

Fitodepuración mixotrófica en sistemas de recirculación acuícola (RAS) para el manejo sustentable de nutrientes contaminantes

Mixotrophic phytopurification in aquaculture recirculation systems (RAS) for the sustainable management of polluting nutrients

Jorge Silva-Acosta^{1,2}, Christian Canales Valenzuela², Sergio Rodríguez Leal³

¹Departamento de Oceanografía, Universidad de Concepción, Concepción, Chile.

²Facultad de Ingeniería y Tecnología, Universidad San Sebastián, Concepción, Chile.

³Ingeniería y Bionegocios FDM Spa, Concepción, Chile.

Correspondencia: Jorge Silva-Acosta,  E-mail: jorgesilvaa@udec.cl

Revisión | Review

Palabras clave

Acuicultura intensiva
Biofiltro nitrificante
Tratamiento de agua
Biomasa
Economía circular

RESUMEN | La acuicultura industrial ha crecido rápidamente debido al aumento en la demanda mundial de pescados y mariscos, lo que ha estimulado el desarrollo de sistemas acuícolas de cultivo de especies marinas. La necesidad de mantener altos niveles de productividad los convierte en sistemas complejos e inestables, propensos a sufrir perturbaciones con riesgo potencial de causar problemas de contaminación del ambiente natural. En las operaciones de acuicultura intensiva se estima que en los procesos de transformación para el desarrollo y crecimiento de la biomasa, aproximadamente el 75% del alimento es liberado en forma de nitrógeno y fósforo. Durante las últimas décadas se han realizado esfuerzos para el desarrollo de procesos de eliminación de estos nutrientes-contaminantes, que de otra manera serían liberados a los cuerpos de agua natural, causando eutrofización. El sistema de acuicultura con recirculación (RAS) es el sistema convencional de cultivo; incluye una etapa de remoción de nutrientes con biofiltros de bacterias aerobias que favorecen el proceso de nitrificación, aunque la tecnología de biofiltros tiene dificultades operacionales tales como la disminución en la concentración de oxígeno, acumulación de materia orgánica y dificultad de retroenjuague, entre otras. Así, han surgido opciones basadas en la actividad de organismos fotoautotróficos aprovechando la capacidad de plantas acuáticas, macro y microalgas, de eliminar con eficacia nutrientes-contaminantes (fitodepuración), consumiendo además de carbono y nitrógeno, también el fósforo, este último sin capacidad de ser removido con biofiltros nitrificantes. Sin embargo, esta estrategia de tratamiento no se ha utilizado en acuicultura intensiva debido a la alta disponibilidad de superficie demandada y que supera la requerida por los compactos equipos de para biofiltración nitrificante. La fitodepuración mixotrófica, que corresponde a la integración de dos tecnologías de tratamiento terciario de aguas residuales (biofiltración-autotrófica y fitodepuración), podrían ser una respuesta eficiente para el tratamiento de aguas residuales acuícolas, dada la interacción entre los organismos involucrados. Por ello, esta revisión se enfoca al potencial uso de los cultivos mixotróficos para el control de nutrientes-contaminantes en “RAS” o aguas residuales acuícolas, además de aportar al desarrollo de economía circular.

Keywords

Intensive aquaculture
Nitrifying biofilter
Water treatment
Biomass
Circular economy

ABSTRACT | Industrial aquaculture has grown rapidly due to the increase in world demand for fish and shellfish, which has stimulated the development of aquaculture systems for the cultivation of marine species. The need to maintain high levels of productivity makes them complex unstable systems, prone to disturbances with the potential risk of causing problems of contamination of the natural environment. In intensive aquaculture operations, it is estimated that in the transformation processes for the development and growth of biomass, approximately 75% of the feed is released in the form of nitrogen and phosphorus. During the last decades, efforts have been made to develop processes for the elimination of these nutrients-pollutants, which would otherwise be released into natural water bodies causing eutrophication. The recirculating aquaculture system (RAS) is the conventional culture system; it includes a nutrient removal stage with biofilters of aerobic bacteria that favor the nitrification process, although the biofilter technology has operational difficulties such as the decrease in oxygen concentration, accumulation of organic matter and difficulty of back-rinsing, among others. Thus, options have emerged based on the activity of photoautotrophic organisms, taking advantage of the ability of aquatic plants, macro and microalgae, to effectively eliminate nutrients-pollutants (phytopurification), consuming in addition to carbon and nitrogen, also phosphorus, the latter without the ability to be removed with nitrifying biofilters. However, this treatment strategy has not been used in intensive aquaculture due to the high availability of the area in demand, which exceeds that

required by compact equipment for nitrifying biofiltration. Mixotrophic phytodepuration, which corresponds to the integration of two tertiary wastewater treatment technologies (biofiltration-autotrophic and phytodepuration), could be an efficient response for the treatment of aquaculture wastewater, given the interaction between the organisms involved. For this reason, this review focuses on the potential use of mixotrophic cultivation for the control of nutrients-pollutants in "RAS" or aquaculture wastewater, in addition to contributing to the development of circular economy.

INTRODUCCIÓN

La acuicultura en el mundo es una industria que ha crecido rápidamente debido a un aumento significativo en la demanda mundial de pescados y mariscos, resultado proporcional al crecimiento demográfico poblacional que predice un total de 8.100 millones de personas para el 2025 (ONU, 2014) y 9.700 millones para el 2050 (ONU, 2019). A fines del 2018, el total de recursos hidrobiológicos cosechados por acuicultura ascendió a 114,6 millones de toneladas de peso vivo, con un valor estimado de venta de US\$263,6 mil millones de dólares (FAO, 2020). Esta realidad sitúa a la acuicultura dentro de las más dinámicas actividades proveedoras de proteína a nivel mundial, no obstante, es importante considerar que como los sistemas acuícolas mantienen un alto nivel de productividad, requiriendo aportes externos de materia y energía, tienden a generar una mayor inestabilidad ecológica y, por tanto, pueden ser más fácilmente perturbados que los ecosistemas naturales (FAO, 1983). Entre los aportes de materia y energía externos requeridos se encuentra la demanda de agua, oxígeno, alimento, antibióticos, electricidad (Bartoli *et al.*, 2005), y compuestos utilizados para la estabilización fisicoquímica del agua. Estimaciones indican que el 75% del alimento empleado en acuicultura se libera en forma de nitrógeno y fósforo. El nitrógeno ingresa al medio acuoso en forma de amonio (NH_4^+), nitrógeno orgánico o incluso nitrito (NO_2^-) y nitrato (NO_3^-), mientras que el fósforo se encuentra en forma de fosfatos (PO_4^{3-}) (Crab *et al.*, 2007). Dauda *et al.* (2019) indican como ejemplo, que los desechos generados por el cultivo de peces en Japón, independientemente de la especie, es tan alta que una tonelada de peces genera en promedio 0,8 kg de nitrógeno y 0,1 kg de fósforo. Así, el cultivo de peces no puede ser considerado sostenible, sino todo lo contrario, un cultivo que deteriora los ambientes dulceacuícolas.

Durante las últimas décadas del siglo pasado, se han realizado importantes esfuerzos para eliminar estos nutrientes de las aguas residuales domésticas (Diniz *et al.*, 2017) y de acuicultura para obtener una calidad de efluente satisfactoria, que no dé lugar a la eutrofización de ecosistemas naturales receptores o que permita el reciclaje de agua (Crab *et al.*, 2007), abriendo paso al diseño e implementación de técnicas de reutilización intensiva de agua, denominadas sistemas de recirculación acuícola (RAS, por sus siglas en inglés: *Recirculation Aquaculture Systems*). El crecimiento sostenido de la acuicultura intensiva se correlacionaría con el déficit de recursos hídricos y dada la necesidad de asegurar la inocuidad alimentaria, como así también el control del impacto medio ambiental de los procesos industriales, surge la necesidad de desarrollar procesos que optimicen el uso eficiente de los recursos hídricos. Por lo tanto, el análisis de nuevas tecnologías en el manejo y aprovechamiento de los nutrientes residuales resultan altamente necesarias y requeridas. El objetivo de este trabajo fue analizar el potencial tecnológico de la utilización de cultivos de microorganismos mixotróficos para el control de nutrientes en sistemas de recirculación acuícola (RAS) y/o aguas residuales provenientes del cultivo de recursos hidrobiológicos y en la posibilidad de aportar al desarrollo de sistemas productores de biomasa.

REUTILIZACIÓN DE AGUA EN ACUICULTURA INTENSIVA

Los RAS interrelacionan un conjunto de procesos unitarios y componentes que se utilizan para el mantenimiento de organismos acuáticos en cautiverio, donde el agua es continuamente tratada y reutilizada, presentando como ventaja el uso racional del agua, ya que el volumen de recambio es menor al utilizado en sistemas abiertos de acuicultura (Jiménez *et al.*, 2012; Dauda *et al.*, 2019). Así mismo, y de acuerdo con Pedersen *et al.*, (2012), los RAS tienen el potencial de reducir los impactos ambientales de la acuicultura en comparación con los sistemas de flujo abierto, tradicionalmente utilizados los cuales

requieren en promedio 30 m³ de agua nueva al año por cada kilogramo de trucha cultivada, mientras que los RAS, dependiendo sus nivel de intensidad, fluctúan entre 0,3 y 3 m³ kg_{pez}⁻¹ año⁻¹ y el grado de recirculación fluctúa entre 95,9 y 99,6% del volumen reciclado por hora (Bregnaballe *et al.*, 2015). Los desechos del proceso de cultivo pueden ser manejados de mejor manera, disminuyendo el impacto sobre los cuerpos receptores de las aguas residuales. Así, los gases y sólidos suspendidos, producto del proceso metabólico del cultivo, son extraídos durante el proceso de recirculación. El oxígeno consumido también se incorpora al sistema manteniéndose el balance de nutrientes que favorece el crecimiento y desarrollo de los organismos objeto, además de mayores densidades en los sistemas de cultivo (Fig. 1).



Figura 1. Ciclo de un sistema de recirculación acuícola (RAS). Fuente: elaboración propia

La implementación de un RAS implica necesariamente el monitoreo y manejo de los parámetros fisicoquímicos del agua, permitiendo con ello que los organismos cultivados presenten mejores tasas de crecimiento, sobrevivencia y conversión alimentaria (Jiménez *et al.*, 2012; Midilli *et al.*, 2012). No obstante, estas mejoras solo se cumplen si el proceso de depuración del agua es completo, de lo contrario la presencia de compuestos nitrogenados (amonio, nitrito y nitrato), que van acumulándose provocan toxicidad, disminución del tamaño corporal, aumento de la mortalidad, comportamientos anormales y deformidades esqueléticas en peces (Davidson *et al.*, 2011-2014; Martins *et al.*, 2009; Van Bussel *et al.*, 2012). Una solución a este problema sería utilizar elevadas tasas de recambio de agua por masa de alimento suministrado, aumentando con ello la corriente de desechos que se libera al ambiente. Sin embargo, esto es una solución insostenible, considerando la escasez del recurso hídrico y las limitaciones que se visualizan para el uso de agua dulce en el futuro (Martins *et al.*, 2009; Pulkkinen *et al.*, 2018).

En este contexto, la manera más efectiva para evitar los efectos indeseados asociados a la liberación de aguas residuales y disminuir la demanda de agua de recambio es controlar mediante sistemas de tratamiento los nutrientes residuales que se acumulan en el RAS. Por este motivo, el tratamiento biológico de nitrificación “Biofiltros nitrificadores”, ha sido el método más factible en la reutilización del agua. Este proceso consiste en un sistema de filtración biológica instalado en la línea de agua recirculada (Fig.1), en el que se mantienen bacterias aerobias que favorecen el proceso de nitrificación, y opcionalmente, anaerobias para el proceso de desnitrificación (Van Rijn, 2013). Estas bacterias utilizan NH₄⁺ como fuente energía, además de metabolizar y convertir el nitrógeno a formas menos tóxico o gaseoso, con lo que se disminuye la acumulación de nutrientes residuales de los compuestos nitrogenados. No obstante, el metabolismo de los peces también produce otros nutrientes residuales como fosfato (Dauda *et al.*, 2019), que no son convertidos por los biofiltros nitrificadores, por lo tanto, se acumulan en el RAS y sólo son controlados por

dilución en cada recambio de agua.

Las bacterias nitrificantes son principalmente autótrofos obligados, que utilizan dióxido de carbono como fuente primaria de carbono y requieren oxígeno para crecer (Hagopian y Riley, 1998). Los principales factores que afectan la nitrificación son la concentración de amoníaco-nitrógeno y nitrito-nitrógeno, la relación carbono/nitrógeno, la concentración de oxígeno disuelto, el pH y la temperatura.

En el proceso de nitrificación que se representa con la ecuación 1, se consume una significativa cantidad de oxígeno y compuestos basicantes como CaCO_3 (7,05 g / g N) y se producen gran cantidad de dióxido de carbono (5,85 g CO_2 /g TAN^1) Ebeling *et al.*, (2009). Para el agua con baja alcalinidad inicial, esto puede ser un problema significativo, ya que requeriría de la adición de compuestos basicantes en forma de bicarbonato de sodio, cal o hidróxido de sodio para mantener una concentración entre 100 a 150 mg/L como CaCO_3 , adecuada especialmente para RAS (Timmons *et al.*, 2009; Bregnballe, 2015; Summerfelt *et al.*, 2015; Boyd *et al.*, 2016).

Ecuación 1:



Además de los biofiltros nitrificadores, se han reportado otros métodos como ósmosis inversa y tecnología electroquímica para el control de las concentraciones de nutrientes (Qin *et al.*, 2005; Gupta *et al.*, 2015). No obstante, su alto requerimiento de energía es un inconveniente, aumentando tanto en los costos operativos como en los posibles impactos por el uso de combustibles fósiles. Adicionalmente, se han utilizado sistemas de humedales e hidropónicos de plantas superiores a modo de control de aguas residuales acuícolas (Sindilariu *et al.*, 2008; Vymazal, 2009; Goddek *et al.*, 2019).

A pesar de las ventajas antes mencionadas, los biofiltros nitrificantes presentan inconvenientes que incluyen; disminución en la concentración de oxígeno disuelto, aporte de CO_2 , consumo de alcalinidad, dificultad de retroenjuague, acumulación de materia orgánica y reservorio de microorganismos no deseados. Las bacterias ocupadas en los biofiltros actuales son selectivas y pueden disminuir la concentración de un residuo específico a la vez por reactor, teniendo que aumentar el tamaño de la planta de tratamiento y la energía requerida para depurar otros compuestos presentes en el agua residual (Mook *et al.*, 2012).

MICROORGANISMOS PARA EL CONTROL DE DESECHOS

La FAO define a las aguas residuales como aquellas que no tienen valor inmediato para el fin para el que se utilizó ni para el propósito para el que se produjo debido a su calidad, cantidad o al momento en que se dispone de ella². Sin embargo, las aguas residuales de un usuario pueden servir de suministro para otro usuario en otro lugar. Por lo general, las aguas residuales pueden contener grandes cantidades de desechos orgánicos e inorgánicos metabolizables por microorganismos heterótrofos demandantes de oxígeno (DBO), organismos patógenos, nutrientes como nitrógeno y fósforo, compuestos inorgánicos y sedimentos (Sonune y Ghate, 2004) y difieren su composición según fuente de origen, fluctuando entre < 1 mg/l a más de 650 mg/l de $\text{NH}_4\text{-N}$ (Timmons *et al.*, 2009; De Godos *et al.*, 2009; González-Fernández *et al.*, 2011).

Una alternativa para manejar y controlar los nutrientes de desecho, es utilizar organismos que consuman nutrientes producidos en los procesos de acuicultura. En ese contexto, es conocido que las plantas acuáticas, macro y microalgas eliminan con eficacia una variedad de nutrientes-contaminantes (Apandi *et al.*, 2019), tales como nitrógeno, fosfato, ácidos volátiles grasos, compuestos farmacéuticos, colorantes textiles, y metales pesados (Wang *et al.*, 2012), convirtiéndolas en una posibilidad real para la eliminación de

¹ En agua, el amoníaco existe en dos formas: amoníaco no ionizado, NH_3 , y amonio ionizado, NH_4^+ . La concentración relativa de cada una de estas formas está en función del pH, temperatura y salinidad (Anthonisen *et al.*, 1976). La suma de NH_4^+ y NH_3 , generalmente se define como total amonio nitrogenado (TAN) o simplemente amoníaco (Ebeling *et al.*, 2006).

² Food and Agriculture Organization of the United Nations, AQUASTAT Web Site

nutrientes del agua residual urbana (Bashan y Bashan, 2010; Calicioglu y Demirer, 2017), industrial (Bordel *et al.*, 2009; Wu *et al.*, 2017) y agrícola (Markou y Georgakakis, 2011; Jayakumar *et al.*, 2017). Algunas de las especies estudiadas pertenecen a los géneros *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Tetraselmis*, *Dunaliella*, *Tribonema*, *Ascochloris*, *Desmodesmus*, *Chalymondomonas*, *Coelastrum*, *Parachlorella* y *Asterarcys*, con especies que pueden utilizar en su crecimiento diferentes compuestos de nitrógeno tales como amonio, nitrato o urea, además de fósforo (Ruiz, 2011; Ayesha *et al.*, 2020).

En los efluentes de acuicultura, los elementos que pueden servir como nutrientes para las microalgas están relacionados con la alimentación de la especie en cultivo, siendo el nitrógeno y el fósforo los de mayor incidencia. Estos elementos se presentan en forma semisólida (heces fecales) y disuelta (orina). Piedrahita (2003) indica que los excrementos fecales de los peces contienen entre 3,6% – 35% N y 15% – 70% P, mientras que la cantidad de N y P, como productos excretados sería de 37% – 72% y 1% – 62%, respectivamente (tabla 1). Por otro lado, Lin *et al.*, (2002) y Guo *et al.*, (2013) plantean que los rangos de nutrientes pueden fluctuar en términos de concentración entre 0,12-14,7 mg/L de NH_4^+ , 0,02-1,5 mg/L de NO_2^- , 0,01-5,3 mg/L de NO_3^- y 3,1-17,7 mg/L de PO_4^{3-} . Así mismo, las aguas residuales de la acuicultura contienen relativamente pocos microorganismos patógenos (Abdel-Raouf *et al.*, 2012), haciéndola adecuada como medio de cultivo para las microalgas. No obstante, aún se requieren estudios detallados del impacto de los factores bióticos y abióticos en las microalgas para alcanzar el potencial completo como sistema de depuración (Ayesha *et al.*, 2020).

Tabla 1. Tasas de retención y excreción de nitrógeno y fósforo expresado como porcentaje (%) del alimento consumido (Piedrahita, 2003; Dauda *et al.*, 2019).

Retenido como tejidos		No digerido en heces fecales (partícula)		Excretado (forma disuelta)		Especie	Referencia
N	P	N	P	N	P		
49	36	14	55	37	9	<i>Salmón Atlántico</i>	Johnsen <i>et al.</i> (1993); Bergheim y Asgard (1996).
	17-19		48-54		28-34	<i>Salmón Atlántico</i>	Holby y Hall (1994).
11	32					<i>Carpa</i>	Avnimelech y Lacher (1979).
27	30					<i>Bagre de Canal</i>	Boyd (1985).
10	40	35	15	55	45	<i>Lubina</i>	Lemarie <i>et al.</i> (1998).
30		10		60		<i>Besugo</i>	Porter <i>et al.</i> (1987).
19-26						<i>Besugo</i>	Krom <i>et al.</i> (1995).
30		13		57		<i>Trucha arcoíris</i>	Beveridge <i>et al.</i> (1991)
25	30	15	70	60	0	<i>Trucha arcoíris</i>	Hakanson (1988); Pillay (1992)
21-22	18,8	3,6-5,4	19-22	59-72	60-62	<i>Híbrido de tilapia</i>	Siddiqui y Al-Harbi (1999).

Los principales nutrientes requeridos para el crecimiento de microalgas son el carbono, nitrógeno y fósforo. Gonçalves *et al.*, (2017) indica que, dado que las aguas residuales presentan concentraciones considerables de estos nutrientes, varios estudios han reportado el potencial de crecimiento de microalgas en aguas residuales de diferentes fuentes, tanto domésticas, como agrícolas e industriales. Dichos estudios

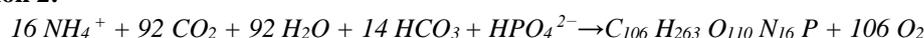
han revelado que el uso de aguas residuales para el cultivo de microalgas promueve un tratamiento eficaz de estas aguas; las eficiencias reportadas sobre la eliminación de nitrógeno y fósforo alcanzan a 60 – 99% y 54 – 95%, respectivamente. Simultáneamente, contribuyen a la producción de biomasa de microalgas a costos reducidos, con menores impactos ambientales ya que no se requiere suministro de nutrientes (Boelee *et al.*, 2011; Park *et al.*, 2011; Silva-Benavides y Torzillo, 2012). El cultivo de microalgas en aguas residuales atrae, además, la atención de los investigadores, puesto que a largo plazo el uso de fertilizantes sintéticos como fuente de nutrientes se volverá insostenible. Sin embargo, hasta ahora sólo alrededor del 30% de los trabajos publicados se refieren al uso de aguas residuales como medio nutricional para las microalgas, mientras que el 70% restante plantea el uso de fertilizantes sintéticos como fuente de nutrientes para el cultivo de las microalgas (Gonçalves *et al.*, 2017).

Por otra parte Xifan *et al.*, (2020), concluyen sobre la importancia de las microalgas para la eliminación de nutrientes de las aguas residuales de acuicultura ya que estas pueden, además de disminuir la concentración de N y P, producir biomasa para la alimentación acuícola (Rawat *et al.*, 2011) y con ello aportar al círculo virtuoso de la economía circular³.

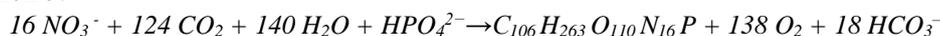
Sin embargo, una de las limitaciones del uso de microalgas para el tratamiento de aguas en acuicultura es el volumen necesario de los reactores, requiriéndose vastas extensiones de terreno como es el caso de lagunas de estabilización, o sistemas de lagunaje de alta carga “HRAP”. En dicha perspectiva, Pagand *et al.*, (2001) determinaron que se requiere, en la mejor de las condiciones operativas, 150 m² de laguna para tratar los residuos producidos por el cultivo intensivo de 1 ton de *Dicentrarchus labrax*. Estos sistemas que son planteados como canales de poca profundidad, que poseen sistemas mecánicos de mezclado, dificultan y aumentan el costo de la separación de la biomasa generada del agua depurada (Olguín, 2003; Molazadeh *et al.*, 2019). Por otro lado, para una efectiva eliminación de nutrientes son necesarias altas productividades de biomasa fotosintética, así como la selección de microalgas que soporten las condiciones del medio y los posibles contaminantes (Ruiz, 2011). El uso exclusivo de microalgas para el tratamiento de aguas residuales presenta problemas de olor, prolongados tiempo de retención hidráulica y limitada transmisión de luz (De Pauw y Van Vaerenbergh, 1983).

Los procesos de tratamiento que utilizan organismos fotoautótrofos pueden ser representados como muestran las siguientes relaciones estequiométricas (Stumm, 2012), donde las fuentes de nitrógeno pueden ser NH₄⁺-N o nitrato, ecuaciones 2 y 3 respectivamente. C₁₀₆ H₂₆₃ O₁₁₀ N₁₆ P representa la fórmula química para las microalgas (Ebeling *et al.*, 2006).

Ecuación 2:



Ecuación 3:



Según lo anterior, y considerando que las microalgas metabolizan 1 g de NH₄⁺ se consume 3,13 g Alk/g de NH₄⁺ y 4,02 g Alk / g de NO₃⁻, respectivamente. Así también, por cada gramo de NH₄⁺ convertido en biomasa de algas, se consumen 18,07 g CO₂ / g NH₄⁺ y se usan 24,4 g CO₂ / g NO₃⁻. De manera correspondiente, se producen 15,14 y 19,7 g de O₂, respectivamente, por gramo de NH₄⁺ y por gramo de NO₃⁻. Finalmente, se genera una cantidad importante de biomasa microalgal, 15,85 g por gramo de NH₄⁺ o por cada gramo de NO₃⁻ metabolizado. Cabe destacar que el mayor consumo de carbono inorgánico que utilizan las microalgas corresponde a la fuente de CO₂ y alcalinidad, con 4,93 y 0,75 g, respectivamente (Ebeling *et al.*, 2006).

Por otra parte, la eliminación de P se puede realizar mediante un proceso mejorado de eliminación de fósforo biológico utilizando organismos acumuladores de polifosfato bajo condiciones anaerobias-aerobias (Cokro *et al.*, 2017). Sin embargo, Hernández-García, *et al.* (2019) lograron la eliminación del 82% de

³ <https://economipedia.com/definiciones/economia-circular.html>

NH_4^+ y 43% de ortofosfato de una mezcla de aguas residuales y lixiviados, que contenía 167 mg/L de NH_4^+ y 23 mg/L de PO_4^{3-} , empleando tan sólo la especie de microalga *Desmodesmus spp.*

El cultivo de microalgas para tratamiento de aguas residuales se puede realizar en sistemas de células suspendidas o inmovilizadas (Gómez-Serrano *et al.*, 2015; Hoffman, 1998), siendo el más común el suspendido (Pires *et al.*, 2013). No obstante, la desventaja de utilizar algas en suspensión es la contaminación secundaria causada por la reinoculación entre cosechas, esto puede representar entre 60 a 90% de la demanda biológica de oxígeno (DBO) del efluente (Shengbing y Gang, 2010).

Para superar los problemas asociados a la recolección de microalgas que requiere mucho tiempo y energía, se han reportado sistemas de cultivo basados en la inmovilización celular (Pires *et al.*, 2013; Shengbing y Gang, 2010). Según Tampion y Tampion, (1987), una célula inmovilizada consiste en una célula que, por medio de técnicas naturales o artificiales, no puede desplazarse independientemente de sus vecinos. La inmovilización natural o pasiva se produce a través de la capacidad innata de las células de microalgas para adherirse a una superficie específica lo que resulta en la formación de una biopelícula (Gonçalves *et al.*, 2017). Los métodos más comúnmente utilizados para la inmovilización de microalgas incluyen el encapsulamiento de células en una matriz polimérica, como alginato y carragenano, entre otros, y también la adhesión celular con formación de biopelícula en una superficie sólida (Mallick, 2002; Eroglu *et al.*, 2015; Hameed y Ebrahim, 2007; Christenson y Sims, 2011). No obstante, los altos costos asociados a la matriz de inmovilización pueden ser un factor limitante cuando el objetivo es procesar grandes cantidades de aguas residuales (Gonçalves *et al.*, 2017).

El crecimiento de microalgas puede ser influenciado por varios factores, tanto bióticos como abióticos. Los bióticos incluyen la presencia de patógenos, como bacterias, hongos y virus, y la competencia interespecífica mientras que los factores abióticos incluyen la luz (calidad y cantidad), la temperatura, pH, salinidad, perfiles cualitativos y cuantitativos de nutrientes, concentración de oxígeno disuelto y la presencia de compuestos tóxicos. Además, el crecimiento de la microalga puede verse afectado por las condiciones operativas, como el tiempo de residencia hidráulica, la tasa de recolección, la transferencia de gas y la mezcla, ya que estos parámetros controlan la disponibilidad de CO_2 , las tasas de corte y la exposición a la luz (Yen *et al.*, 2013; Kumar *et al.*, 2010).

CONSORCIOS MIXÓTROFOS

En virtud de la complejidad del mantenimiento de monocultivos en estos bioprocesos de eliminación de nutrientes de diferentes aguas residuales, varios estudios reportan las ventajas del uso de consorcios de microalgas en cultivo (Muñoz y Guieysse, 2006; Subashchandrabose *et al.*, 2011; González-Fernández *et al.*, 2011; He *et al.*, 2013; Wilkie y Mulbry, 2002). Estos consorcios pueden ocurrir naturalmente en el medio ambiente o ser generados artificialmente, por combinación de microorganismos que no necesariamente coexisten, para un propósito específico.

Entre las diferentes posibilidades de consorcios que se pueden establecer, las más utilizadas para el tratamiento de aguas residuales incluyen los consorcios de microalgas, que están constituidos exclusivamente por microorganismos fotosintéticos (eucariotas y/o procarióticos), y los consorcios de microalgas y bacterias, que están constituidos por microorganismos fotosintéticos y bacterias heterótrofas (Gonçalves *et al.*, 2017). Las especies de microalgas y bacterias que forman el consorcio pueden presentar interacciones, tanto competitivas como cooperativas las cuales han sido ampliamente reportadas (Muñoz *et al.*, 2005; Unnithan *et al.*, 2014; Fukami *et al.*, 1997; Natrah *et al.*, 2014). Varios estudios han reportado que la excreción de metabolitos de microalgas presenta un efecto bactericida, afectando el crecimiento bacteriano (Natrah *et al.*, 2014; Kellam y Walker, 1989; Najdenski *et al.*, 2013). Por otro lado, también se ha reportado que las microalgas pueden servir como un hábitat para las bacterias, protegiéndolas de condiciones ambientales adversas, mejorando el crecimiento bacteriano a través de la liberación de metabolitos extracelulares (Unnithan *et al.*, 2014). Mandal *et al.*, (2011) han demostrado que las sustancias poliméricas extracelulares producidas por la microalga *Amphidinium carterae* estimulan el crecimiento de *Bacillus pumilus*.

Por otra parte, es conocido también que al aumentar el crecimiento de microalgas, se aumentan las tasas de absorción de nutrientes. El estudio realizado por De-Bashan *et al.*, (2002 y 2004), donde se co-cultivó *Azospirillum brasilense* con *Chorella vulgaris* y *C. sorokiniana* en esferas de alginato, observó una mejora en el crecimiento de microalgas y la eliminación de nitrógeno y fósforo de las aguas similares a residuales municipales. Además de la eficiencia en la eliminación de nutrientes, estos sistemas pueden aventajar a los procesos actuales de tratamiento de aguas residuales ya que pueden reducir significativamente los costos incorporados a la oxigenación de los tanques de lodos activados; y los efectos invernadero asociados a plantas de tratamiento de aguas residuales pueden considerarse despreciable, ya que el CO₂ liberado por las bacterias se convierte en la materia orgánica por microalgas (De Godos *et al.*, 2009).

Teniendo en cuenta los intercambios de CO₂/O₂ observados en estos consorcios y los efectos beneficiosos asociados, el concepto de "algas activadas" (Tiron *et al.*, 2015) se ha convertido en una estrategia atractiva para la eliminación de nutrientes de las aguas residuales, combinando los pasos de tratamiento secundario y terciario en un solo proceso (McGriff y McKinney, 1972; Gonçalves *et al.*, 2017).

En la misma perspectiva Shen *et al.*, (2017) co-inmovilizaron en esferas de alginato la bacteria *Pseudomonas putida* y la microalga *Chlorella vulgaris* para el tratamiento de aguas residuales en condiciones de cultivo discontinuo y continuo, registrándose para el primero un aumento significativo de la densidad celular de *C. vulgaris* y *P. putida* en comparación con los controles, además de una mayor eliminación de amonio, fosfato y DQO que cualquier tratamiento individual de las especies señaladas. Estas observaciones indican que la utilización de nutrientes por *C. vulgaris* y *P. putida* mejoraron para ambas en situación de cohabitación. Mutjaba y Lee, (2017) experimentaron con *C. vulgaris* inmovilizada e inoculando con lodos activados a diversas proporciones, obteniendo rendimientos en la depuración de nitrógeno entre un 66 y 95% a las 24 y 84 horas, respectivamente; mientras que el fósforo se eliminó por completo a las 24 horas del cocultivo con relaciones de inóculo de 0,5 y 1, lo que sugiere que existe una relación óptima de inóculo para lograr un rendimiento eficiente en la eliminación de nutrientes. Wu *et al.*, (2019), también reportaron la ventaja de la inmovilización de microalgas en una matriz polimérica, ya que en esta se pudo mantener una gran densidad de células de algas en el reactor, mejorando la tolerancia de las microalgas a altas concentraciones de nitrógeno amoniacal, acelerando así la velocidad y la capacidad de tratamiento. En este estudio se inmovilizó *C. vulgaris* en alginato y Biochar⁴, el cual posee una estructura porosa de gran superficie específica y una excelente biocompatibilidad, logrando una remoción en torno al 66,7% a los 8 días, con concentraciones iniciales de entre 40 y 160 mg NH₄⁺/L. Agregado a lo anterior, la inmovilización de microalgas representa una solución a los altos costos de recolección en los sistemas suspendidos (Xifan *et al.*, 2020).

La fitodepuración mixotrófica (FDM) corresponde a la integración de dos tecnologías de tratamiento terciario de aguas residuales, la biofiltración a partir de bacterias autotróficas y la fitodepuración (fotoautótrofas) (Fig.2). La primera técnica es utilizada en la acuicultura intensiva y la otra ha sido ampliamente utilizada en la depuración de aguas residuales domésticas. Este bioproceso mixotrófico ha sido objeto de estudio para la generación de biogás a escala de laboratorio en Bélgica (Van Den Hende, 2011), para la producción de proteínas a partir de desechos agrícolas (Salatia *et al.*, 2017) y para tratamientos de agua residuales de diverso origen (Wang *et al.*, 2012; Mitra *et al.*, 2012). Sin embargo, y a excepción de la aproximación realizadas por Ramli *et al.*, (2018) y Del Canto, (2019), no se registran precedente de su uso en depuración de aguas residuales de acuicultura, ni se ha estudiado el impacto económico que tendría la utilización de este bioproceso respecto del tratamiento convencional a nivel industrial. Adicionalmente, se sugiere que esta tecnología podría tener un importante efecto de reducción de la huella de carbono, debido a la disminución de la demanda de energía para mantener la aireación en los procesos convencionales y la reducción de las emisiones de CO₂ por la presencia de las bacterias heterotróficas (Cakir y Stenstrom, 2005).

⁴ *Biochar* (de origen inglés, a partir de *bio-* y *charcoal*, "carbón vegetal"; también llamado 'biocarbón' en español) es el nombre que recibe el carbón vegetal cuando es empleado como enmienda para el suelo. Es decir, es biomasa de origen vegetal procesada por medio de la pirolisis.

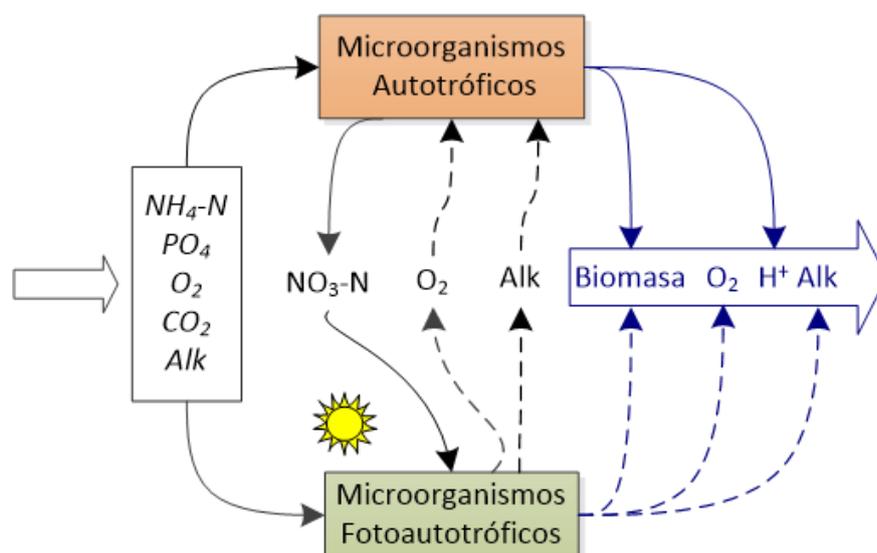


Figura 2. Modelo Mixotrófico. Fuente: Elaboración propia

En estos consorcios de bacterias y microalgas para el tratamiento de aguas residuales de acuicultura, el CO_2 producido por las bacterias se convierte en biomasa microalgal, mientras que el O_2 liberado por la fotosíntesis aumenta los niveles de oxígeno disuelto en el agua (Fig. 2) evitando el uso de gasificadores, como ocurre en el caso de los reactores nitrificantes. En el biorreactor, este O_2 es utilizado por bacterias nitrificantes para la biodegradación aeróbica de compuestos orgánicos, cerrando el ciclo. En consecuencia, la absorción de CO_2 por la biomasa fotosintética aumenta el rendimiento de biomasa final (Muñoz *et al.*, 2005). Dado que el contenido de nitrógeno en las microalgas puede alcanzar hasta el 60% de su peso seco (Hedges *et al.*, 2002), se puede conseguir una reducción adicional en la concentración de compuestos nitrogenados del efluente en los procesos de nitrificación y nitración, además de evitar el proceso anaeróbico de desnitrificación -que requiere una fuente externa de carbono orgánico, ej. metanol- ya que el uso de compuestos nitrogenados queda retenido en la biomasa microalgal. Del Canto, (2019) experimento en un sistema mixotrófico utilizando aguas residuales sintética y proveniente como de un cultivo de truchas, obtuvo depuraciones en torno al 100% para nitrato, fosfato y amonio, a partir de concentraciones iniciales máximas de 13,7 mg/L, 18 mg/L y 0,72 mg/L, a las 48 de iniciado el proceso, respectivamente.

Por otra parte, Know *et al.*, (2020) reportaron beneficios y desventajas de utilizar un modelo mixotrófico con más de una especie de microalgas, al observar que la actividad de los nitrificadores fue inhibida significativamente por la luz. Sin embargo, el efecto inhibitorio de la luz sobre los nitrificadores se compensa en el cocultivo, consumiendo menos potencia que el del cultivo de bacterias aireadas mecánicamente. Así, el cocultivo logró una nitrificación completa sin aireación forzada, independientemente de las especies de microalgas utilizadas.

A los beneficios de la utilización de los sistemas mixotróficos mencionados anteriormente, se suma la obtención de un producto intermediario para producir biofertilizantes (Mulbry *et al.*, 2005), biomasa de microalgas para alimentación en acuicultura, ganado y aves de corral (Guo *et al.*, 2013; Maisashvili, 2015), biogás (Muñoz *et al.*, 2005; Van Den Hende *et al.*, 2011) y biodiesel (Guo *et al.*, 2013), entre muchas otras aplicaciones comerciales. De tal manera que se realiza, la construcción de una forma de desarrollo económico con un producto que logra compatibilizar la protección del medio ambiente, apelando a la producción sustentable de la industria acuícola.

FITODEPURACIÓN MIXOTRÓFICA EN RAS

A pesar de las interesantes propiedades y amplio uso para los consorcios mixotróficos en la recuperación de aguas contaminadas, en la práctica su evaluación se enmarca solo en aguas residuales municipales e industriales, utilizando en ello preparaciones sintéticas que no guardan relación con las condiciones a las

que se verían sometidos los sistemas de tratamientos a que apuntan. Lo anterior no escapa a los escasos reportes donde se han evaluado las interacciones de microalgas y bacterias en acuicultura de agua dulce, específicamente en sistemas de recirculación (RAS).

Los RAS son cada vez más importantes debido a la limitación de la tierra y de agua para realizar las actividades de acuicultura y a su capacidad para minimizar el impacto ambiental, Badiola *et al.*, (2012) y Ramli *et al.*, (2017) cuantificaron el efecto de la microalga *Stigeoclonium nanum* inmovilizada en alginato, sobre el crecimiento y depuración de aguas residuales de un RAS. Los resultados mostraron un crecimiento de algas significativamente mayor que en suspensión, así como también la eliminación del total de amonio nitrogenado (TAN). Así mismo, la depuración de TAN por *S. nanum* inmovilizada fue significativamente más eficiente que el abatimiento de NO₃-N. Luego, Ramli *et al.*, (2018), evaluaron el efecto de las microalgas en RAS sobre la calidad del agua y la comunidad bacteriana, logrando establecer que las concentraciones de amoníaco no resultaron significativamente diferentes entre RAS con y sin microalgas; pero, nitrito, nitrato y fosfato fueron significativamente más bajos en RAS con microalgas que sin ellas.

CONCLUSIONES Y PROYECCIONES FUTURAS

La acuicultura intensiva, específicamente el cultivo de peces, se encuentra en un continuo proceso de cambio tecnológico. Este proceso se debe entre otros, al agotamiento de recursos hidrobiológicos, a un mercado consumidor cada vez más exigente y empoderado respecto al cuidado del medio ambiente, privilegiando producto que respeten el entorno en donde se desarrolla la actividad de cultivo. A lo anterior se agrega el cambio climático, manifestado en el aumento de la temperatura, escases hídrica y modificación del entorno natural. Todas estas forzantes generan la necesidad de dar respuesta rápida y efectiva, generando conocimiento y desarrollo tecnológico acorde.

La fitodepuración mixotrofica, podría ser utilizada como un eficiente sistema de tratamiento de agua residuales de RAS. Los antecedentes recopilados plantean una serie de virtudes como la integración de varios procesos unitarios, la producción de biomasa valorizada, disminución del impacto ambiental y generación de economía circular a partir de los desechos orgánicos. No obstante y a pesar que varios estudios se han aplicado exitosamente consorcios de microalgas y bacterias en la eliminación de nutrientes de diferentes flujos de aguas residuales, se requiere más investigación en este campo para la optimización de los parámetros de cultivo en unidades a gran escala y el desarrollo de modelos matemáticos confiables que describan correctamente y predigan el comportamiento de estos consorcios en determinados sistemas y condiciones operativas, como lo desarrollado por Andreotti *et al.* (2019), quienes simulan cocultivos de microalgas-bacterias en fotobiorreactores y estanques de microalgas de alta tasa, pronosticando el rendimiento en función de los procesos de diseño, optimización y control del sistema.

AGRADECIMIENTOS

Quisiéramos agradecer a la Dra. Teresita Marzialetti del Dpto. Ingeniería Química de la Universidad de Concepción, Chile, Dr. Juan José Gallardo del Dpto. Ingeniería Química de la Universidad de Almería, España y Dr. Ricardo Saavedra de Ingeniería y Bionegocios FDM Spa, Chile, por sus aportes, ideas y aliento para concretar la revisión. Así también agradecer al equipo académico de programa de Magister en Innovación en Biociencias y Bioingeniería de la Universidad San Sebastián, Concepción, Chile, por el apoyo metodológico del manuscrito.

REFERENCIAS

- Abdel-Raouf N., Al-Homaidan A.A., Ibraheem I.B.M (2012). Microalgae and wastewater treatment. *Saudi Journal of Biological Sciences* 19, 257-275.
- Andreotti V., Solimeno A., Chindris A., Marazzi F., García J. (2019). Growth of *Tetraselmis suecica* and *Dunaliella tertiolecta* in aquaculture wastewater: numerical simulation with the BIO_ALGAE model. *Water Air Soil Pollut.* 230 (3). DOI: <https://doi.org/10.1007/s11270-019-4122-0>.

- Anthonisen A.C., R.C. Loehr, T.B.S. Prakasam, E.G. Srinath (1976). Inhibition of nitrification of ammonia and nitrous acid. *Journal Water Pollution Control Federation*, 48 (5), pp. 835-852.
- Apandi N.M., Mohamed, R., Al-Gheethi A., Gani P., Ibrahim A., A.H. Kassim (2019). Microalgal biomass production through phycoremediation of fresh market wastewater and potential applications as aquaculture feeds. *Environmental Science and Pollution Research*, 26: 3226-3242.
- Avnimelech Y., M. Lacher (1979). A tentative nutrient balance for fish ponds *Israeli Journal of Aquaculture Bamidgah*, 31: 3-8.
- Ayesha S., S. Malik, H. Zhu, J. Xu, M Z. Nawaz, S. Nawaz, Md. A. Alam, M. A. Mehmood (2020). Cultivating microalgae in wastewater for biomass production, pollutant removal, and atmospheric carbon mitigation; a review. *Science of the Total Environment* 704. 135303. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135303>.
- Badiola M., Mendiola D., and Bostock J. (2012). Recirculating aquaculture systems (RAS) analysis: Main issues on management and future challenges. *Aquacultural Engineering*. 51: 26-35. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2012.07.004>.
- Bartoli M., Nizzoli D., Naldi M., Vezzulli L., Porrello S., Lenzi M., Viaroli P. (2005). Inorganic nitrogen control in wastewater treatment ponds from a fish farm (Orbetello, Italy): Denitrification versus Ulva uptake. *Marine Pollution Bulletin* 50.
- Bashan L., Bashan Y. (2010). Immobilized micro algae for removing pollutants: Review of practical aspects. *Bioresource Technology* 101:1611-1627.
- Bergheim A., T. Asgard (1996). Waste production in aquaculture. D.J. Baird, M.C.M. Beveridge, L.A. Kelly, J.F. Muir (Eds.), *Aquaculture and water resource management*, Blackwell Science, Oxford, pp. 50-80.
- Beveridge M.C.M., M.J. Phillips, R.M. Clarke (1991). A quantitative and qualitative assessment of wastes from aquatic animal production D.E. Brune, J.R. Tomasso (Eds.), *Aquaculture and water quality*, *World Aquaculture Society*, Baton Rouge, LA, pp. 506-533.
- Boelee N., Temmink H., Janssen M., Buisman C., Wijffels R. (2011). Nitrogen and phosphorus removal from municipal wastewater effluent using microalgal biofilms, *Water Research*, 45: 5925-5933.
- Bordel S., Guieysse B., Muñoz R. (2009). Mechanistic Model for the Reclamation of Industrial Wastewaters Using Algal-Bacterial Photobioreactors. *Environmental Science and Technology* June. 43(9):3200-7
- Boyd C. E, C. S. Tucker, B. Somridhivej (2016). Alkalinity and Hardness: Critical but Elusive Concepts in Aquaculture. *World Aquaculture Society*, 47 (1): 6-4. <https://doi.org/10.1111/jwas.12241>.
- Boyd C. E. (1985). Chemical budgets for channel catfish ponds *Transactions of the American Fisheries Society*, 11, pp. 291-298.
- Bregnballe J. (2015). *A Guide to Recirculation Aquaculture*. Published by the Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) and EUROFISH International Organization. ISBN 978-92-5-108776-3, 95 pp.
- Calicioglu O. y G.N. Demirer (2017). Carbon-to-Nitrogen and Substrate-to-Inoculum ratio adjustments can improve co-digestion performance of microalgal biomass obtained from domestic wastewater treatment. *Environmental Technology*, 40(5): 614-624. <https://doi.org/10.1080/09593330.2017.1398784>.

- Cakir F.Y., M.K. Stenstrom (2005). Greenhouse gas production: A comparison between aerobic and anaerobic wastewater treatment technology. *Water Research*, Volume 39, Issue 17, Pages 4197-4203, ISSN 0043-1354. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2005.07.042>.
- Christenson L., Sims R. (2011). Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels, and bioproducts, *Biotechnology Advances*, 29:686-702.
- Cokro A. A., L. Yingyu, W. Rohan, C. Yeshe, N. Per. H., S. Wuertz (2017). Non-denitrifying polyphosphate accumulating organisms obviate requirement for anaerobic condition. *Water Research*, 111: 393-403, <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.01.006>.
- Crab R., Avnimelech Y., Defoirdt t., Bossier P., Verstraete W. (2007). Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. *Aquaculture* 270: 1-14.
- Dauda A.B., Ajadi A., Tola-Fabunmi A.S., Akinwole A.O (2019). Waste production in aquaculture: Sources, components and managements in different culture systems. *Aquaculture and Fisheries*. 4 (3): 81-88. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2018.10.002>.
- Davidson J., Good C., Welsh C., Summerfelt S. (2011). Abnormal swimming behavior and increased deformities in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* cultured in low exchange water recirculating aquaculture systems. *Aquacultural Engineering* 45: 109-117.
- Davidson J., Good C., Welsh C., Summerfelt S. (2014). Comparing the effects of high vs. low nitrate on the health, performance, and welfare of juvenile rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* within water recirculating aquaculture systems. *Aquacultural Engineering* 59: 30-40.
- De Godos I., González C., Becares E., García-Encina P.A., Muñoz R. (2009). Simultaneous nutrients and carbon removal during pretreated swine slurry degradation in a tubular biofilm photobioreactor, *Applied Microbiology and Biotechnology* 82: 187-194.
- De-Bashan L.E., Hernandez J.-P., Morey T., Bashan Y. (2004). Microalgae growth-promoting bacteria as "helpers" for microalgae: a novel approach for removing ammonium and phosphorus from municipal wastewater, *Water Research*, 38: 466-474.
- De-Bashan L.E., Moreno M., Hernandez J.-P., Bashan Y. (2002). Removal of ammonium and phosphorus ions from synthetic wastewater by the microalgae *Chlorella vulgaris* coimmobilized in alginate beads with the microalgae growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*, *Water Research*, 36: 2941-2948.
- Del Canto, D. (2019). Evaluación del efecto de la adición de nanofibras de celulosa en medios de alginato para fotobiorreactores de consorcios microalgales-bacterianos inmovilizados. Seminario de título para optar al título de Ingeniero en biotecnología marina y acuicultura. Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas. Universidad de Concepción, 70 pp.
- De Pauw N. y E. Van Vaerenbergh (1983). Microalgal Wastewater Treatment Systems: Potentials and Limits, Phytodepuration and the Employment of the Biomass Produced. Centro Ric. Produz, Animal, Reggio Emilia, Italy, pp. 211-287.
- Diniz, G.S., Silva, A.F., Araújo, O.Q.F., Chaloub. R.M. (2017). The potential of microalgal biomass production for biotechnological purposes using wastewater resources. *Journal of Applied Phycology*, 29:821-832. <https://doi.org/10.1007/s10811-016-0976-3>.
- Ebeling J. M., M. B. Timmons y J.J. Bisogni (2006). Engineering analysis of the stoichiometry of

- photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture* 257, 346-358. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.03.019>.
- Ebeling J. M., M. B. Timmons y J.J. Bisogni (2009). An Engineering Analysis of the Stoichiometry of Autotrophic, Heterotrophic Bacterial Control of Ammonia-Nitrogen in Zero-Exchange Marine Shrimp Production Systems. *International Journal of Recirculating Aquaculture*, 10: 63-90. <http://www.ejournals.ejournals.vtlibraries.net/ijra/article/view/1336/1814>.
- Eroglu E., Smith S.M., Raston C.L. (2015). Application of various immobilization techniques for algal bioprocesses, in: N.R. Moheimani, M.P. McHenry, K. de Boer, P.A. Bahri (Eds.), *Biomass and Biofuels from Microalgae*, Springer International Publishing, Switzerland.
- FAO (1983). *Planificación del Desarrollo de la Acuicultura*. Roma. ISBN 92-5-301506-3. <http://www.fao.org/3/x5743s/x5743s00.htm#Contents>.
- FAO (2020). *The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action*. Rome. <https://doi.org/10.4060/ca9229en>.
- Fukami K., Nishijima T., Ishida Y. (1997). Stimulative and inhibitory effects of bacteria on the growth of microalgae, *Hydrobiologia* 358: 185-191.
- Goddek S. *et al.* (2019) Decoupled Aquaponics Systems. In: Goddek S., Joyce A., Kotzen B., Burnell G.M. (eds) *Aquaponics Food Production Systems*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-15943-6_8.
- Gómez-Serrano C., Morales-Amaral M.M., Acién F.G. (2015) *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99: 6931. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6694-y>.
- Gonçalves A.L., Pires J.C.M. y M. Simões (2017). A review on the use of microalgal consortia for wastewater treatment. *Algal Research*. 24(Part B): 403-415. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.11.008>.
- González-Fernández C., Molinuevo-Salces B., García-González M.C. (2011). Nitrogen transformations under different conditions in open ponds by means of microalgae-bacteria consortium treating pig slurry, *Bioresource Technology*, 102: 960-966.
- Guo Z., Liu Y., Guo H., Yan S., Mu J. (2013). Microalgae cultivation using an aquaculture wastewater as growth medium for biomass and biofuel production. *Journal of Environmental Sciences*, 25 (Suppl.): S85-S88. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(14\)60632-X](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(14)60632-X).
- Gupta V., H. Sadegh M., Yari R., Shahryari Ghoshekandi B., Maazinejad M. Chahardori (2015). Removal of ammonium ions from wastewater A short review in development of efficient methods. *Global Journal of Environmental Science and Management*, 1(2): 149-158. <https://doi.org/10.7508/gjesm.2015.02.007>.
- Hagopian D.S y J.G. Riley (1998). A closer look at the bacteriology of nitrification. *Aquacultural Engineering*, 18:223-244. [https://doi.org/10.1016/S0144-8609\(98\)00032-6](https://doi.org/10.1016/S0144-8609(98)00032-6).
- Hakanson L. (1988). Basic concepts concerning assessments of environmental effects of marine fish farms Nordic Council of Ministers, Copenhagen.
- Hameed M., Ebrahim O. (2007). Biotechnological potential uses of immobilized algae, *International Journal of Agriculture and Biology*. 9:183-192.
- Hedges J., Baldock J., Ge'linas Y., Lee C., Peterson M., Wakeham S. (2002). The biochemical and

- elemental compositions of marine plankton: A NMR perspective. *Marine Chemistry* 78:47- 63.
- He P., Mao B., Lü F., Shao L., Lee D., Chang J. (2013). The combined effect of bacteria and *Chlorella vulgaris* on the treatment of municipal wastewaters, *Bioresource Technology*, 146:562-568.
- Hernández-García A., S.B. Velásquez-Orta, E. Novelo, I. Yáñez-Noguez, I. Monje-Ramírez, M. T. Orta Ledesma (2019). Wastewater-leachate treatment by microalgae: Biomass, carbohydrate and lipid production. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 174(15): 435-444. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.02.052>.
- Hoffman, J.P. (1998). Wastewater treatment with suspended and nonsuspended algae *Journal of Phycology*, 34(5): 757-763. <https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.1998.340757.x>. https://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=q86139d5b294e8aae.
- Holby O., P.O.J. Hall (1994). Chemical fluxes and mass balances in a marine fish cage farm. III. Silicon *Aquaculture*, 120 (3-4):305-318.
- Jayakumar S., Yusoff M.M., Rahim M.H.A., Maniam G.P. and N. Govindan (2017). The prospect of microalgal biodiesel using agro-industrial and industrial wastes in Malaysia. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*.72, 33-47. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2017.01.002>.
- Jiménez A. (2012) Sistemas de recirculación en acuicultura: una visión y retos diversos para Latinoamérica. *Revista Industria Acuicola* 8(2). Mazatlan, Sinaloa.
- Johnsen F., M. Hillestad, E. Austreng (1993). High energy diets for Atlantic salmon. Effect on pollution S.J. Kaushik, P. Luquet (Eds.), *Fish nutrition in practice*, INRA, Paris, pp. 391-401.
- Kellam S.J., Walker J.M. (1989). Antibacterial activity from marine microalgae in laboratory culture. *British Phycological Society*, 24, 191-194.
- Krom M.D., S. Ellner, J. van Rijn, A. Neori (1995). Nitrogen and phosphorus Cycling and transformations in a prototype "non-polluting" integrated mariculture system, Eilat, *Israel Marine Ecology Progress Series*, 118, pp. 25-36.
- Kumar A., Ergas S., Yuan X., Sahu A., Zhang Q., Dewulf J., Malcata F.X., Van Langenhove H. (2010). Enhanced CO₂ fixation and biofuel production via microalgae: recent developments and future directions, *Trends in Biotechnology*, 28: 371-380.
- Kwon G, T. L. Linh, J. Joeun, N. Jongchan, J. Youngho, K. Donghan, D. Jahng (2020). Effects of light and mass ratio of microalgae and nitrifiers on the rates of ammonia oxidation and nitrate production. *Biochemical Engineering Journal*, 161: 107656. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2020.107656>.
- Lemarie G., J.L.M. Martin, G. Dutto, C. Garidou (1998). Nitrogenous and phosphorous waste production in a flow-through land-based farm of European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquatic Living Resources*, 11 (4): 247-254.
- Lin Y., Jing S., Lee D., Wang T. (2002). Nutrient removal from aquaculture wastewater using a constructed wetlands system. *Aquaculture* 209:169-184. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00801-8](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00801-8).
- Maisashvili A., Bryant H., Richardson J., Anderson D., Wickersham T., Drewery M. (2015). The values of whole algae and lipid extracted algae meal for aquaculture. *Algal Research* 9:133-142.
- Mallick N. (2002). Biotechnological potential of immobilized algae for wastewater N, P and metal removal: a review, *Biometals* 15: 377-390.

- Mandal S.K., Singh R.P., Patel V. (2011). Isolation and Characterization of Exopolysaccharide Secreted by a Toxic Dinoflagellate, *Amphidinium carterae* Hulburt 1957 and Its Probable Role in Harmful Algal Blooms (HABs). *Microbial Ecology*, 62: 518-527. <https://doi.org/10.1007/s00248-011-9852-5>.
- Markou G., Georgakakis D. (2011). Cultivation of filamentous cyanobacteria (blue-green algae) in agro-industrial wastes and wastewaters: A review. *Applied Energy*, 88:3389-3401.
- Martins C., Pistrin M., Ende S., Eding E., Verreth J. (2009). The accumulation of substances in Recirculating Aquaculture Systems (RAS) affects embryonic and larval development in common carp *Cyprinus carpio*. *Aquaculture*, 291: 65-73.
- McGriff E.C., McKinney R.E. (1972). The removal of nutrients and organics by activated algae, *Water Research*. 6: 1155-1164.
- Meyen, F.J.F. (1829), Beobachtungen über einige niedere Algenformen. *Nova Acta Physico-Medica Academiae Caesareae Leopoldino-Carolinae Naturae*, 14: 768-778, pl. XLIII.
- Midilli A. Kucuk H.,r, I. Dincer (2012). Environmental and sustainability aspects of a recirculating aquaculture system. *Environmental Progress and Sustainable Energy Environ. Prog. Sustainable Energy Adnan*. <https://doi.org/10.1002/ep.10580>.
- Mitra D., J. (Hans) van Leeuwen and B. Lamsal (2012). Heterotrophic/mixotrophic cultivation of oleaginous *Chlorella vulgaris* on industrial co-products. *Algal Research*, 1(1):40-48. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2012.03.002>.
- Molazadeh M, Ahmadzadeh H, Pourianfar HR, Lyon S and Rampelotto PH (2019). The Use of Microalgae for Coupling Wastewater Treatment With CO₂ Biofixation. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 7:42. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00042>.
- Mook W., Chakrabarti M., Aroua M., Khan G., Ali B., Islam M., Abu Hassan M. (2012). Removal of total ammonia nitrogen (TAN), nitrate and total organic carbon (TOC) from aquaculture wastewater using electrochemical technology: A review. *Desalination* 285: 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2011.09.029>.
- Mulbry W., Westhead E., Pizarro C., Sikora L. (2005). Recycling of manure nutrients: use of algal biomass from dairy manure treatment as a slow release fertilizer. *Bioresource Technology* 96: 451-458.
- Muñoz R., Guieysse B. (2006). Algal-bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: a review, *Water Research*. 40: 2799-2815.
- Muñoz R., Jacinto M., Guieysse B., Mattiasson B. (2005). Combined carbon and nitrogen removal from acetonitrile using algal-bacterial bioreactors. *Applied Microbiology and Biotechnology* 67: 699-707.
- Najdenski H.M., Gigova L.G., Iliev I.I., Pilarski P.S., Lukavský J., Tsvetkova I.V., Ninova M.S., Kussovski V.K. (2013). Antibacterial and antifungal activities of selected microalgae and cyanobacteria, *International Journal of Food Science and Technology*, 48: 1533-1540.
- Natrah F.M., Bossier P., Sorgeloos P., Yusoff F.M., Defoirdt T. (2014). Significance of microalgal-bacterial interactions for aquaculture, *Reviews in Aquaculture*, 6: 48-61.
- Olguin, E.J. (2003). Phycoremediation: key issues for cost-effective nutrient removal processes. *Biotechnology Advances* 22: 81-91. [https://doi.org/10.1016/s0734-9750\(03\)00130-7](https://doi.org/10.1016/s0734-9750(03)00130-7).
- ONU (2014). Departamento de Asuntos Económicos y Sociales División de Población. La situación

- demográfica en el mundo, 2014. Nueva York.
- ONU (2019). Departamento de Asuntos Económicos y Sociales División de Población. La situación demográfica en el mundo (junio, 2019). Nueva York. https://population.un.org/wpp/Publications/Files/WPP2019_PressRelease_ES.pdf.
- Pagand P., J.P. Blancheton, J. Lemoalle, C. Casellas (2001). The use of high rate algal ponds for the treatment of marine effluent from a recirculating fish rearing system. *Aquaculture Research*. 31(10): 729-736. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2000.00493.x>.
- Park J., Craggs R., Shilton A. (2011). Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production, *Bioresource Technology*. 102: 35-42.
- Pedersen L-F, Karin I. Suhr, Johanne Dalsgaard, Per B. Pedersen, Erik Arvin, (2012). Effects of feed loading on nitrogen balances and fish performance in replicated recirculating aquaculture systems. *Aquaculture*, Volumes 338-34, Pages 237-245, ISSN 0044-8486. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.01.035>.
- Piedrahita R.H. (2003). Reducing the potential environmental impact of tank aquaculture effluents through intensification and recirculation. *Aquaculture*, 226 (1-4): 35-44. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00465-4](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00465-4).
- Pillay T.V.R. (1992). *Aquaculture and the environment* Wiley, New York.
- Pires J.C.M., Alvim-Ferraz M.C.M., Martins F.G. (2013). Wastewater treatment to enhance the economic viability of microalgae culture. *Environmental Science and Pollution Research* 20: 5096-5105. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-1791-x>.
- Porter C.P., M.D. Krom, M.G. Robbins, L. Bricknell, A. Davidson (1987). Ammonia excretion and total N budget for gilthead seabream *Sparus aurata* in marine fish-ponds and its effect on water quality conditions. *Aquaculture*, 66 (3-4): 287-297.
- Pulkkinen J., Kiuru T., Aalto S., Koskela J. and J. Vielma (2018). Startup and effects of relative water renewal rate on water quality and growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in a unique RAS research platform. *Aquacultural Engineering Elsevier* 82:38-45. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2018.06.003>.
- Qin G., Liu C., Richman N., Moncur J. (2005). Aquaculture wastewater treatment and reuse by wind-driven reverse osmosis membrane technology: a pilot study on Coconut Island, Hawaii. *Aquacultural Engineering* 32: 365-378.
- Ramli M., N., Giatsis, C., Md Yusoff, F., Verreth, J., Verdegem, M. (2018). Resistance and resilience of small-scale recirculating aquaculture systems (RAS) with or without algae to pH perturbation. *PLoS ONE*, 13(4). e0195862. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195862>.
- Ramli M., N. Verdegem, M. C. J. Yusoff, F. M., Zulkifely, M. K., Verreth, J. A. J. (2017). Removal of ammonium and nitrate in recirculating aquaculture systems by the epiphyte *Stigeoclonium nanum* immobilized in alginate beads. *Aquaculture Environment Interactions*, 9: 213-222. <https://doi.org/10.3354/aei00225>.
- Rawat I., Kumar R.R., Mutanda T., Bux, F. (2011). Dual role of microalgae: phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production. *Applied Energy*, 88 (10): 3411e3424.

- Ruiz A. (2011). Tesina: Puesta en marcha de un cultivo de microalgas para la eliminación de nutrientes de un agua residual urbana previamente tratada anaeróbicamente. Máster Universitario en Ingeniería Hidráulica y Medio Ambiente. Universidad Politécnica de Valencia. <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/12831/Ruiz%20Martinez%20Ana%20-%20Tesina%20Fin%20Master%20-%202011.pdf?sequence=1>.
- Salatia S., G. D'Imporzano, B. Menin, D. Veronesia, B. Scaglia, P. Abbruscato, P. Mariani y F. Adan (2017). Mixotrophic cultivation of *Chlorella* for local protein production using agro-food by-products. *Bioresource Technology*, 230: 82-89. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.01.030>.
- Shen Y., J. Gao, L. Lic (2017). Municipal wastewater treatment via co-immobilized microalgal-bacterial symbiosis: Microorganism growth and nutrients removal. *Bioresource Technology*, 243: 905-913. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.07.041>.
- Shengbing H. y X. Gang (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. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.02.022>.
- Siddiqui A.B., A.H. Al-Harbi (1999). Nutrient budgets in tanks with different stocking densities of hybrid tilapia *Aquaculture*, 170: 245-252.
- Silva-Benavides A.M., Torzillo G. (2012). Nitrogen and phosphorus removal through laboratory batch cultures of microalga *Chlorella vulgaris* and cyanobacterium *Planktothrix isothrix* grown as monoalgal and as co-cultures, *Journal of Applied Phycology*, 24: 267-276.
- Sindilariu P-D., Christian Wolter and Reinhar Reiter (2008). Constructed wetlands as a treatment method for effluents from intensive trout farms. *Aquaculture*, 277 (3-4):179-184. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.02.026>.
- Sonune A., Ghate R. (2004). Developments in wastewater treatment methods, *Desalination* 167, 55-63.
- Stumm, Werner (2012). *Aquatic Chemistry: Chemical Equilibria and Rates in Natural Waters*. 3rd ed. Environmental Science and Technology: A Wiley-Interscience Ser. of Texts and Monographs. Web.
- Subashchandrabose S.R., Ramakrishnan B., MegharajM., Venkateswarlu K., Naidu R. (2011). Consortia of cyanobacteria/microalgae and bacteria: biotechnological potential, *Biotechnology Advances*, 29: 896-907.
- Summerfelt S.T., A. Zühlke, J. Kolarevic, B.K. Megárd Reiten, R. Selset, X. Gutierrez, B.F. Terjesen (2015). Effects of alkalinity on ammonia removal, carbon dioxide stripping, and system pH in semi-commercial scale water recirculating aquaculture systems operated with moving bed bioreactors *Aquacultural Engineering*, 65: 46-54. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2014.11.002>.
- Tampion J., Tampion M.D. (1987). *Immobilized Cells: Principles and Applications*, Cambridge University Press, Cambridge, UK, (1987), 257 pp.
- Timmons M.B., Ebeling J.M. y Piedrahita R.H. (2009). *Acuicultura en sistemas de recirculación*, LLC Edición. Ithaca, USA: Cayuga Aqua Ventures, 959 pp.
- Tiron O., C. Bumbac, I. V. Patroescu, V. R. Badescu, and C. Postolache (2015). Granular activated algae for wastewater treatment. *Water Science and Technology*, 71(6): 832-839. <https://doi.org/10.2166/wst.2015.010>.
- Unnithan V.V., Unc A., Smith G.B. (2014). Mini-review: a priori considerations for bacterialalgae interactions in algal biofuel systems receiving municipal wastewaters, *Algal Research*, 4 (2014) 35-40.

- Van Bussel C., Schroeder J., Wuertz S. Schulz C. (2012). The chronic effect of nitrate on production performance and health status of juvenile turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture*, 326-329, 163-167.
- Van Den Hende S., Vervaeren H., Desmet S., Boon N. (2011). Biofloculation of microalgae and bacteria combined with flue gas to improve sewage treatment. *New Biotechnology*, 29(1).
- Van Rijn J. (2013). Waste treatment in recirculating aquaculture systems. *Aquacultural Engineering* 53:49-56.
- Vymazal J. (2009). The use constructed wetlands with horizontal sub-surface flow for various types of wastewater, *Ecological Engineering*, 35 (1):1-17. ISSN 0925-8574. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2008.08.016>.
- Wang H., H. Xiong, H. Zhenglong, X. Zeng (2012). Mixotrophic cultivation of *Chlorella pyrenoidosa* with diluted primary piggery wastewater to produce lipids *Bioresource Technology*, 104: 215-220. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.11.020>.
- Wilkie A.C., Mulbry W.W. (2002). Recovery of dairy manure nutrients by benthic freshwater algae, *Bioresource Technology*, 84:81-91.
- Wu Y., J. Zhang, L. Zheng, F. Haiyan, D. Zhineng, X. Yong (2019). Removal of ammonia nitrogen by biochar-alginate-jointly immobilized *Chlorella Vulgaris* [J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 13 (12): 2863- 2869. <https://doi.org/10.12030/j.cjee.201905096>.
- Wu J.-Y., Lay C.-H., Chen C.-C. and S.-Y. Wu (2017). Lipid accumulating microalgae cultivation in textile wastewater: Environmental parameters optimization. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* 79: 1–6.
- Xifan N., Muhammad Mubashar, Shi Zhang, Yufeng Qin, Xuezhi Zhang (2020). Current progress, challenges and perspectives in microalgae-based nutrient removal for aquaculture waste: A comprehensive review. *Journal of Cleaner Production*. 277: 124209.
- Yen H.-W.Y., Hu I.-C., Chen C.-Y., Chang J.-S. (2013). Design of photobioreactors for algal cultivation, in: A. Pandey, D.-J. Lee, Y. Chisti, C.R. Soccol (Eds.), *Biofuels from Algae*, Elsevier, USA, pp. 23-46.

Recibido: 08-02-2021

Aprobado: 29-04-2021

Versión final: 30-04-2021

