

REVISIÓN

Biotratamiento de efluentes secundarios municipales utilizando microalgas: Efecto del pH, nutrientes (C, N y P) y enriquecimiento con CO₂

Biotreatment of secondary municipal effluents using microalgae: Effect of pH, nutrients (C, N and P) and CO₂ enrichment

Julio C. Beltrán-Rocha¹, Claudio Guajardo-Barbosa¹, Icela D. Barceló-Quintal² y Ulrico J. López-Chuken^{1*}

¹Centro de Investigación en Biotecnología y Nanotoxicología, Universidad Autónoma de Nuevo León, Pedro de Alba S/N, Ciudad Universitaria, 66451, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México. *ulrico.lopezch@uanl.mx

²Departamento de Ciencias Básicas, Universidad Autónoma Metropolitana-Azcapotzalco, Av. San Pablo Xalpa 180, Reynosa Tamaulipas, 02200, Azcapotzalco, CDMX, México

Abstract. This review discusses microalgae assimilation of C, N and P as affected by pH-dependent factors (solubility, ionization state and bioavailability) and CO₂ enrichment in tertiary water treatment during microalgae biomass production. This study indicates the importance of monitoring critical conditions such as: 1) pH and inorganic carbon species interaction; 2) P bioavailability; 3) nitrogen removal through NH₃ volatilization and 4) NH₃ toxicity. Also, optimal CO₂ enriched air considerations, such as: 1) combining intermittent and variable CO₂ enrichment to avoid losses into the atmosphere; 2) preventing microalgae growth inhibition due to H₂CO₃ formation and pH acidification at early stages of the culture and 3) maintenance of optimal pH (\approx 8.5) through the buffer system (CO₂ / HCO₃⁻). Finally, we suggest that biological technologies based on microalgae culture to remove excessive nutrient loads and compliance with environmental laws from water, represent a viable alternative attached to recycling and revaluation of resources through the generation and potential uses of biomass (*e.g.*, fertilizer, pigments and antioxidants).

Key words: Microalgae, MWTP effluents, nutrient recycling, tertiary wastewater treatment

Resumen. Esta revisión analiza la asimilación de C, N y P por microalgas y la influencia de los factores dependientes del pH (solubilidad, estado de ionización y biodisponibilidad), así como la adición de CO₂ y su interacción en el tratamiento terciario de aguas municipales durante la producción de biomasa de microalgas. Este estudio destaca la importancia de monitorizar condiciones críticas como: 1) la interacción entre el pH y las especies de carbono inorgánico; 2) la biodisponibilidad de P; 3) reducción de N por formación de NH₃ y 4) toxicidad de NH₃. Por otra parte, para el uso óptimo de aire enriquecido con CO₂ se recomienda considerar: 1) el suministro intermitente y variable de CO₂ para evitar pérdidas a la atmósfera; 2) optimizar el consumo de CO₂ evitando la acidificación del pH por formación de H₂CO₃ e inhibición de las microalgas en etapas tempranas de cultivo; y 3) conservación de pH óptimo (\approx 8,5) a través del sistema de amortiguamiento CO₂ / HCO₃⁻. Finalmente, se sugiere que las tecnologías biológicas basadas en el cultivo de microalgas para la eliminación de nutrientes y cumplimiento de normativas ambientales, representan una alternativa viable, que une el reciclaje y revalorización de recursos a través de la generación y usos potenciales de la biomasa (*e.g.*, fertilizantes, pigmentos y antioxidantes).

Palabras clave: Microalgas, efluentes PTAR, reciclaje de nutrientes, tratamiento terciario de efluentes

INTRODUCCIÓN

La eutrofización es una problemática ambiental a escala mundial ocasionada por la contaminación por nutrientes (N y P) y con la consecuente degradación de la calidad del agua, estructura del ecosistema y función de los sistemas acuáticos (Matlock *et al.* 1998, Sharpley *et al.* 2002, Dodds *et al.* 2009). Como medida de mitigación, la remoción de nutrientes debe realizarse previamente a la descarga de aguas residuales en los medios acuáticos (Rasoul-Amini *et al.* 2014, Morris *et al.* 2017). No

obstante, una de las principales fuentes responsable de la eutrofización son los efluentes secundarios municipales de las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR) que contienen remanentes de nutrientes inorgánicos (NO₂⁻, NO₃⁻, NH₄⁺ y PO₄³⁻) (Kuzawa *et al.* 2006, Ruiz-Marin *et al.* 2010, Rasoul-Amini *et al.* 2014).

Como alternativa al tratamiento de los efluentes secundarios municipales se ha estudiado el cultivo de microalgas, que se ha

destacado por su alta capacidad de eliminación de nutrientes (Wang *et al.* 2010, Pittman *et al.* 2011, Boonchai *et al.* 2012, Cabanelas *et al.* 2013, Cai *et al.* 2013), que en comparación a los procesos de tratamiento terciario físico y químico, representa un complemento ecológicamente más seguro, con menor costo, que incorpora los beneficios de recuperación y reciclaje de recursos (Graham *et al.* 2009, Gouveia *et al.* 2016, Umamaheswari & Shanthakumar 2016, Guldhe *et al.* 2017). La biomasa de microalgas generada durante el tratamiento podría ser revalorizada para su uso potencial como fertilizante, mejorador de suelos, alimento para animales o materia prima de la cual se pueden extraer productos de alto valor como: pigmentos, antioxidantes, compuestos bioactivos y ácidos grasos (Mulbry & Wilkie 2001, Wilkie & Mulbry 2002, Roeselers *et al.* 2008, Mata *et al.* 2010, Koller *et al.* 2014, Yangüez *et al.* 2015, Renuka *et al.* 2016).

Por otra parte, el tratamiento óptimo de efluentes secundarios municipales basado en la aplicación de microalgas podría ser sustentable y económicamente rentable, siempre que se cumplan condiciones como: 1) sistemas y estrategias de cultivo viables (De la Noüe *et al.* 1992, Park *et al.* 2011, Hernández-Pérez & Labbé 2014); 2) separación de biomasa a bajo costo (etapa que representa del 20-30% del precio total en sistemas de producción) (De la Noüe *et al.* 1992, Uduman *et al.* 2010, Park *et al.* 2011); 3) conocimiento y control de factores limitantes como los ambientales (luz y temperatura), biológicos (concentración inicial de inóculo, contaminación por hongos y bacterias) y operacionales (pH, CO₂ y nutrientes) (De la Noüe *et al.* 1992, Lau *et al.* 1995, Park *et al.* 2011, Umamaheswari & Shanthakumar 2016). Es primordial que previo al uso de un cultivo de microalgas para estos fines, se seleccionen especies nativas adaptadas al clima regional que cumplan de manera productiva la eliminación de nutrientes con la consecuente generación de biomasa. Además, una correcta selección de microalgas representa una alternativa potencial para la cosecha no tóxica y a bajo costo, si se considera el uso de especies autofloculantes que se caracterizan por formar aglomerados celulares que sedimentan de manera natural (Brennan & Owende 2010, Mata *et al.* 2010, Salim *et al.* 2012, Razzak *et al.* 2013).

A la par de las limitaciones de las microalgas, resulta esencial tomar en cuenta que la remoción de nitrógeno y fósforo no solamente es regulada por la absorción de las células, sino que también es complementada por el pH que influye en la disponibilidad de nutrientes, a través de la mediación de formas inorgánicas de nitrógeno, volatilización de amoníaco y precipitación de fósforo (Laliberté *et al.* 1997, Markou & Georgakakis 2011, Cai *et al.* 2013, Umamaheswari &

Shanthakumar 2016). Además, se debe estudiar el uso óptimo e interacción química de la adición de CO₂ que derive en el aumento de la asimilación de nutrientes y producción de biomasa de microalgas al suplir la deficiencia de carbono inorgánico en el agua de descarga (*e.g.*, efluentes municipales) (Wijffels 2008, Park & Craggs 2010, Park *et al.* 2011). En particular, este artículo de revisión se enfoca en algunos puntos críticos de la interacción química (pH y nutrientes) y la adición de CO₂ para potenciar la asimilación de nutrientes (generación de biomasa). Otras variables asociadas al cultivo de microalgas (*e.g.*, luz, temperatura, selección de especies, concentración de inóculo y efecto del mezclado) pueden ser encontradas en revisiones más extensas (Sutherland *et al.* 2015a, Razzak *et al.* 2017, Yadav & Sen 2017).

ASIMILACIÓN DE NUTRIENTES POR MICROALGAS EN EL TRATAMIENTO TERCIARIO

Entre las etapas del tratamiento preliminar, primario y secundario en aguas residuales municipales, los efluentes secundarios se consideran el medio más adecuado para el cultivo de microalgas debido a su menor concentración en metales pesados, carbono orgánico y competencia por los nutrientes con la carga bacteriana (Guldhe *et al.* 2017). De igual forma, los efluentes secundarios municipales PTAR cuentan con la composición y requerimientos nutricionales que permiten el desarrollo de microalgas (Tabla 1), las cuales al consumir carbono, nitrógeno, fósforo como nutrientes esenciales y otros componentes iónicos como potasio, sodio, hierro, calcio y magnesio, dan origen al tratamiento terciario y a la producción de biomasa de microalgas (Pittman *et al.* 2011, Cabanelas *et al.* 2013, Umamaheswari & Shanthakumar 2016).

El mecanismo de asimilación de C, N y P con microalgas para el tratamiento terciario se presenta en la Figura 1. Durante la fotosíntesis las microalgas asimilan carbono inorgánico en la forma de CO₂ que es proveniente de los carbonatos solubles (HCO₃⁻) del medio acuoso, del CO₂ atmosférico y del generado por la industria (Wang *et al.* 2008). Cabe destacar, que la mayoría de las microalgas son organismos con metabolismo fotoautótrofo, es decir, crecen utilizando luz solar o artificial y nutrientes inorgánicos sin asimilar sustratos orgánicos (Chojnacka & Marquez-Rocha 2004, Chen *et al.* 2011). No obstante, en la ausencia de nutrientes inorgánicos y luz, las microalgas pueden llevar a cabo el metabolismo heterótrofo, el cual se caracteriza por consumir solo compuestos orgánicos como fuente de carbono (*e.g.*, acetato, glucosa, glicerol u otros compuestos de carbono orgánico) y energía (Bassi *et al.* 2014, Cuellar-Bermudez *et al.* 2014).

Tabla 1. Características de efluentes secundarios municipales según diferentes autores / Characteristics of municipal secondary effluent from different sources

pH	CE	DQO	CI	COT	NO ₂ ⁻ -N	NO ₃ ⁻ -N	NH ₄ ⁺ -N	NT	PO ₄ ³⁻ -P	PT	Referencia
7,2 - 7,8		45,0 - 60,0					3,8 - 7,6	12,5 - 23,8		0,8 - 1,7	He & Xue 2010
		42,2 ± 1,9			0,07 ± 0,00	17,0 ± 0,1		19,1 ± 0,1		0,3 ± 0,0	Wang <i>et al.</i> 2010
7,7 ± 0,2		24,0 ± 1,0					2,5 ± 0,0	15,5 ± 1,1		0,5 ± 0,0	Xin <i>et al.</i> 2010
		11,2 ± 3,3				6,6 ± 4,0	10,0 ± 7,1	18,9 ± 4,1		1,7 ± 0,3	Cho <i>et al.</i> 2011
6,8 - 7,5		39,3 - 78,3			0,89 - 2,64	12,1 - 18,4	2,2 - 6,3	17,1 - 29,0			Xion <i>et al.</i> 2011
		24,0 ± 1,0					0,5 ± 0,0	7,0 ± 1,1		0,5 ± 0,0	Yang <i>et al.</i> 2011
		22,1 ± 1,2					2,5 ± 0,0	15,5 ± 1,2		0,1 ± 0,0	Yang <i>et al.</i> 2011
		24,5 ± 2,3					3,7 ± 0,1	16,7 ± 0,8		0,1 ± 0,0	Yang <i>et al.</i> 2011
7,3	59		14,6 ± 0,1	8,1 ± 0,2		8,5 ± 0,4	0,4 ± 0,1	8,7 ± 0,5	1,7 ± 0,4	1,7 ± 0,3	Ji <i>et al.</i> 2013
7,3 ± 0,8					0,40 ± 0,40	10,3 ± 7,0	7,6 ± 6,0	20,0 ± 5,4	1,4 ± 0,6	2,0 ± 0,5	Abe <i>et al.</i> 2014
7,7			4,4					13		2,0	Abou-Shanab <i>et al.</i> 2014
7,9		47,0		10,1	0,01	11,5		15,6		1,5	Chelba <i>et al.</i> 2014
6,5 - 8,0		40,0 - 60,0					9,0 - 19,0	15,0 - 26,0		0,6 - 1,6	Wang <i>et al.</i> 2014
7,2 ± 0,0	133 ± 0			18,3 ± 0,2	0,03 ± 0,00	13,4 ± 0,1	0,2 ± 0,0	17,3 ± 0,8	2,3 ± 0,0		Beltrán-Rocha <i>et al.</i> 2017
Al ³⁺	B ³⁺	Ca ²⁺	Cu ²⁺	Fe ²⁺ /Fe ³⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Mn ²⁺	Na ⁺	Zn ²⁺	Referencia	
0,03 ± 0,00	0,28 ± 0,01	67,45 ± 3,46	0,01 ± 0,00	0,05 ± 0,00	16,16 ± 0,81	20,24 ± 0,99	0,01 ± 0,00	164,40 ± 7,57	0,06 ± 0,01	Wang <i>et al.</i> 2010	
< 0,02		31,40 ± 0,50	< 0,01	< 0,01	10,80 ± 0,20	4,60 ± 0,10	< 0,09	22,70 ± 0,90		Ji <i>et al.</i> 2013	
									0,03 ± 0,02	Abe <i>et al.</i> 2014	
0,02	0,20	31,00	0,01	0,40	11,00	4,00	0,10	23,00	0,04	Abou-Shanab <i>et al.</i> 2014	
		104,46 ± 0,61		4,53 ± 0,00	32,46 ± 0,09	21,01 ± 0,03		330,43 ± 0,73		Beltrán-Rocha 2014	
			0,10	0,29						Chelba <i>et al.</i> 2014	

Nota: datos tomados de estudios que evaluaron muestras de PTAR. CE= conductividad eléctrica; DQO= demanda química de oxígeno; CI= carbono inorgánico; COT= carbono orgánico total; NO₂⁻-N= nitrógeno de nitritos; NO₃⁻-N= nitrógeno de nitratos; NH₄⁺-N= nitrógeno de amonio; NT= nitrógeno total; PO₄³⁻-P= fósforo de fosfatos; PT= fósforo total. Todos los valores están expresados en mg L⁻¹, excepto pH (unidades) y CE (mS m⁻¹)

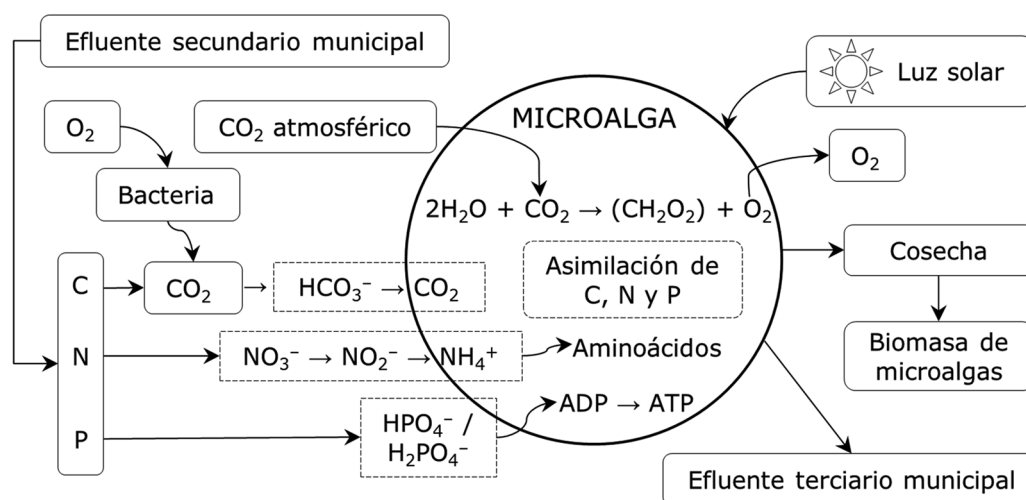


Figura 1. Mecanismo de asimilación de C, N y P en el tratamiento terciario de efluentes municipales (Adaptado de Abinandan & Shanthakumar 2015) / Assimilation mechanism of C, N and P in the tertiary treatment of municipal effluent (Adapted from Abinandan & Shanthakumar 2015)

Tabla 2. Funciones generales de algunos micronutrientes presentes en efluentes secundarios PTAR / Some general functions of micronutrients present in secondary effluents from municipal treatment plants

Micronutrientes metálicos	Función	Rango de concentración adecuado
K	Participa en la síntesis de proteínas y la regulación osmótica	0,1 - 100 mg L ⁻¹
Mg	Forma parte del pigmento clorofila, el cual participa en la fotosíntesis	0,1 - 100 mg L ⁻¹
Ca, Na	Mantienen la estructura celular y su actividad	0,1 - 100 mg L ⁻¹
Fe	Actúa como un catalizador redox en la fotosíntesis y la asimilación de nitrógeno	0,01 - 10 mg L ⁻¹
Zn, Mn	Actúan como activadores de coenzimas	0,01 - 10 mg L ⁻¹

Adaptado de Masojidek *et al.* (2004), Zeng *et al.* (2011), Sydney *et al.* (2014), Pires (2015)

Por otra parte, la absorción de N en las microalgas inicia en la membrana plasmática con la reducción de NO_3^- a NO_2^- donde una fracción producida de NO_2^- se libera al medio acuoso y otra fracción de NO_2^- se reduce en el cloroplasto formando NH_4^+ que posteriormente se integra en la formación de aminoácidos (Burhenne & Tischner 2000, Wang *et al.* 2010, Umamaheswari & Shanthakumar 2016).

Durante el metabolismo, el PO_4^{3-} es asimilado de las formas H_2PO_4^- y HPO_4^- e incorporado dentro de compuestos orgánicos a través del proceso de fosforilación, en la cual gran parte del PO_4^{3-} es captado para la generación de adenosin trifosfato (ATP) a partir de adenosin difosfato (ADP), obteniendo así el suministro de energía celular (Martinez *et al.* 1999, Cai *et al.* 2013).

Paralelamente, la capacidad de bio-acumulación de las microalgas durante el tratamiento terciario promueve la eliminación de micronutrientes metálicos derivados de: Na, K, Mg, Ca, Mo, Fe, Ni, Cu, Zn, Co, B, Mn, Cl y otros elementos traza (Markou & Georgakakis 2011, Cai *et al.* 2013). Desde un punto de vista nutricional, la capacidad de bio-acumular y reducir las concentraciones de algunos micronutrientes (*e.g.*, Na, K, Mg, Ca, Fe, Mn y Zn) presentes en los efluentes secundarios PTAR (Tabla 1) para el cultivo de microalgas, es debido a que son necesarios en las funciones celulares (Tabla 2). Por otro lado, si se presentara una deficiencia de micronutrientes metálicos el efecto general se reflejaría en la composición de la biomasa, encontrando una disminución en la concentración de proteínas y pigmentos fotosintéticos (*e.g.*, clorofila) mientras se presenta un aumento de carbohidratos y

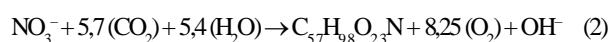
lípidos (Rinanti 2016). La bio-acumulación en las microalgas presenta diversas eficiencias dada la amplia gama de formas, tamaños y composición de la pared celular, siendo esta última la responsable principal en la unión de metales. Sin embargo, su absorción e interacción metabólica no se comprenden en totalidad (Wang *et al.* 2010, Cai *et al.* 2013), postulándose dos posibles mecanismos en la eliminación de iones metálicos: 1) asimilación para la síntesis de vitaminas, proteínas y enzimas y la activación de enzimas o coenzimas; 2) unión a polisacáridos extracelulares e intracelulares o productos bioquímicos que se ligan a los iones metálicos para su absorción celular (Zeng *et al.* 2015).

EFEECTO E INTERACCIÓN DEL pH EN LA ASIMILACIÓN DE NUTRIENTES (C, N Y P) CON MICROALGAS

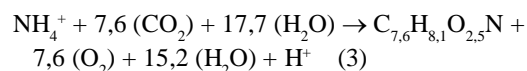
Una característica relevante durante la captación de nutrientes y fijación fotosintética de CO₂ en el cultivo de microalgas, es que el proceso tiende a inducir un aumento en el pH del medio (Franchino *et al.* 2013), donde a valores alcalinos se ha indicado la mayor actividad fotosintética (Andrade & Costa 2007). Por ejemplo, frecuentemente se han reportado valores que exceden de pH 11, durante el crecimiento de microalgas en sistemas de lagunaje de alta carga (LAC) (Craggs 2005, Heubeck *et al.* 2007, Park & Craggs 2010). El considerable incremento de pH, se explica en gran parte al consumo de iones HCO₃⁻ cuya disociación a CO₂ proporcionan el carbono necesario para el crecimiento de las microalgas, a la par de propiciar la acumulación de OH⁻ que ocasiona un aumento gradual del pH dada la siguiente reacción (Martinez *et al.* 2000):



Además del aumento de pH por consumo de CO₂, la absorción de 1 mol de NO₃⁻ por microalgas produce 1 mol de OH⁻, según la siguiente reacción (Song *et al.* 2011, Rashid *et al.* 2014):



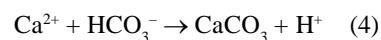
El NO₃⁻ se presenta como la forma más oxidada y con mayor estabilidad termodinámica en sistemas acuosos oxigenados (*e.g.*, efluentes secundarios PTAR), siendo por lo tanto la de mayor predominancia y fuente principal de N (Barsanti & Gualtieri 2006). No obstante, se debe considerar que entre las formas de nitrógeno inorgánico NH₄⁺, NO₂⁻ y NO₃⁻ las microalgas prefieren utilizar NH₄⁺ como fuente de N debido a que su asimilación tiene un menor costo energético al no requerir una reacción redox (Fernández *et al.* 2009). Sin embargo, la asimilación de NH₄⁺ produce H⁺, en la cual, 1 mol de NH₄⁺ genera 1 mol de H⁺ a raíz de la siguiente reacción (Barsanti & Gualtieri 2006):



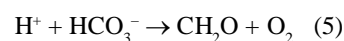
Donde la alta absorción de NH₄⁺ disminuye el pH del medio (< 6,0), condición ácida que inhibe el desarrollo de las microalgas. Por lo tanto, debido a los cambios de pH durante el consumo de NH₄⁺ o NO₃⁻ en el cultivo de microalgas, se deberá evaluar el requerimiento del ajuste de pH dependiendo de que se utilicen medios nutritivos o agua bajo tratamiento (Martinez *et al.* 2000, Kumar *et al.* 2010, Makareviciene *et al.* 2013).

Por otra parte, el pH mantiene influencia sobre una gran cantidad de procesos bioquímicos asociados al crecimiento y el metabolismo de las microalgas, incluyendo la ionización de metabolitos bioquímicos, solubilidad, además de la biodisponibilidad de CO₂ y nutrientes (García *et al.* 2000, Craggs 2005, Heubeck *et al.* 2007, Park & Craggs 2010). El pH de cultivos de microalgas con fines de producción se encuentra en un rango entre 7 y 9 con un valor óptimo de operación de 8,2 a 8,7 (Lavens & Sorgeloos 1996).

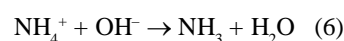
Los niveles de pH específicos se controlan y mantienen por el equilibrio químico existente entre las fuentes de carbono inorgánico: CO₂ disociado (*i.e.*, H₂CO₃), HCO₃⁻ o CO₃²⁻ en el sistema de amortiguamiento de carbonato-bicarbonato, donde a valores de pH de 6,36 a 10,33 la forma predominante es HCO₃⁻, mientras que por debajo de pH 6,36 predomina el H₂CO₃ y a un pH por encima de 10,33 predomina el CO₃²⁻ (Fig. 2) (Markou & Georgakakis 2011). Cabe destacar, que en el intervalo de pH en el cual predomina el HCO₃⁻ se encuentra el pH recomendado para fines de producción (pH de 7 a 9) y el pH para la descarga de la mayoría de los efluentes secundarios municipales (Tabla 1), en el cual las microalgas llevan a cabo la calcificación y consecuente precipitación de carbonato de calcio (CaCO₃), dada la siguiente reacción (McConnaughey & Whelan 1997):



Durante la reacción de calcificación se generan protones, que se utilizarán en la fotosíntesis para su uso en la asimilación de HCO₃⁻ y nutrientes, de acuerdo a la siguiente reacción (McConnaughey & Whelan 1997):



Igualmente, el pH afecta fuertemente en las formas de nitrógeno: NH₄⁺ / NH₃ que se encuentran bajo la siguiente reacción (Martinez *et al.* 2000):



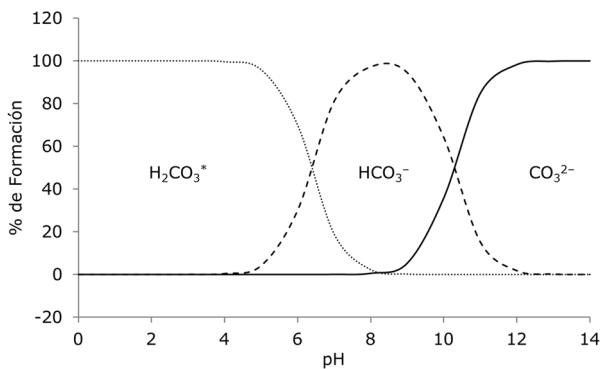


Figura 2. Formación de especies de carbono inorgánico en función del pH (H_2CO_3^* , se refiere a $\text{CO}_2(\text{aq}) + \text{H}_2\text{CO}_3$) / Formation of inorganic carbon species according to their pH (H_2CO_3^* , refers to $\text{CO}_2(\text{aq}) + \text{H}_2\text{CO}_3$)

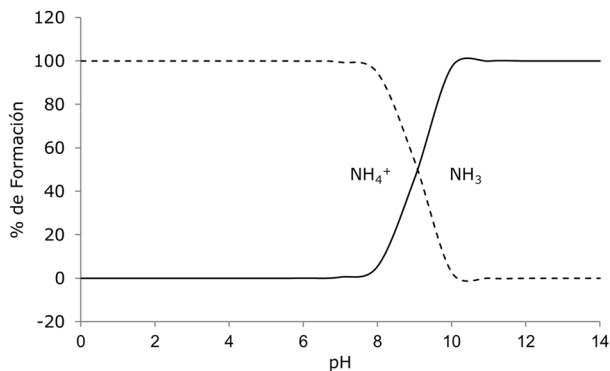


Figura 3. Formación de especies NH_4^+ / NH_3 en función del pH / Formation of species NH_4^+ / NH_3 according to their pH

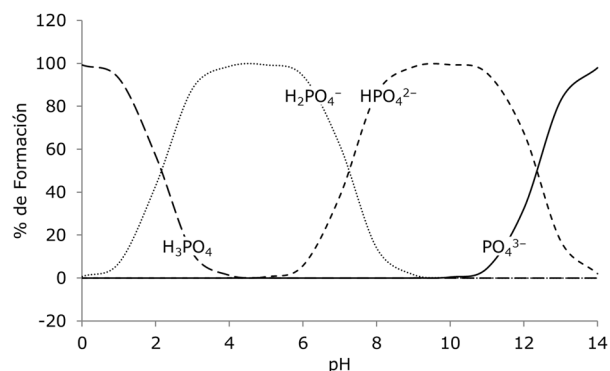


Figura 4. Formación de especies de PO_4^{3-} en función del pH / Formation of species PO_4^{3-} according to their pH

La disociación de NH_4^+ a NH_3 se produce a partir de valores mayores a pH 8, la forma de NH_4^+ prevalece hasta valores de pH inferiores a 9,25 y valores superiores a pH 9,25 ocasionan que el NH_3 predomine sobre el NH_4^+ , aumentando la velocidad de remoción de N a través de la volatilización de NH_3 (Fig. 3) (Abeliovich & Azov 1976, Markou & Georgakakis 2011, Chiu *et al.* 2015). Además del equilibrio de especies NH_4^+ / NH_3 , se debe considerar que la formación y presencia de NH_3 produce un efecto de toxicidad en el cultivo de microalgas a una concentración $> 20 \text{ mg L}^{-1}$ (Borowitzka 1998). Tanto la toxicidad del NH_3 en la tasa de crecimiento como la correlación NH_4^+ / NH_3 con el pH durante el cultivo de microalgas fueron demostrados por Uggetti *et al.* (2014) a través de la evaluación de lodos digeridos anaeróbicamente como fuente de nutrientes para un consorcio de microalgas. En dicho estudio, las condiciones de cultivo fueron $\text{pH} \approx 8$ y tres distintas concentraciones de NH_4^+ / NH_3 : a) 64 mg L^{-1} / 2 mg L^{-1} , b) 238 mg L^{-1} / 9 mg L^{-1} y c) 334 mg L^{-1} / 34 mg L^{-1} . En este trabajo se observó que posterior a 7 días de cultivo se obtuvo disminuciones de pH con valores cercanos a 7 como consecuencia del consumo de NH_4^+ y reducciones de 18% en la tasa de crecimiento para las concentraciones de 2 y 9 mg L^{-1} de NH_3 y del 77% para el cultivo con la concentración de 34 mg L^{-1} de NH_3 .

Por otra parte, el pH también guarda relación con la formación de especies de PO_4^{3-} , en la cual su absorción por las microalgas disminuye en ambientes ácidos y alcalinos. Esta última condición disminuye la bio-disponibilidad e induce la eliminación de fosfatos vía co-precipitación química con Ca^{2+} y formación de fosfato de calcio [$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$] en un intervalo de pH entre 9 y 11 (Fig. 4) (Rigby *et al.* 1980, Craggs 2005, Markou & Georgakakis 2011, Cai *et al.* 2013). Además de la remoción vía precipitación, se suma la adsorción superficial de fósforo en la pared celular de las microalgas (Martinez *et al.* 2000).

EFEECTO DE LA ADICIÓN DE CO_2 EN EL TRATAMIENTO TERCARIO Y PRODUCCIÓN DE MICROALGAS

Los efluentes secundarios municipales PTAR, se han considerado un medio valioso que proporciona los nutrientes necesarios, con el potencial de reducir costos en la producción masiva de microalgas durante la depuración de nutrientes (Pittman *et al.* 2011, Cabanelas *et al.* 2013). Sin embargo, los efluentes municipales contienen una baja concentración de carbono inorgánico (Wang *et al.* 2010, Cho *et al.* 2011), factor que vuelve limitante la generación óptima de microalgas, debido a que el carbono es el elemento que constituye comúnmente el 50% de la biomasa seca (Amaro *et al.* 2011, Razzak *et al.* 2013). El abastecimiento de carbono puede ser suplementado

por la adición de CO₂ atmosférico durante la aireación de los cultivos de microalgas (Fontes *et al.* 1987). No obstante, dada la baja concentración de CO₂ atmosférico ($\approx 0,038\%$), es necesario evitar la limitación de carbono, por lo que se ha propuesto la adición de aire enriquecido con CO₂ que es una práctica estándar en los sistemas de producción comercial de microalgas (Kumar *et al.* 2010, Craggs *et al.* 2013, Pires 2015). El uso de CO₂ como fuente de carbono inorgánico es justificado por ser la forma más biodisponible en las microalgas, en contraste a las especies HCO₃⁻ y CO₃²⁻ que de igual manera son utilizadas en la fotosíntesis a través de su conversión a CO₂ (Falkowski & Raven 2007, Borowitzka & Moheimani 2013, Sutherland *et al.* 2015b). El suministro de CO₂ además de ser una alternativa que aumentaría la disponibilidad de carbono, podría amortiguar el incremento de pH a la par de mantenerlo en un valor óptimo (pH $\approx 8,5$) favoreciendo la productividad de las microalgas (Craggs *et al.* 2013). Del mismo modo, al añadir CO₂ y regular el pH, se podría reducir la eliminación de nutrientes vía formación de NH₃ y precipitación de PO₄³⁻ [e.g., Ca₃(PO₄)₂] con la ventaja de mantenerlos bio-disponibles para el desarrollo de las microalgas (Heubeck *et al.* 2007, Markou & Georgakakis 2011, Cai *et al.* 2013).

Adicionalmente, el empleo de CO₂ con fines de potenciar la producción de microalgas implica optimizar una adecuada captación de CO₂ en conjunto al tratamiento de agua (Razzak *et al.* 2013). La absorción de CO₂ depende primordialmente de la especie de microalga y la concentración de CO₂ utilizada, así como la capacidad de adaptación de las microalgas a distintas concentraciones de CO₂ y las condiciones de cultivo (Francisco *et al.* 2010, Goli *et al.* 2016, Gonçalves *et al.* 2016). Asimismo, el enriquecimiento óptimo de CO₂ para el cultivo de la mayoría de las especies de microalgas está entre 0,038 a 10% de CO₂ (Zhao & Su 2014), encontrándose distintos valores óptimos para la producción de biomasa, por ejemplo: Taher *et al.* (2015) obtuvieron una concentración óptima al adicionar 1% de CO₂ en *Chlorella* sp., *Pseudochlorococcum* sp. y *Nannochloropsis* sp., mientras que Chiu *et al.* (2008) reportaron un valor de 2,5% de CO₂ para *Chlorella* sp., en contraste a De Moraes & Costa (2007) quienes indicaron una concentración ideal del 6% de CO₂ para *Scenedesmus obliquus* y *Chlorella kessleri*. Por otra parte, la captación de CO₂ depende de otros factores en el cultivo como la temperatura, pH, horas luz, biomasa inicial de microalgas y en menor medida la forma y el tamaño del reactor (Pires *et al.* 2012, Alhamed *et al.* 2014, Kobayashi *et al.* 2015). Los efectos principales a controlar asociados al suministro de CO₂, son las pérdidas a la atmósfera, el grado de su solubilidad en el agua y la disminución de pH por la formación de H₂CO₃ en la fase inicial del cultivo de microalgas, el cual puede detener la

producción a través de la inhibición de enzimas (e.g., la enzima anhidrasa carbónica que participa en la captación de carbono inorgánico durante la fotosíntesis) y proteínas necesarias para el desarrollo de las microalgas (Pulz 2001, Zhang *et al.* 2012). Una estrategia para superar esta limitación es el uso de una alta concentración inicial de microalgas, que propicie el alto consumo de CO₂ disponible, evitando su disociación en el agua, a la vez de mantener un pH adecuado al crecimiento (Hartley *et al.* 1997, Chiu *et al.* 2009). Un alto inóculo disminuye el periodo de latencia o adaptación (*i.e.*, fase lag) e induce a un inicio más temprano la fase de crecimiento (*i.e.*, fase log), del cual se derivan los aumentos de la asimilación de carbono y tasa de producción de biomasa (Yadav & Sen 2017). Estas dos últimas características resultan ventajosas para el cultivo de microalgas según Chiu *et al.* (2008) quienes utilizaron *Chlorella* sp. a una concentración de inóculo de 8×10^6 células mL⁻¹. Para evitar pérdidas de CO₂ en cultivos a intemperie se ha sugerido adicionar CO₂ durante las horas de luz solar, aumentando su suministro al mediodía y disminuyéndolo durante el atardecer y amanecer, esto debido la actividad fotosintética de las microalgas (Sobczuk *et al.* 2000). Asimismo, la estrecha relación entre la luz solar y la captación de CO₂ durante la fotosíntesis, es confirmada por Jacob-Lopes *et al.* (2009) quienes encontraron una relación lineal entre la tasas de fijación de CO₂ y duración del periodo de luz para los fotoperiodos de 0:24, 2:22, 4:20, 6:18, 8:16, 10:14, 14:10, 16:8, 18:6, 20:4, 22:2 y 24:0 luz:oscuridad (L:O), con excepción del fotoperiodo 12:12 luz:oscuridad.

CONCLUSIONES

El uso de microalgas como agentes depuradores de nutrientes (N y P) en el tratamiento terciario de efluentes secundarios municipales es una alternativa tecnológica factible y prometedora. Sin embargo, para lograr un cultivo sustentable se sugiere la importancia de monitorizar la relación del pH con la concentración de C inorgánico (CO₂ / HCO₃⁻ / CO₃²⁻), nitrógeno (NO₃⁻, NH₄⁺) y P (PO₄³⁻) con el propósito de definir condiciones críticas como: 1) la concentración de HCO₃⁻ que amortigüe el cambio de pH originado por la liberación de iones OH⁻ durante el consumo de CO₂ y NO₃⁻; 2) evitar pérdidas de biodisponibilidad de P en el intervalo de pH 9 a 11 por precipitación de Ca₃(PO₄)₂; 3) eliminación de N vía formación de NH₃ y 4) toxicidad por formación de NH₃ (> 20 mg L⁻¹). Por otra parte, la administración de aire enriquecido con CO₂ durante el tratamiento terciario y producción de biomasa deberá considerar: 1) el uso intermitente y suministro variable para evitar pérdidas de CO₂ hacia la atmósfera; 2) administración y consumo eficiente de CO₂ en etapas iniciales del cultivo con el fin de evitar la formación de H₂CO₃ y acidificación del pH que

inhibe el crecimiento de las microalgas y 3) mantenimiento de un pH óptimo ($\approx 8,5$) considerando el sistema amortiguador $\text{CO}_2 / \text{HCO}_3^-$. Por último, cabe destacar que el uso de microalgas para el tratamiento terciario representa una tecnología viable, que incorpora el cumplimiento de normas ambientales, reciclaje y revalorización de recursos a través de la generación y usos potenciales de la biomasa (e.g., fertilizantes, pigmentos y antioxidantes).

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León y Departamento de Ciencias Básicas de la Universidad Autónoma Metropolitana Azcapotzalco.

LITERATURA CITADA

- Abe K, M Komada, A Ookuma, S Itahashi & K Banzai. 2014.** Purification performance of a shallow free-water-surface constructed wetland receiving secondary effluent for about 5 years. *Ecological Engineering* 69: 126-133.
- Abeliovich A & Y Azov. 1976.** Toxicity of ammonia to algae in sewage oxidation ponds. *Applied and Environmental Microbiology* 31(6): 801-806.
- Abinandan S & S Shanthakumar. 2015.** Challenges and opportunities in application of microalgae (Chlorophyta) for wastewater treatment: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 52: 123-132.
- Abou-Shanab RAI, MM El-Dalatony, MM El-Sheekh, MK Ji, ES Salama, AN Kabra & BH Jeon. 2014.** Cultivation of a new microalga, *Micractinium reisseri*, in municipal wastewater for nutrient removal, biomass, lipid, and fatty acid production. *Biotechnology and Bioprocess Engineering* 19(3): 510-518.
- Alhamed YA, GM Edris & YM Gadelhak. 2014.** Performance evaluation of a bubble column photobioreactor for carbon dioxide sequestration by *Chlorella vulgaris*. *Arabian Journal for Science and Engineering* 39(12): 8453-8463.
- Amaro HM, A Guedes & FX Malcata. 2011.** Advances and perspectives in using microalgae to produce biodiesel. *Applied Energy* 88(10): 3402-3410.
- Andrade MR & JAV Costa. 2007.** Mixotrophic cultivation of microalga *Spirulina platensis* using molasses as organic substrate. *Aquaculture* 264: 130-134.
- Barsanti L & P Gualtieri. 2006.** Algae: anatomy, biochemistry, and biotechnology, 320 pp. CRC Press, Boca Raton / London.
- Bassi A, P Saxena & AM Aguirre. 2014.** Mixotrophic algae cultivation for energy production and other applications. In: Bajpai R, A Prokop & M Zappi (eds). *Algal biorefineries*, pp 177-202. Springer, Dordrecht.
- Beltrán-Rocha JC. 2014.** Desarrollo de un proceso de remoción de nutrientes de efluentes eutróficos por un consorcio de microalgas nativas de Nuevo León, México Cultivadas en un nuevo fotobiorreactor. Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza, 131 pp.
- Beltrán-Rocha JC, ID Barceló-Quintal, M García-Martínez, L Osornio-Berthet, N Saavedra-Villarreal, J Villarreal-Chiu & UJ López-Chuken. 2017.** Polishing of municipal secondary effluent using native microalgae consortia. *Water Science and Technology* 75(7): 1693-1701.
- Boonchai R, GT Seo, DR Park & CY Seong. 2012.** Microalgae photobioreactor for nitrogen and phosphorus removal from wastewater of sewage treatment plant. *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics* 2(6): 407-410.
- Borowitzka MA & NR Moheimani. 2013.** Open pond culture systems. In: Borowitzka MA & NR Moheimani (eds). *Algae for biofuels and energy*, pp. 133-152. Springer, New York.
- Borowitzka MA. 1998.** Limits to growth. In: Wong YS & NFY Tam (eds). *Wastewater treatment with algae*, pp. 203-226. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.
- Brennan L & P Owende. 2010.** Biofuels from microalgae-A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 14(2): 557-577.
- Burhenne N & R Tischner. 2000.** Isolation and characterization of nitrite-reductase-deficient mutants of *Chlorella sorokiniana* (strain 211-8k). *Planta* 211: 440-445.
- Cabanelas ITD, J Ruiz, Z Arbib, FA Chinalia, C Garrido-Pérez, F Rogalla, IA Nascimento & JA Perales. 2013.** Comparing the use of different domestic wastewaters for coupling microalgal production and nutrient removal. *Bioresource Technology* 131: 429-436.
- Cai T, SY Park & Y Li. 2013.** Nutrient recovery from wastewater streams by microalgae: Status and prospects. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 19: 360-369.
- Chelba A, D Arsene, I Morosanu, L Tofan & C Teodosiu. 2014.** Secondary municipal effluent treatment by catalytic wet hydrogen peroxide oxidation. *Environmental Engineering and Management Journal* 13(9): 2401-2410.
- Chen CY, KL Yeh, R Aisyah, DJ Lee & JS Chang. 2011.** Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: a critical review. *Bioresource Technology* 102(1): 71-81.
- Chiu SY, CY Kao, CH Chen, TC Kuan, SC Ong & CS Lin. 2008.** Reduction of CO_2 by a high-density culture of *Chlorella* sp. in a semicontinuous photobioreactor. *Bioresource Technology* 99(9): 3389-3396.
- Chiu SY, CY Kao, MT Tsai, SC Ong, CH Chen & CS Lin. 2009.** Lipid accumulation and CO_2 utilization of *Nannochloropsis oculata* in response to CO_2 aeration. *Bioresource Technology* 100(2): 833-838.

- Cho S, TT Luong, D Lee, YK Oh & T Lee. 2011.** Reuse of effluent water from a municipal wastewater treatment plant in microalgae cultivation for biofuel production. *Bioresource Technology* 102(18): 8639-8645.
- Chojnacka K & FJ Marquez-Rocha. 2004.** Kinetic and stoichiometric relationships of the energy and carbon metabolism in the culture of microalgae. *Biotechnology* 3(1): 21-34.
- Craggs RJ. 2005.** Advanced integrated wastewater ponds. In: Shilton A(ed). *Pond treatment technology*, pp. 282-302. IWA Publishing, London.
- Craggs R, TJ Lundquist & JR Benemann. 2013.** Wastewater treatment and algal biofuel production. In: Borowitzka MA & NR Moheimani (eds). *Algae for biofuels and energy*, pp. 153-163. Springer, New York.
- Cuellar-Bermudez SP, JS Garcia-Perez, BE Rittmann & R Parra-Saldivar. 2014.** Photosynthetic bioenergy utilizing CO₂: an approach on flue gases utilization for third generation biofuels. *Journal of Cleaner Production* 98: 53-65.
- De la Noüe J, G Laliberte & D Proulx. 1992.** Algae and waste water. *Journal of Applied Phycology* 4: 247-254.
- De Morais MG & JAV Costa. 2007.** Isolation and selection of microalgae from coal fired thermoelectric power plant for biofixation of carbon dioxide. *Energy Conversion Management* 48(7): 2169-2173.
- Dodds WK, WW Bouska, JL Eitzmann, TJ Pilger, KL Pitts, AJ Riley, JT Schloesser & DJ Thornbrugh. 2009.** Eutrophication of U.S. freshwaters: analysis of potential economic damages. *Environmental Science and Technology* 43: 12-19.
- Falkowski PG & JA Raven. 2007.** *Aquatic photosynthesis*, 500 pp. Princeton University Press, Princeton.
- Fernández E, Á Llamas & A Galván. 2009.** Nitrogen assimilation and its regulation. In: Harris E, DB Stern & GB Witman (eds). *The Chlamydomonas Sourcebook*, pp. 69-113. Academic Press, London.
- Fontes AG, MA Vargas, J Moreno, MG Guerrero & M Losada. 1987.** Factors affecting the production of biomass by a nitrogen-fixing blue-green alga in outdoor culture. *Biomass* 13(1): 33-43.
- Franchino M, E Comino, F Bona & VA Riggio. 2013.** Growth of three microalgae strains and nutrient removal from an agro-zootechnical digestate. *Chemosphere* 92(6): 738-744.
- Francisco EC, DB Neves, E Jacob-Lopes & TT Franco. 2010.** Microalgae as feedstock for biodiesel production: carbon dioxide sequestration, lipid production and biofuel quality. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 85: 395-403.
- Garcia J, R Mujeriego & M Hernandez-Marine. 2000.** High rate algal pond operating strategies for urban wastewater nitrogen removal. *Journal of Applied Phycology* 12: 331-339.
- Goli A, A Shamiri, A Talaiekhozani, N Eshtiaghi, N Aghamohammadi & MK Aroua. 2016.** An overview of biological processes and their potential for CO₂ capture. *Journal of Environmental Management* 183: 41-58.
- Gonçalves AL, CM Rodrigues, JCM Pires & M Simões. 2016.** The effect of increasing CO₂ concentrations on its capture, biomass production and wastewater bioremediation by microalgae and cyanobacteria. *Algal Research* 14: 127-136.
- Gouveia L, S Graça, C Sousa, L Ambrosano, B Ribeiro, EP Botrel, P Castro-Neto, AF Ferreira & CM Silva. 2016.** Microalgae biomass production using wastewater: Treatment and costs. *Algal Research* 16: 167-176.
- Graham LE, J Graham, JM Graham & LW Wilcox. 2009.** *Algae*, pp. 61-77. Benjamin Cummings, San Francisco.
- Guldhe A, S Kumari, L Ramanna, P Ramsundar, P Singh, I Rawat & F Bux. 2017.** Prospects, recent advancements and challenges of different wastewater streams for microalgal cultivation. *Journal of Environmental Management* 203: 299-315.
- Hartley AM, WA House, ME Callow & BSC Leadbeater. 1997.** Coprecipitation of phosphate with calcite in the presence of photosynthesizing green algae. *Water Research* 31(9): 2261-2268.
- He S & G Xue. 2010.** Algal-based immobilization process to treat the effluent from a secondary wastewater treatment plant (WWTP). *Journal of Hazardous Materials* 178(1-3): 895-899.
- Hernández-Pérez A & JI Labbé. 2014.** Microalgas, cultivo y beneficios. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 49(2): 157-173.
- Heubeck S, RJ Craggs & A Shilton. 2007.** Influence of CO₂ scrubbing from biogas on the treatment performance of a high rate algal pond. *Water Science and Technology* 55(11): 193-200.
- Jacob-Lopes E, CHG Scoparo, LMCF Lacerda & TT Franco. 2009.** Effect of light cycles (night/day) on CO₂ fixation and biomass production by microalgae in photobioreactors. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* 48(1): 306-310.
- Ji MK, RAI Abou-Shanab, SH Kim, ES Salama, SH Lee, AN Kabra, YS Lee, S Hong & BH Jeon. 2013.** Cultivation of microalgae species in tertiary municipal wastewater supplemented with CO₂ for nutrient removal and biomass production. *Ecological Engineering* 58: 142-148.
- Kobayashi N, A Barnes, T Jensen, E Noel, G Andlay, JN Rosenberg, MJ Betenbaugh, MT Guarnieri & GA Oyler. 2015.** Comparison of biomass and lipid production under ambient carbon dioxide vigorous aeration and 3% carbon dioxide condition among the lead candidate *Chlorella* strains screened by various photobioreactor scales. *Bioresource Technology* 198: 246-255.
- Koller M, A Muhr & G Brauneegg. 2014.** Microalgae as versatile cellular factories for valued products. *Algal Research* 6: 52-63.
- Kumar A, S Ergas, X Yuan, A Sahu, Q Zhang, J Dewulf, FX Malcata & H van Langenhove. 2010.** Enhanced CO₂ fixation and biofuel production via microalgae: Recent developments and future directions. *Trends in Biotechnology* 28(7): 371-380.

- Kuzawa K, YJ Jung, Y Kiso, T Yamada, M Nagai & TG Lee. 2006.** Phosphate removal and recovery with a synthetic hydrotalcite as an adsorbent. *Chemosphere* 62: 45-52.
- Laliberté G, P Lessard, J de la Noüe & S Sylvestre. 1997.** Effect of phosphorus addition on nutrient removal from wastewater with the cyanobacterium *Phormidium bohneri*. *Bioresource Technology* 59: 227-233.
- Lau PS, NFY Tam & YS Wang. 1995.** Effect of algal density on nutrient removal from primary settled wastewater. *Environmental Pollution* 89(1): 59-66.
- Lavens P & P Sorgeloos. 1996.** Manual on the production and use of live food for aquaculture, 13 pp. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Makareviciene V, V Skorupskaite & V Andruleviciute. 2013.** Biodiesel fuel from microalgae-promising alternative fuel for the future: A review. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* 12(2): 119-130.
- Markou G & D Georgakakis. 2011.** Cultivation of filamentous cyanobacteria (blue-green algae) in agro-industrial wastes and wastewaters: A review. *Applied Energy* 88(10): 3389-3401.
- Martinez ME, JM Jiménez & F El Yousfi. 1999.** Influence of phosphorus concentration and temperature on growth and phosphorus uptake by the microalga *Scenedesmus obliquus*. *Bioresource Technology* 67(3): 233-240.
- Martinez ME, S Sanchez, JM Jimenez, F El Yousfi & L Munoz. 2000.** Nitrogen and phosphorus removal from urban wastewater by the microalga *Scenedesmus obliquus*. *Bioresource Technology* 73: 263-272.
- Masojíddek J, M Koblížek & G Torzillo. 2004.** Photosynthesis in microalgae. In: Richmond A (ed). *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*, pp. 20-39. Blackwell Publishing, Iowa.
- Mata TM, AA Martins & NS Caetano. 2010.** Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 14(1): 217-232.
- Matlock MD, ME Matlock, DE Storm, MD Smolen & WJ Henley. 1998.** Limiting nutrient determination in lotic ecosystems using a quantitative nutrient enrichment periphytometer. *Journal of the American Water Resources Association* 34(5): 1141-1147.
- McConnaughey TA & JF Whelan. 1997.** Calcification generates protons for nutrient and bicarbonate uptake. *Earth-Science Reviews* 42(1): 95-117.
- Morris L, V Colombo, K Hassell, C Kellar, P Leahy, SM Long, JH Myers & V Pettigrove. 2017.** Municipal wastewater effluent licensing: A global perspective and recommendations for best practice. *Science of the Total Environment* 580: 1327-1339.
- Mulbry WW & AC Wilkie. 2001.** Growth of benthic freshwater algae on dairy manures. *Journal of Applied Phycology* 13(4): 301-306.
- Park JBK & RJ Craggs. 2010.** Wastewater treatment and algal production in high rate algal ponds with carbon dioxide addition. *Water Science and Technology* 61(3): 633-639.
- Park JBK, RJ Craggs & AN Shilton. 2011.** Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. *Bioresource Technology* 102(1): 35-42.
- Pires JCM. 2015.** Mass production of microalgae. In: Kim S (ed). *Handbook of marine microalgae biotechnology advances*, pp. 55-65. Elsevier, London.
- Pires JCM, MCM Alvim-Ferraz, FG Martins & M Simões. 2012.** Carbon dioxide capture from flue gases using microalgae: Engineering aspects and biorefinery concept. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 16(5): 3043-3053.
- Pittman JK, AP Dean & O Osundeko. 2011.** The potential of sustainable algal biofuel production using wastewater resources. *Bioresource Technology* 102(1): 17-25.
- Pulz O. 2001.** Photobioreactors: Production systems for phototrophic microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology* 57(3): 287-293.
- Rashid N, MS Ur Rehman, M Sadiq, T Mahmood & JI Han. 2014.** Current status, issues and developments in microalgae derived biodiesel production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 40: 760-778.
- Rasoul-Amini S, N Montazeri-Najafabady, S Shaker, A Safari, A Kazemi, P Mousavi, MA Mobasher & Y Ghasemi. 2014.** Removal of nitrogen and phosphorus from wastewater using microalgae free cells in bath culture system. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 3(2): 126-131.
- Razzak SA, MM Hossain, RA Lucky, AS Bassi & H de Lasa. 2013.** Integrated CO₂ capture, wastewater treatment and biofuel production by microalgae culturing-A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 27: 622-653.
- Razzak SA, SAM Ali, MM Hossain & H de Lasa. 2017.** Biological CO₂ fixation with production of microalgae in wastewater-A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 76: 379-390.
- Renuka N, R Prasanna, A Sood, AS Ahluwalia, R Bansal, S Babu, R Singh, YS Shivay & L Nain. 2016.** Exploring the efficacy of wastewater-grown microalgal biomass as a biofertilizer for wheat. *Environmental Science and Pollution Research International* 23(7): 6608-6620.
- Rigby CH, SR Craig & K Budd. 1980.** Phosphate uptake by *Synechococcus leopoliensis* (Cyanophyceae): enhancement by calcium ion. *Journal of Applied Phycology* 16: 389-393.
- Rinanti A. 2016.** Biotechnology carbon capture and storage by microalgae to enhance CO₂ removal efficiency in closed-System photobioreactor. In: Thajuddin N & D Dhanasekaran (eds). *Algae - Organisms for imminent biotechnology*, pp. 133-156. InTech, Rijeka.
- Roeselers G, MCM van Loosdrecht & G Muyzer. 2008.** Phototrophic biofilms and their potential applications. *Journal of Applied Phycology* 20(3): 227-235.
- Ruiz-Marin A, LG Mendoza-Espinosa & T Stephenson. 2010.** Growth and nutrient removal in free and immobilized green algae in batch and semi-continuous cultures treating real wastewater. *Bioresource Technology* 101(1): 58-64.

- Salim S, MH Vermue & RH Wijffels. 2012.** Ratio between autoflocculating and target microalgae affects the energy-efficient harvesting by bio-flocculation. *Bioresource Technology* 118: 49-55.
- Sharpley AN, PJA Kleinman, RW McDowell, M Gitau & RB Bryant. 2002.** Modeling phosphorus transport in agricultural watersheds: processes and possibilities. *Journal of Soil and Water Conservation* 57: 425-439.
- Sobczuk TM, FG Camacho, FC Rubio, FGA Fernandez & EM Grima. 2000.** Carbon dioxide uptake efficiency by outdoor microalgal cultures in tubular airlift photobioreactors. *Biotechnology and Bioengineering* 67(4): 465-475.
- Song W, N Rashid, W Choi & K Lee. 2011.** Biohydrogen production by immobilized *Chlorella* sp. using cycles of oxygenic photosynthesis and anaerobiosis. *Bioresource Technology* 102(18): 8676-8681.
- Sutherland DL, C Howard-Williams, MH Turnbull, PA Broady & RJ Craggs. 2015a.** Enhancing microalgal photosynthesis and productivity in wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. *Bioresource Technology* 184: 222-229.
- Sutherland DL, C Howard-Williams, MH Turnbull, PA Broady & RJ Craggs. 2015b.** The effects of CO₂ addition along a pH gradient on wastewater microalgal photo-physiology, biomass production and nutrient removal. *Water Research* 70: 9-26.
- Sydney EB, AC Novak, JC Carvalho & CR Soccol. 2014.** Respirometric balance and carbon fixation of industrially important algae. In: Pandey A, DJ Lee, Y Chisti & CR Soccol (eds). *Biofuels from algae*, pp. 67-84. Elsevier, Burlington.
- Taher H, S Al-Zuhair, A Al-Marzouqi, Y Haik & M Farid. 2015.** Growth of microalgae using CO₂ enriched air for biodiesel production in supercritical CO₂. *Renewable Energy* 82: 61-70.
- Uduman N, Y Qi, MK Danquah, GM Forde & A Hoadley. 2010.** Dewatering of microalgal cultures: A major bottleneck to algae-based fuels. *Journal of Renewable and Sustainable Energy* 2(1): 012701. <<https://doi.org/10.1063/1.3294480>>
- Uggetti E, B Sialve, E Latrille & JP Steyer. 2014.** Anaerobic digestate as substrate for microalgae culture: the role of ammonium concentration on the microalgae productivity. *Bioresource Technology* 152: 437-443.
- Umamaheswari J & S Shanthakumar. 2016.** Efficacy of microalgae for industrial wastewater treatment: a review on operating conditions, treatment efficiency and biomass productivity. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* 15(2): 265-284.
- Wang B, Y Li, N Wu & CQ Lan. 2008.** CO₂ bio-mitigation using microalgae. *Applied Microbiology and Biotechnology* 79: 707-718.
- Wang L, M Min, Y Li, P Chen, Y Chen, Y Liu, Y Wang & R Ruan. 2010.** Cultivation of green algae *Chlorella* sp. in different wastewaters from municipal wastewater treatment plant. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 162(4): 1174-1186.
- Wang S, X Zhang, ZW Wang, X Li & J Ma. 2014.** In-depth characterization of secondary effluent from a municipal wastewater treatment plant located in Northern China for advanced treatment. *Water Science and Technology* 69(7): 1482-1488.
- Wijffels RH. 2008.** Potential of sponges and microalgae for marine biotechnology. *Trends in Biotechnology* 26(1): 26-31.
- Wilkie AC & WW Mulbry. 2002.** Recovery of dairy manure nutrients by benthic freshwater algae. *Bioresource Technology* 84: 81-91.
- Xin L, H Hong-ying & Y Jia. 2010.** Lipid accumulation and nutrient removal properties of a newly isolated freshwater microalga, *Scenedesmus* sp. LX1, growing in secondary effluent. *New Biotechnology* 27(1): 59-63.
- Xiong J, G Guo, Q Mahmood & M Yue. 2011.** Nitrogen removal from secondary effluent by using integrated constructed wetland system. *Ecological Engineering* 37(4): 659-662.
- Yadav G & R Sen. 2017.** Microalgal green refinery concept for biosequestration of carbon-dioxide vis-à-vis wastewater remediation and bioenergy production: Recent technological advances in climate research. *Journal of CO₂ Utilization* 17: 188-206.
- Yang J, X Li, H Hu, X Zhang, Y Yu & Y Chen. 2011.** Growth and lipid accumulation properties of a freshwater microalga, *Chlorella ellipsoidea* YJ1, in domestic secondary effluents. *Applied Energy* 88(10): 3295-3299.
- Yangüez K, C Lovazzano, L Contreras-Porcía & N Ehrenfeld. 2015.** Response to oxidative stress induced by high light and carbon dioxide (CO₂) in the biodiesel producer model *Nannochloropsis salina* (Ochrophyta, Eustigmatales). *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 50: 163-175.
- Zeng X, MK Danquah, XD Chen & Y Lu. 2011.** Microalgae bioengineering: From CO₂ fixation to biofuel production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 15(6): 3252-3260.
- Zeng X, X Guo, G Su, MK Danquah, S Zhang, Y Lu, Y Sun & L Lin. 2015.** Bioprocess considerations for microalgal-based wastewater treatment and biomass production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 42: 1385-1392.
- Zhang X, P Amendola, JC Hewson, M Sommerfeld & Q Hu. 2012.** Influence of growth phase on harvesting of *Chlorella zofingiensis* by dissolved air flotation. *Bioresource Technology* 116: 477-484.
- Zhao B & Y Su. 2014.** Process effect of microalgal-carbon dioxide fixation and biomass production: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 31: 121-132.

Recibido el 22 de septiembre de 2016 y aceptado el 31 de octubre de 2017

Editor: Claudia Bustos D.