 11, no. 3, pp. 247-255, 1999, DOI: 10.1023/A:1008075903578
- [10] A. F. Barajas-Solano, A. Guzmán-Monsalve, V. Kafarov, "Effect of Carbon-Nitrogen Ratio for the Biomass Production, Hydrocarbons and Lipids on *Botryococcus Braunii* UIS 003," *Chem. Eng. Trans.* vol. 49, pp. 247-252, 2016, DOI: 10.3303/CET1649042
- [11] P. Metzger and C. Largeau, "*Botryococcus braunii*: A rich source for hydrocarbons and related ether lipids," *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 66, no. 5, pp. 486-496, 2005, DOI: 10.1007/s00253-004-1779-z
- [12] P. Mehta *et al.*, "Continuous non-destructive hydrocarbon extraction from *Botryococcus braunii* BOT-22," *Algal Res.*, vol. 41, p. 101537, Aug. 2019, DOI: 10.1016/j.algal.2019.101537
- [13] I. T. D. Cabanelas, S. S. I. Marques, C. O. de Souza, J. I. Druzian, and I. A. Nascimento, "*Botryococcus*, what to do with it? Effect of nutrient concentration on biorefinery potential," *Algal Res.*, vol. 11, pp. 43-49, 2015, DOI: 10.1016/j.algal.2015.05.009
- [14] A. Banerjee, R. Sharma, Y. Chisti, and U. C. Banerjee, "*Botryococcus braunii*:"

- A renewable source of hydrocarbons and other chemicals,” *Crit. Rev. Biotechnol.*, vol. 22, no. 3, pp. 245-279, 2002, DOI: 10.1080/07388550290789513
- [15] P. Metzger, C. Berkaloff, E. Casadevall, and A. Coute, “Alkadiene- and botryococcene-producing races of wild strains of *Botryococcus braunii*,” *Phytochemistry*, vol. 24, no. 10, pp. 2305-2312, Jan. 1985, DOI: 10.1016/S0031-9422(00)83032-0
- [16] Z. Huang and C. Dale Poulter, “Tetramethylsqualene, a triterpene from *Botryococcus braunii* var. *showa*,” *Phytochemistry*, vol. 28, no. 5, pp. 1467-1470, Jan. 1989, DOI: 10.1016/S0031-9422(00)97766-5.
- [17] C. Dayananda, R. Sarada, M. Usha Rani, T. R. Shamala, and G. A. Ravishankar, “Autotrophic cultivation of *Botryococcus braunii* for the production of hydrocarbons and exopolysaccharides in various media,” *Biomass and Bioenergy*, vol. 31, no. 1, pp. 87-93, 2007, DOI: 10.1016/j.biombioe.2006.05.001
- [18] T. Tanoi, M. Kawachi, and M. M. Watanabe, “Effects of carbon source on growth and morphology of *Botryococcus braunii*,” *J. Appl. Phycol.*, vol. 23, no. 1, pp. 25-33, 2011, DOI: 10.1007/s10811-010-9528-4.
- [19] J. Y. An, S. J. Sim, J. S. Lee, and B. W. Kim, “Hydrocarbon production from secondarily treated piggery wastewater by the green alga *Botryococcus braunii*,” *J. Appl. Phycol.*, vol. 15, no. 2-3, pp. 185-191, 2003, DOI: 10.1023/A:1023855710410
- [20] Y. Ge, J. Liu, and G. Tian, “Growth characteristics of *Botryococcus braunii* 765 under high CO₂ concentration in photobioreactor,” *Bioresour. Technol.*, vol. 102, no. 1, pp. 130-134, 2011, DOI: 10.1016/j.biortech.2010.06.051
- [21] N. J. van Eck, L. Waltman, “Software Survey: VOSviewer, a Computer Program for Bibliometric Mapping”, *Scientometrics*, Vol 84, no. 2, pp. 523-538, 2010, DOI: 10.1007/s11192-009-0146-3
- [22] P. Cheng *et al.*, “Cobalt enrichment enhances the tolerance of *Botryococcus braunii* to high concentration of CO₂,” *Bioresour. Technol.*, vol. 297, p. 122385, 2020, DOI: 10.1016/j.biortech.2019.122385
- [23] C. Griehl, C. Kleinert, C. Griehl, and S. Bieler, “Design of a continuous milking bioreactor for non-destructive hydrocarbon extraction from *Botryococcus braunii*,” *J. Appl. Phycol.*, vol. 27, no. 5, pp. 1833-1843, Oct. 2015, DOI: 10.1007/s10811-014-0472-6
- [24] J. Jin, C. Dupré, J. Legrand, and D. Grizeau, “Extracellular hydrocarbon and intracellular lipid accumulation are related to nutrient-sufficient conditions in pH-controlled chemostat cultures of the microalga *Botryococcus braunii* SAG 30.81,” *Algal Res.*, vol. 17, pp. 244-252, Jul. 2016, DOI: 10.1016/j.algal.2016.05.007
- [25] M. N. Metsoviti, G. Papapolymerou, I. T. Karapanagiotidis, and N. Katsoulas, “Comparison of growth rate and nutrient content of five microalgae species cultivated in greenhouses,” *Plants*, vol. 8, no. 8, Aug. 2019, DOI: 10.3390/plants8080279
- [26] K. A. Al-Hothaly, M. Taha, B. H. May, S. Stylianou, A. S. Ball, and E. M. Adetutu, “The effect of nutrients and environmental conditions on biomass and oil production in *Botryococcus braunii* Race B strains,” *Eur. J. Phycol.*, vol. 51, no. 1, pp. 1-10, Jan. 2016, DOI: 10.1080/09670262.2015.1071875
- [27] C. F. de Azevedo Barros, A. M. M. dos Santos, and F. A. R. Barbosa, “Phytoplankton diversity in the middle rio doce lake system of southeastern brazil,” *Acta Bot. Brasilica*, vol. 27, no. 2, pp. 327-346, 2013, DOI: 10.1590/S0102-33062013000200009
- [28] I. A. Nascimento *et al.*, “Screening Microalgae Strains for Biodiesel Production: Lipid Productivity and Estimation of Fuel Quality Based on Fatty Acids Profiles as Selective Criteria,” *Bioenergy Res.*, vol. 6, no. 1, pp. 1-13, 2013, DOI: 10.1007/s12155-012-9222-2

- [29] E. B. Sydney *et al.*, "Screening of microalgae with potential for biodiesel production and nutrient removal from treated domestic sewage," *Appl. Energy*, vol. 88, no. 10, pp. 3291-3294, 2011, DOI: 10.1016/j.apenergy.2010.11.024
- [30] J. Hussain, X. Wang, L. Sousa, R. Ali, B. E. Rittmann, and W. Liao, "Using non-metric multi-dimensional scaling analysis and multi-objective optimization to evaluate green algae for production of proteins, carbohydrates, lipids, and simultaneously fix carbon dioxide," *Biomass and Bioenergy*, vol. 141, p. 105711, Oct. 2020, DOI: 10.1016/j.biombioe.2020.105711
- [31] P. Neumann, A. Torres, F. G. Feroso, R. Borja, and D. Jeison, "Anaerobic co-digestion of lipid-spent microalgae with waste activated sludge and glycerol in batch mode," *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, vol. 100, pp. 85-88, May 2015, DOI: 10.1016/j.ibiod.2015.01.020
- [32] D. Rojo, M. Zapata, A. Maureira, R. Guíñez, C. Wulff-Zottele, and M. Rivas, "High-resolution melting analysis for identification of microalgae species," *J. Appl. Phycol.*, vol. 32, no. 6, pp. 3901-3911, Dec. 2020, DOI: 10.1007/s10811-020-02240-y
- [33] M. Cao, F. Zhang, Y. Mao, F. Kong, and D. Wang, "Characterization of the squalene-rich *Botryococcus braunii* Abt02 strain," *J. Oceanol. Limnol.*, vol. 37, no. 2, pp. 675-684, Mar. 2019, DOI: 10.1007/s00343-019-8053-9
- [34] S. K. Wang, F. Wang, A. R. Stiles, C. Guo, and C. Z. Liu, "*Botryococcus braunii* cells: Ultrasound-intensified outdoor cultivation integrated with in situ magnetic separation," *Bioresour. Technol.*, vol. 167, pp. 376-382, 2014, DOI: 10.1016/j.biortech.2014.06.028
- [35] J. Liu, Y. Ge, H. Cheng, L. Wu, and G. Tian, "Aerated swine lagoon wastewater: A promising alternative medium for *Botryococcus braunii* cultivation in open system," *Bioresour. Technol.*, vol. 139, pp. 190-194, 2013, DOI: 10.1016/j.biortech.2013.04.036
- [36] Z. Xu, J. He, S. Qi, and J. Liu, "Nitrogen deprivation-induced de novo transcriptomic profiling of the oleaginous green alga *Botryococcus braunii* 779," *Genomics Data*, vol. 6, pp. 231-233, Dec. 2015, DOI: 10.1016/j.gdata.2015.09.019
- [37] Y. Shen, W. Zhu, C. Chen, and Y. Nie, "Glycine induced culture-harvesting strategy for *Botryococcus braunii*," *J. Biosci. Bioeng.*, vol. 121, no. 4, pp. 424-430, Apr. 2016, DOI: 10.1016/j.jbiosc.2015.08.004
- [38] H. Zheng, Z. Gao, J. Yin, X. Tang, X. Ji, and H. Huang, "Harvesting of microalgae by flocculation with poly (γ -glutamic acid)," *Bioresour. Technol.*, vol. 112, pp. 212-220, 2012, DOI: 10.1016/j.biortech.2012.02.086
- [39] J. Q. Lai, Z. L. Hu, P. W. Wang, and Z. Yang, "Enzymatic production of microalgal biodiesel in ionic liquid [BMIm][PF₆]," *Fuel*, vol. 95, pp. 329-333, 2012, DOI: 10.1016/j.fuel.2011.11.001
- [40] J. G. Qin and Y. Li, "Optimization of the growth environment of *botryococcus braunii* strain chn 357," *J. Freshw. Ecol.*, vol. 21, no. 1, pp. 169-176, 2006, DOI: 10.1080/02705060.2006.9664110
- [41] Y. Li and J. G. Qin, "Comparison of growth and lipid content in three *Botryococcus braunii* strains," *J. Appl. Phycol.*, vol. 17, no. 6, pp. 551-556, 2005, DOI: 10.1007/s10811-005-9005-7
- [42] H. Wang *et al.*, "Microalgal interstrains differences in algal-bacterial biofloc formation during liquid digestate treatment," *Bioresour. Technol.*, vol. 289, p. 121741, Oct. 2019, DOI: 10.1016/j.biortech.2019.121741
- [43] H. Du *et al.*, "Plant growth regulators affect biomass, protein, carotenoid, and lipid production in *Botryococcus braunii*," *Aquac. Int.*, vol. 28, no. 3, pp. 1319-1340, 2020, DOI: 10.1007/s10499-020-00528-x

- [44] C. Peng, S. Li, J. Zheng, S. Huang, and D. Li, "Harvesting Microalgae with Different Sources of Starch-Based Cationic Flocculants," *Appl. Biochem. Biotechnol.*, vol. 181, no. 1, pp. 112-124, Jan. 2017, DOI: 10.1007/s12010-016-2202-9
- [45] J. Hoeniges *et al.*, "Effect of colony formation on light absorption by *Botryococcus braunii*," *Algal Res.*, vol. 50, p. 101985, Sep. 2020, DOI: 10.1016/j.algal.2020.101985
- [46] X. Zhang, F. Wen, Z. Xu, D. Sun, W. Chew, and J. Liu, "De novo transcriptomic analysis of the oleaginous alga *Botryococcus braunii* AC768 (Chlorophyta)," *J. Appl. Phycol.*, vol. 31, no. 1, pp. 255-267, Feb. 2019, DOI: 10.1007/s10811-018-1577-0
- [47] E. Bermejo, Á. Muñoz, A. Ramos-Merchante, C. Vélchez, I. Garbayo, and M. Cuaresma, "Medium optimisation as a first step towards the feasible production of biopolymers with *Botryococcus braunii*," *J. Appl. Phycol.*, vol. 32, no. 6, pp. 3667-3678, Dec. 2020, DOI: 10.1007/s10811-020-02245-7
- [48] P. Singh *et al.*, "Utilization of algal consortium to produce biofuels and byproducts for reducing pollution load," *Pollution*, vol. 6, no. 2, pp. 353-366, 2020, DOI: 10.22059/POLL.2020.292916.714
- [49] V. Ashokkumar, E. Agila, P. Sivakumar, Z. Salam, R. Rengasamy, and F. N. Ani, "Optimization and characterization of biodiesel production from microalgae *Botryococcus* grown at semi-continuous system," *Energy Convers. Manag.*, vol. 88, pp. 936-946, 2014, DOI: 10.1016/j.enconman.2014.09.019
- [50] J. Talukdar, M. C. Kalita, B. C. Goswami, D. D. Hong, and H. C. Das, "Liquid hydrocarbon production potential of a novel strain of the microalga *Botryococcus braunii*: Assessing the reliability of in situ hydrocarbon recovery by wet process solvent extraction," *Energy and Fuels*, vol. 28, no. 6, pp. 3747-3758, 2014, DOI: 10.1021/ef402298r
- [51] V. Ashokkumar, R. Rengasamy, S. Deepalakshmi, A. Sivalingam, and P. Sivakumar, "Mass cultivation of microalgae and extraction of total hydrocarbons: A kinetic and thermodynamic study," *Fuel*, vol. 119, pp. 308-312, 2014, DOI: 10.1016/j.fuel.2013.11.062
- [52] V. Ashokkumar and R. Rengasamy, "Mass culture of *Botryococcus braunii* Kutz. under open raceway pond for biofuel production," *Bioresour. Technol.*, vol. 104, pp. 394-399, 2012, DOI: 10.1016/j.biortech.2011.10.093
- [53] A. Ranga Rao, V. Baskaran, R. Sarada, and G. A. Ravishankar, "In vivo bioavailability and antioxidant activity of carotenoids from microalgal biomass - A repeated dose study," *Food Res. Int.*, vol. 54, no. 1, pp. 711-717, 2013, DOI: 10.1016/j.foodres.2013.07.067
- [54] O. Blifernez-Klassen *et al.*, "Metabolic survey of *Botryococcus braunii*: Impact of the physiological state on product formation," *PLoS One*, vol. 13, no. 6, p. e0198976, Jun. 2018, DOI: 10.1371/journal.pone.0198976
- [55] K. Furuhashi, F. Hasegawa, M. Yamauchi, Y. Kaizu, and K. Imou, "Improving the energy balance of hydrocarbon production using an inclined solid liquid separator with a wedge-wire screen and easy hydrocarbon recovery from *botryococcus braunii*," *Energies*, vol. 13, no. 6, 2020, DOI: 10.3390/en13164139
- [56] R. A. Nugroho, D. J. N. Subagyono, and E. T. Arung, "Isolation and characterization of *Botryococcus braunii* from a freshwater environment in Tenggara, Kutai Kartanegara, Indonesia," *Biodiversitas*, vol. 21, no. 5, pp. 2331-2336, 2020, DOI: 10.13057/biodiv/d210565
- [57] B. A. Jackson, P. A. Bahri, and N. R. Moheimani, "Non-destructive extraction of lipids from *Botryococcus braunii* and its potential to reduce pond area and nutrient costs," *Algal Res.*, vol. 47, p. 101833, May 2020, DOI: 10.1016/j.algal.2020.101833

- [58] M. Wan *et al.*, "High-yield cultivation of *Botryococcus braunii* for biomass and hydrocarbons," *Biomass and Bioenergy*, vol. 131, p. 105399, Dec. 2019, DOI: 10.1016/j.biombioe.2019.105399
- [59] Y. T. Huang *et al.*, "Advances in bioconversion of microalgae with high biomass and lipid productivity," *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.*, vol. 79, pp. 37-42, Oct. 2017, DOI: 10.1016/j.jtice.2017.05.026
- [60] L. Hou, H. Park, S. Okada, and T. Ohama, "Release of single cells from the colonial oil-producing alga *Botryococcus braunii* by chemical treatments," *Protoplasma*, vol. 251, no. 1, pp. 191-199, 2014, DOI: 10.1007/s00709-013-0537-4
- [61] M. Baba, M. Ioki, N. Nakajima, Y. Shiraiwa, and M. M. Watanabe, "Transcriptome analysis of an oil-rich race A strain of *Botryococcus braunii* (BOT-88-2) by de novo assembly of pyrosequencing cDNA reads," *Bioresour. Technol.*, vol. 109, pp. 282-286, 2012, DOI: 10.1016/j.biortech.2011.10.033
- [62] M. Ioki, M. Baba, N. Nakajima, Y. Shiraiwa, and M. M. Watanabe, "Transcriptome analysis of an oil-rich race B strain of *Botryococcus braunii* (BOT-70) by de novo assembly of 5'-end sequences of full-length cDNA clones," *Bioresour. Technol.*, vol. 109, pp. 277-281, 2012, DOI: 10.1016/j.biortech.2011.11.047
- [63] A. Magota, K. Saga, S. Okada, S. Atobe, and K. Imou, "Effect of thermal pretreatments on hydrocarbon recovery from *Botryococcus braunii*," *Bioresour. Technol.*, vol. 123, pp. 195-198, 2012, DOI: 10.1016/j.biortech.2012.07.095
- [64] M. Kawachi, T. Tanoi, M. Demura, K. Kaya, and M. M. Watanabe, "Relationship between hydrocarbons and molecular phylogeny of *Botryococcus braunii*," *Algal Res.*, vol. 1, no. 2, pp. 114-119, 2012, DOI: 10.1016/j.algal.2012.05.003
- [65] R. S. Wijihastuti, N. R. Moheimani, P. A. Bahri, J. J. Cosgrove, and M. M. Watanabe, "Growth and photosynthetic activity of *Botryococcus braunii* biofilms," *J. Appl. Phycol.*, vol. 29, no. 3, pp. 1123-1134, Jun. 2017, DOI: 10.1007/s10811-016-1032-z
- [66] H. Kawashima and M. Kijima, "Selective Synthesis of Botryococcene Pentaepoxide - The Chemical Modifications of the Algal Biomass Oil," *Chemistry Select*, vol. 3, no. 33, pp. 9589-9591, Sep. 2018, DOI: 10.1002/slct.201801823
- [67] M. Demura, M. Ioki, M. Kawachi, N. Nakajima, and M. M. Watanabe, "Desiccation tolerance of *Botryococcus braunii* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) and extreme temperature tolerance of dehydrated cells," *J. Appl. Phycol.*, vol. 26, no. 1, pp. 49-53, 2014, DOI: 10.1007/s10811-013-0059-7
- [68] R. Niitsu *et al.*, "Changes in the hydrocarbon-synthesizing activity during growth of *Botryococcus braunii* B70," *Bioresour. Technol.*, vol. 109, pp. 297-299, 2012, DOI: 10.1016/j.biortech.2011.08.072
- [69] M. Baba, F. Kikuta, I. Suzuki, M. M. Watanabe, and Y. Shiraiwa, "Wavelength specificity of growth, photosynthesis, and hydrocarbon production in the oil-producing green alga *Botryococcus braunii*," *Bioresour. Technol.*, vol. 109, pp. 266-270, 2012, DOI: 10.1016/j.biortech.2011.05.059
- [70] S. Ravi *et al.*, "Influence of different culture conditions on yield of biomass and value added products in microalgae," *Dyn. Biochem. Process Biotechnol. Mol. Biol.*, vol. 6, no. 2, pp. 77-85, 2012.
- [71] M. Hashizume, M. Yoshida, M. Demura, and M. M. Watanabe, "Culture study on utilization of phosphite by green microalgae," *J. Appl. Phycol.*, vol. 32, no. 2, pp. 889-899, Apr. 2020, DOI: 10.1007/s10811-020-02088-2
- [72] H. Uchida *et al.*, "Isolation and Characterization of Two Squalene Epoxidase Genes from

- Botryococcus braunii*, Race B,” *PLoS One*, vol. 10, no. 4, p. e0122649, Apr. 2015, DOI: 10.1371/journal.pone.0122649
- [73] D. H. Lee, C. Y. Bae, J. I. Han, and J. K. Park, “Quantitative estimation of the lipid productivity of single algae cells in alginate hydrogel microbeads,” *2013 Transducers Eurosensors XXVII 17th Int. Conf. Solid-State Sensors, Actuators Microsystems, TRANSDUCERS EUROSENSORS 2013*, no. June, pp. 1519-1522, 2013, DOI: 10.1109/Transducers.2013.6627070
- [74] H.-J. Choi and S.-W. Yu, “Influence of crude glycerol on the biomass and lipid content of microalgae,” *Biotechnol. Biotechnol. Equip.*, vol. 29, no. 3, pp. 506-513, May 2015, DOI: 10.1080/13102818.2015.1013988
- [75] G. H. Gim *et al.*, “Comparison of biomass production and total lipid content of freshwater green microalgae cultivated under various culture conditions,” *Bioprocess Biosyst. Eng.*, vol. 37, no. 2, pp. 99-106, 2014, DOI: 10.1007/s00449-013-0920-8
- [76] J. C. Lee, J. K. Jang, and H. W. Kim, “Sulfonamide degradation and metabolite characterization in submerged membrane photobioreactors for livestock excreta treatment,” *Chemosphere*, vol. 261, p. 127604, Dec. 2020, DOI: 10.1016/j.chemosphere.2020.127604
- [77] B. H. Kim *et al.*, “Simple, rapid and cost-effective method for high quality nucleic acids extraction from different strains of *Botryococcus braunii*,” *PLoS One*, vol. 7, no. 5, pp. 1-9, 2012, DOI: 10.1371/journal.pone.0037770
- [78] B. Moutel *et al.*, “Development of a screening procedure for the characterization of *Botryococcus braunii* strains for biofuel application,” *Process Biochem.*, vol. 51, no. 11, pp. 1855-1865, Nov. 2016, DOI: 10.1016/j.procbio.2016.05.002
- [79] E. Yildiz-Ozturk, E. Ilhan-Ayisigi, A. Togtema, J. Gouveia, and O. Yesil-Celiktas, “Effects of hydrostatic pressure and supercritical carbon dioxide on the viability of *Botryococcus braunii* algae cells,” *Bioresour. Technol.*, vol. 256, pp. 328-332, May 2018, DOI: 10.1016/j.biortech.2018.02.041
- [80] C. Sambles *et al.*, “Metagenomic analysis of the complex microbial consortium associated with cultures of the oil-rich alga *Botryococcus braunii*,” *Microbiologyopen*, vol. 6, no. 4, Aug. 2017, DOI: 10.1002/mbo3.482
- [81] K. Ekinici, I. Erdal, Ö. Uysal, F. Ö. Uysal, H. Tunce, and A. Doğan, “Anaerobic Digestion of Three Microalgae Biomasses and Assessment of Digestates as Biofertilizer for Plant Growth,” *Environ. Prog. Sustain. Energy*, vol. 38, no. 3, p. e13024, May 2019, DOI: 10.1002/ep.13024
- [82] J. L. Bicas, D. M. M. Kleinegris, and M. J. Barbosa, “Use of methylene blue uptake for assessing cell viability of colony-forming microalgae,” *Algal Res.*, vol. 8, pp. 174-180, Mar. 2015, DOI: 10.1016/j.algal.2015.02.004
- [83] S. Ruangsomboon, J. Dimak, B. Jongput, I. Wiwatanaratanabutr, and P. Kanyawongha, “Outdoor open pond batch production of green microalga *Botryococcus braunii* for high hydrocarbon production: enhanced production with salinity,” *Sci. Rep.*, vol. 10, no. 1, pp. 1-12, 2020, DOI: 10.1038/s41598-020-59645-5
- [84] T. Thurakit, C. Pumas, W. Pathom-Aree, J. Pekkoh, and Y. Peerapornpisal, “Enhancement of biomass, lipid and hydrocarbon production from green microalga, *botryococcus braunii* AARL G037, by UV-C induction,” *Chiang Mai J. Sci.*, vol. 45, no. 7, pp. 2637-2651, 2018.
- [85] S. Ruangsomboon, P. Sornchai, and N. Prachom, “Enhanced hydrocarbon production and improved biodiesel qualities of *Botryococcus braunii* KMITL 5 by vitamins thiamine, biotin and cobalamin supplementation,” *Algal Res.*, vol. 29, pp. 159-169, Jan. 2018, DOI: 10.1016/j.algal.2017.11.028

- [86] C. Yeesang and B. Cheirsilp, "Low-cost production of green microalga *Botryococcus braunii* biomass with high lipid content through mixotrophic and photoautotrophic cultivation," *Appl. Biochem. Biotechnol.*, vol. 174, no. 1, pp. 116-129, Sep. 2014, DOI: 10.1007/s12010-014-1041-9
- [87] S. Boonma, P. Vacharapiyasophon, Y. Peerapornpisal, J. Pekkoh, and C. Pumas, "Isolation and cultivation of *Botryococcus braunii* Kützing from Northern Thailand," *Chiang Mai J. Sci.*, vol. 41, no. 2, pp. 298-306, 2014.
- [88] L. M. Serrano-Bermúdez, L. C. Montenegro-Ruíz, and R. D. Godoy-Silva, "Effect of CO₂, aeration, irradiance, and photoperiod on biomass and lipid accumulation in a microalga autotrophically cultured and selected from four Colombian-native strains," *Biore-sour. Technol. Reports*, vol. 12, p. 100578, Dec. 2020, DOI: 10.1016/j.biteb.2020.100578
- [89] H. J. Chun *et al.*, "Raman spectra and DFT calculations for tetraterpene hydrocarbons from the L race of the green microalga *Botryococcus braunii*," *J. Mol. Struct.*, vol. 1129, pp. 216-221, 2017, DOI: 10.1016/j.molstruc.2016.09.081
- [90] A. Vonshak, "Recent advances in microalgal biotechnology," *Biotechnol. Adv.*, vol. 8, no. 4, pp. 709-727, 1990, DOI: 10.1016/0734-9750(90)91993-Q
- [91] H. H. Senousy, G. W. Beakes, and E. Hack, "Phylogenetic placement of *Botryococcus braunii* (Trebouxiophyceae) and *Botryococcus sudeticus* isolate UTEX 2629 (Chlorophyceae)," *J. Phycol.*, vol. 40, no. 2, pp. 412-423, 2004, DOI: 10.1046/j.1529-8817.2004.03173.x
- [92] S. M. Navarro Gallón *et al.*, "Characterization and study of the antibacterial mechanisms of silver nanoparticles prepared with microalgal exopolysaccharides," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 99, pp. 685-695, Jun. 2019, DOI: 10.1016/j.msec.2019.01.134
- [93] D. G. Lee, D. J. Choi, and J. K. Park, "Ketoisomeric conversion of glucose derived from microalgal biomasses," *Process Biochem.*, vol. 50, no. 6, pp. 941-947, Jun. 2015, DOI: 10.1016/j.procbio.2015.03.011
- [94] J. C. Servaites, J. L. Faeth, and S. S. Sidhu, "A dye binding method for measurement of total protein in microalgae," *Anal. Biochem.*, vol. 421, no. 1, pp. 75-80, 2012, DOI: 10.1016/j.ab.2011.10.047
- [95] R. E. Summons, P. Metzger, C. Largeau, A. P. Murray, and J. M. Hope, "Polymethylsqualanes from *Botryococcus braunii* in lacustrine sediments and crude oils," *Org. Geochem.*, vol. 33, no. 2, pp. 99-109, 2002, DOI: 10.1016/S0146-6380(01)00147-4
- [96] S. Pinzi *et al.*, "Latest trends in feedstocks for biodiesel production," *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, vol. 8, no. 1, pp. 126-143, 2013, DOI: 10.1002/bbb.1435
- [97] R. H. Wijffels and M. J. Barbosa, "Perspective. An Outlook on Microalgal Biofuels," *Sci. V*, vol. Vol. 329, no. August, pp. 796-799, 2010.
- [98] B. Jackson, P. A. Bahri, and N. R. Moheimani, "Response of *Botryococcus braunii* to repetitive non-destructive extraction of lipids with heptane." no. October, 2018.
- [99] A. Demirbas, "Progress and recent trends in biodiesel fuels," *Energy Convers. Manag.*, vol. 50, no. 1, pp. 14-34, Jan. 2009, DOI: 10.1016/j.enconman.2008.09.001
- [100] B. Abdullah *et al.*, "Fourth generation biofuel: A review on risks and mitigation strategies," *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 107. Elsevier Ltd, pp. 37-50, Jun. 01, 2019, DOI: 10.1016/j.rser.2019.02.018
- [101] P. K. Thomas *et al.*, "A natural algal polyculture outperforms an assembled polyculture in wastewater-based open pond biofuel production," *Algal Res.*, vol. 40, no. March, p. 101488, 2019, DOI: 10.1016/j.algal.2019.101488

- [102] Y. Chisti, "Biodiesel from microalgae beats bioethanol," *Trends Biotechnol.*, vol. 26, no. 3, pp. 126-131, 2008, DOI: 10.1016/j.tibtech.2007.12.002.
- [103] J. D. Gouveia *et al.*, "*Botryococcus braunii* strains compared for biomass productivity, hydrocarbon and carbohydrate content," *J. Biotechnol.*, vol. 248, pp. 77-86, 2017, DOI: 10.1016/j.jbiotec.2017.03.008
- [104] C. Largeau, E. Casadevall, C. Berkaloff, and P. Dhamelincourt, "Sites of accumulation and composition of hydrocarbons in *Botryococcus braunii*," *Phytochemistry*, vol. 19, no. 6, pp. 1043-1051, Jan. 1980, DOI: 10.1016/0031-9422(80)83054-8
- [105] T. Manchanda, R. Tyagi, and D. K. Sharma, "Application of nutrient stress conditions for hydrocarbon and oil production by *Botryococcus braunii*," *Biofuels*, vol. 10, no. 3, pp. 271-277, 2019, DOI: 10.1080/17597269.2015.1132373
- [106] Y. Dote, S. Sawayama, S. Inoue, T. Minowa, and S. ya Yokoyama, "Recovery of liquid fuel from hydrocarbon-rich microalgae by thermochemical liquefaction," *Fuel*, vol. 73, no. 12, pp. 1855-1857, Dec. 1994, DOI: 10.1016/0016-2361(94)90211-9
- [107] S. S. Khichi, D. Dohare, S. Rohith, S. Sachin, and S. Ghosh, "Specific uptake kinetics of glucose and nitrate in carbon-limited and nitrogen-limited C:N ratio under photo-heterotrophic cultural conditions for *Botryococcus braunii* growth and lipid production," *Bioresour. Technol. Reports*, vol. 8, p. 100337, Dec. 2019, DOI: 10.1016/j.biteb.2019.100337
- [108] F. M. Lupi, H. M. L. Fernandes, I. Sá-Correia, and J. M. Novais, "Temperature profiles of cellular growth and exopolysaccharide synthesis by *Botryococcus braunii* Kütz. UC 58," *J. Appl. Phycol.*, vol. 3, no. 1, pp. 35-42, 1991, DOI: 10.1007/BF00003917
- [109] S. Ruangsomboon, "Effect of light, nutrient, cultivation time and salinity on lipid production of newly isolated strain of the green microalga, *Botryococcus braunii* KMITL 2," *Bioresour. Technol.*, vol. 109, pp. 261-265, 2012, DOI: 10.1016/j.biortech.2011.07.025
- [110] T. L. Weiss *et al.*, "Colony organization in the green alga *Botryococcus braunii* (Race B) is specified by a complex extracellular matrix," *Eukaryot. Cell*, vol. 11, no. 12, pp. 1424-1440, 2012, DOI: 10.1128/EC.00184-12
- [111] S. Yang, J. Wang, W. Cong, Z. Cai, and F. Ouyang, "Utilization of nitrite as a nitrogen source by *Botryococcus braunii*," *Biotechnol. Lett.*, vol. 26, no. 3, pp. 239-243, 2004, DOI: 10.1023/B:BILE.0000013722.45527.18.
- [112] V. Cepák and J. Lukavský, "The Effect of High Irradiances on Growth, Biosynthetic Activities and the Ultrastructure of the Green Alga *Botryococcus braunii* Strain Droop 1950/807-1," *Algological Studies*. vol. 72, pp. 115-131.
- [113] X. Miao and Q. Wu, "Biodiesel production from heterotrophic microalgal oil," *Bioresour. Technol.*, vol. 97, no. 6, pp. 841-846, Apr. 2006, DOI: 10.1016/j.biortech.2005.04.008
- [114] H. L. Fernandes, M. M. Tomé, F. M. Lupi, A. M. Fialho, I. Sá-Correia, and J. M. Novais, "Biosynthesis of high concentrations of an exopolysaccharide during the cultivation of the microalga *Botryococcus braunii*," *Biotechnol. Lett.*, vol. 11, no. 6, pp. 433-436, 1989, DOI: 10.1007/BF01089478.
- [115] K. C. Díaz Bayona and L. A. Garcés, "Effect of different media on exopolysaccharide and biomass production by the green microalga *Botryococcus braunii*," *J. Appl. Phycol.*, vol. 26, no. 5, pp. 2087-2095, 2014, DOI: 10.1007/s10811-014-0242-5.
- [116] S. Arad *et al.*, "Superior biolubricant from a species of red microalga," *Langmuir*, vol. 22, no. 17, pp. 7313-7317, 2006, DOI: 10.1021/la060600x
- [117] T. P. Anunciato and P. A. da Rocha Filho, "Carotenoids and polyphenols in

nutricosmetics, nutraceuticals, and cosmeceuticals,” *J. Cosmet. Dermatol.*, vol. 11, no. 1, pp. 51-54, 2012, DOI: 10.1111/j.1473-2165.2011.00600.x.

[118] F. M. Lupi, H. M. L. Fernandes, M. M. Tomé, I. Sá-Correia, and J. M. Novais, “Influence

of nitrogen source and photoperiod on exopolysaccharide synthesis by the microalga *Botryococcus braunii* UC 58,” *Enzyme Microb. Technol.*, vol. 16, no. 7, pp. 546-550, Jul. 1994, DOI: 10.1016/0141-0229(94)90116-3