

Desarrollo y Aplicación de una Metodología para el diseño y construcción de un sistema de Fitorremediación de un Complejo de Recirculación Acuícola para el aprovechamiento sostenible de aguas Post-Consumo.

Janet Bibiana García Martínez.

Trabajo de Grado para Optar al Título de Doctor en Ingeniería Química.

Director

PhD. D.Sc. Viatcheslav Kafarov

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Fisicoquímica

Escuela de Ingeniería Química

Doctorado en Ingeniería Química

Bucaramanga

2023

Dedicatoria

Para Andrés Fernando y Andrés Mateo.

Tabla de Contenido

	Pág.
Introducción	10
1. Marco General	14
1.1.1. Acuicultura y Piscicultura.....	16
1.1.2. Sistemas de Recirculación Acuícola (RAS)	19
1.1.3. Las Microalgas como alternativa de tratamiento de aguas residuales	20
1.1.4. Carbono.....	23
1.1.5. Nitrógeno	24
1.1.6. Fósforo	26
1.1.7. Biorremediación y aprovechamiento de biomasa de algas en aguas de Piscicultura	30
2. Metodología	33
3. Objetivos.....	34
Objetivo General.....	34
Objetivos Específicos.....	34
4. Resultados.....	35
4.1.1. Evaluación de las condiciones de biorremediación de microalgas y cianobacterias en aguas de piscicultura.	35
4.1.2. Introducción	36
4.1.3. Metodología	38
4.1.4. Resultados.....	42
4.1.5. Conclusiones.....	56

4.1.6.	Diseño del sistema para la fitorremediación de las aguas post-consumo de un sistema de producción acuícola.	57
4.1.7.	Introducción	57
4.1.8.	Metodología	58
4.1.9.	Resultados	61
4.1.10.	Conclusiones	71
4.1.11.	Análisis de ciclo de vida del diseño propuesto	71
4.1.12.	Introducción	71
4.1.13.	Metodología	77
4.1.14.	Resultados	78
4.1.15.	Conclusiones	86
	Conclusiones	88
	Recomendaciones	90
	Principales publicaciones obtenidos en la tesis	91
	Referencias.....	96

Lista de Tablas

	Pág.
Tabla 1 <i>Revisión bibliográfica de la biorremediación de aguas residuales con microalgas</i>	28
Tabla 2 <i>Diseño de experimentos para el análisis de la relación C/N/P</i>	41
Tabla 3 <i>Caracterización Físicoquímica del agua residual</i>	42
Tabla 4 <i>Variables evaluadas para la concentración óptima de biomasa en ambas cepas.</i>	47
Tabla 5 <i>Variables de concentración de biomasa y proteínas en Chlorella sp. (CHLO_UFPS010)</i>	51
Tabla 6 <i>Cepas evaluadas para la eliminación de nutrientes (NO_3 y PO_4) y la concentración de biomasa producida en diferentes aguas residuales acuícolas</i>	54
Tabla 7 <i>Variables para la producción de Biomasa</i>	60
Tabla 8 <i>Variables cinéticas del cultivo experimental de Chlorella sp.</i>	63
Tabla 9 <i>Estimación del capital fijo para dos escenarios de producción de biomasa utilizando Chlorella sp</i>	67
Tabla 10 <i>ACV de la producción de componentes alimenticios para peces a partir de microalgas</i>	76

Lista de Figuras

	Pág.
Figura 1 <i>Análisis bibliométrico sobre el tratamiento de aguas residuales con microalgas</i>	22
Figura 2 <i>Fases de la metodología desarrollada</i>	33
Figura 3 <i>Análisis bibliométrico sobre el tratamiento de aguas residuales piscícolas con microalgas</i>	37
Figura 4 <i>Concentración de biomasa y proteína</i>	43
Figura 5 <i>eliminación de NO₃ y PO₄</i>	44
Figura 6 <i>Gráficas de superficie de respuesta y Pareto para Chlorella sp. (a,b), y Scenedesmus sp. (c,d)</i>	46
Figura 7 <i>Producción de componentes y eliminación de nutrientes en condiciones optimizadas</i> . 48	
Figura 8 <i>Ruta de inoculación del cultivo desde frascos de 500 mL (1), 2L (2), 10L (3), hasta lograr la inoculación de fotobiorreactores tubulares de 30L (4a) y fotobiorreactores flat-plate (4b)</i> ..	50
Figura 9 <i>Cultivo de Chlorella sp. (CHLO_UFPS010) en dos tipos de fotobiorreactores</i>	50
Figura 10 <i>Descripción del proceso</i>	61
Figura 11 <i>Tasas de constantes de consumo de NO₃ (a) y PO₄ (b)</i>	62
Figura 12 <i>Comparación gráfica entre los datos experimentales y simulados para la concentración de biomasa de Chlorella sp. y la concentración de NO₃ y PO₄ disponible en el medio</i>	64
Figura 13 <i>Diagrama de flujo del proceso de producción de Chlorella sp.</i>	65
Figura 14 <i>Diagrama de flujo del proceso posterior de la biomasa peletizada y del alimento vivo de Chlorella sp.</i>	66

Figura 15 *Producción de biomasa para el año biomasa granulada (a) y alimento vivo (b); coste directo total de la planta para dos escenarios de producción de biomasa (c).* 69

Figura 16 *Dependencia del costo de producción del volumen del sistema para dos escenarios de producción de biomasa: (a) biomasa peletizada y (b) alimento vivo.* 70

Figura 17 *Número de documentos sobre el ACV en microalgas* 74

Figura 18 *Países que escriben sobre el ACV en microalgas* 75

Figura 19 *Escenarios evaluados en el ACV*..... 80

Figura 20 *Evaluación de los impactos ambientales*..... 83

Figura 21 *Normalización de los impactos ambientales* 86

Resumen

Título: Desarrollo y Aplicación de una Metodología para el diseño y construcción de un sistema de Fitorremediación de un Complejo de Recirculación Acuícola para el aprovechamiento sostenible de aguas Post-Consumo.*

Autor: Janet Bibiana García Martínez**

Palabras Clave: Sistema Recirculación Acuícola, Sistema de Fitorremediación, Aguas Post-Consumo, Piscicultura, Microalgas.

Descripción: En este trabajo se presenta el desarrollo de una nueva metodología para el diseño y construcción de un sistema de Fitorremediación de un Complejo de Recirculación Acuícola para el aprovechamiento sostenible de aguas Post-Consumo mediante la aplicación de conceptos de economía circular y cero residuos. La metodología está basada en tres componentes claves del desarrollo sostenible: diseño de un sistema novedoso de Fitorremediación junto con el análisis de Ciclo de Vida y validación económica.

Con tal fin se probó la capacidad de las aguas residuales de un sistema piscícola como medio de cultivo para *Chlorella sp.* y *Scenedesmus sp.* Se evaluó la simulación para su transformación en alimento sostenible para peces utilizando el software Designer® y se determinaron los impactos ambientales de la producción biomasa para alimentación animal mediante el método de análisis del ciclo de vida utilizando el software Simapro.

Los resultados mostraron que la adición de NaNO_3 (0,125 g/L), K_2HPO_4 (0,075 g/L), KH_2PO_4 (0,75 g/L), y NaHCO_3 (0,5 y 2 g/L para *Chlorella sp.* y *Scenedesmus sp.* respectivamente) aumentó significativamente la biomasa de *Chlorella sp.* (0,87 g/L) y *Scenedesmus sp.* (0,83 g/L). Según los resultados, es posible producir hasta 11.875 kg/año (31,3 kg/día) con un costo de producción de hasta 18 (USD/kg) para la biomasa seca y 0,19 (USD/500 ml de biomasa) para la biomasa concentrada. Asimismo, se determinó la cinética de crecimiento de la biomasa dependiente del sustrato con una producción máxima de 1,25 g/L después de 15 días de cultivo y una eliminación del 98% del N junto con un 20% del P. También se evaluaron los impactos ambientales utilizando el método ReCiPe para diez categorías de impacto, lo que permitió determinar que los efectos medioambientales se redujeron significativamente al utilizar aguas residuales como fuente de agua y nutrientes.

* Trabajo de Grado

** Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química. Doctorado en Ingeniería Química. Director: Viatcheslav Kafarov. PhD. Doctor en Ciencias

Abstract

Title: Development and Application of a Methodology for the Design and Construction of a Phytoremediation System for a Recirculating Aquaculture Complex for the Sustainable Use of Post-Consumption Water.*

Author(s): Janet Bibiana García Martínez**

Key Words: Recirculation Aquaculture systems, fish farming system, Post-Consumption Water, Microalgae, Fish Farming.

Description: This thesis presents the development of a new methodology for designing and constructing a phytoremediation system of an Aquaculture Recirculation Complex for the sustainable use of post-consumer water through the application of circular economy and zero waste concepts. The methodology is based on three critical components of sustainable development: design of a novel phytoremediation system together with Life Cycle Analysis and economic validation.

To this end, the wastewater capacity from a fish farming system as a culture medium for *Chlorella* and *Scenedesmus sp.* was evaluated. The simulation for their transformation into sustainable fish feed was evaluated using Designer® software, and the environmental impacts of biomass production for animal feed were determined by the life cycle analysis method using Simapro® software.

According to the results, the addition of NaNO₃ (0.125 g/L), K₂HPO₄ (0.075 g/L), KH₂PO₄ (0.75 g/L), and NaHCO₃ (0.5 and 2 g/L for *Chlorella* and *Scenedesmus sp.* respectively) significantly increased the biomass of *Chlorella sp.* (0.87 g/L) and *Scenedesmus sp.* (0.83 g/L). According to the results, it is possible to produce up to 11,875 kg/year (31.3 kg/day) with a production cost of up to 18 (USD/kg) for dry biomass and 0.19 (USD/500 ml biomass) for concentrated biomass. Also, the substrate-dependent biomass growth kinetics for the selected strains was determined with a maximum production of 1.25 g/L after 15 days of cultivation coupled with a removal of 98% of N, and 20% of P. Environmental impacts were also evaluated using the ReCiPe method for ten impact categories, which allowed determining that the environmental effects were significantly reduced by using wastewater as a water source and nutrients.

* Degree Work

**Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química. Doctorado en Ingeniería Química. Director: Viatcheslav Kafarov. PhD.

Introducción

En el año 2020, se informó que la producción mundial de animales acuáticos disminuyó ligeramente a 178 millones de toneladas en comparación con el récord histórico de 179 millones de toneladas en 2018. La pesca de captura contribuyó con el 51% (90 millones de toneladas) y la acuicultura con el 49% (88 millones de toneladas). La mayor parte de la producción total, el 63%, se capturó en aguas marinas y el 37% en aguas continentales. La producción total de animales acuáticos tuvo un valor estimado de 406 mil millones de USD, con la pesca de captura contribuyendo con 141 mil millones de USD y la acuicultura con 265 mil millones de USD. El 89% de la producción se destinó al consumo humano, mientras que los 20 millones de toneladas restantes se utilizaron para la producción de harina y aceite de pescado. El consumo de alimentos acuáticos ha aumentado a un ritmo del 3,0% anual en promedio entre 1961 y 2019, lo que equivale a casi el doble del ritmo de crecimiento demográfico mundial. El consumo per cápita de alimentos acuáticos de origen animal ha aumentado de 9,0 kg en 1961 a 20,5 kg en 2019, con una disminución leve a 20,2 kg en 2020. En 2020, la acuicultura representó el 56% de la cantidad de alimentos acuáticos de origen animal producidos y disponibles para el consumo humano (FAO 2022). Dentro de esta cifra es importante resaltar el crecimiento sostenido de este renglón en América Latina gracias a la formación de núcleos productivos bajo la metodología de Acuicultura de Recursos Limitados (AREL) que cuentan con algún tipo de sistema acuícola para la generación de proteínas, bioabonos y otros

Entre 2011 y 2020 la producción acuícola aumentó 216% pasando de 82.622 a 179.351 toneladas entre tilapia, trucha, cachama, camarón y otras especies nativas. Las principales regiones donde se practica la piscicultura son Antioquia, Huila, Cauca, Tolima y Santander. El país cuenta

con diversos recursos hídricos, como ríos, lagos y embalses, que lo hacen idóneo para la piscicultura. El consumo per cápita en 2020 fue de 8,8 Kg de Pescado (FEDEACUA 2021).

Actualmente, el desarrollo sostenible de este renglón económico depende de dos factores: el calentamiento global y el consumo de recursos (energía, agua fresca y proteína) (Van Den Hende et al., 2014). El crecimiento acelerado de esta industria ha llevado al desarrollo de 3 restricciones críticas: la demanda de alimento para acuicultura, el alto volumen de agua fresca requerida y la alta concentración de aguas residuales las cuales deben disponerse de forma segura (Song et al., 2022). Las aguas residuales proveniente de los sistemas cerrados de acuicultura poseen altos niveles de nitrógeno y fósforo inorgánico disuelto. El principal responsable de estas altas concentraciones de nutrientes es el alimento no consumido, ya que de acuerdo con Liu et al. (2021) hasta el 75% del alimento utilizado se mantiene en forma de nitrógeno y fósforo en el agua post-cultivo. Esto último contribuye al incremento sostenido en la concentración de residuos orgánicos y compuestos tóxicos en los sistemas acuáticos (Wang et al., 2022).

Durante los últimos 50 años, se han hecho esfuerzos significativos para la remoción de diferentes nutrientes de esta agua residual, que eviten la eutrofización de cuerpos hídricos cercanos a los sistemas de producción y permitan recircular el agua tratada (Liu et al., 2021). Actualmente existen una gran diversidad de métodos biológicos y químicos que han sido usados satisfactoriamente en el proceso de remoción de nutrientes como lo son: (i) procesos biológicos para la eliminación de nitrógeno como la nitrificación y desnitrificación (Gogoi et al., 2021) y (ii) los procesos químicos como la precipitación química para la eliminación de fósforo (Letelier-Gordo, & Fernández, 2021); este último proceso a pesar de ser efectivo, es una técnica menos

amigable con el medio ambiente, ya que este conlleva a la formación de lodos altamente contaminantes para el medio ambiente (Gao et al., 2016).

Como alternativa sostenible para la recuperación de las aguas post-consumo existen los sistemas de recirculación RAS (Recirculation Aquaculture systems por sus siglas en inglés); estos sistemas se basan en el tratamiento del agua post-consumo para su posterior reentrada en los estanques de cultivo (Yue & Shen, 2021). El principal problema de los sistemas RAS es su alto costo inicial, el cual puede sobrepasar los costos de los procesos a pequeña escala localizados en Colombia. Una de las propuestas con mayor acogida a nivel mundial para el rediseño de los sistemas RAS es el uso de microorganismos foto autotróficos, en especial de microalgas y cianobacterias (Spiliotopoulou et al., 2018). Las algas representan alrededor del 0,5% de la biomasa global, sin embargo, producen alrededor del 70% del oxígeno neto en la tierra; además poseen una alta tasa de crecimiento, siendo entre 10 a 50 veces más eficientes en fijación de CO₂ que las plantas terrestres (Chia, et al., 2021), además de requerir menor energía para la producción de biomasa (Ahmad et al., 2022).

El uso de estos microorganismos es considerado como una de las tecnologías con mayor aporte a la conservación del ambiente (Lananan et al., 2014). Lo anterior se debe a su rápido crecimiento, habilidad para crecer en aguas residuales mientras reduce la concentración de nutrientes nocivos y su biomasa puede ser aprovechada para la obtención de diferentes metabolitos de interés industrial (Ahmad et al., 2022). Al aplicar cultivos tecnificados microalgales en las aguas post-consumo de acuicultura, es posible remover de forma eficiente las concentraciones de nitratos, fosfatos y otros nutrientes presentes para obtener productos económicamente viables para

el sector acuícola nacional como pueden ser: (1) concentrados ricos en proteína y grasas, (2) biofertilizantes y (3) biocombustibles (Gao et al., 2016).

A nivel mundial es posible encontrar ejemplos claros y concretos del uso de este tipo de aguas para la producción de biomasa de microalgas para la obtención de alimento y biofertilizantes. Ansari et al. (2017) y Guldhe et al. (2017) han evaluado a escala laboratorio la producción de *Chlorella sorokiniana*, *Scenedesmus obliquus* y *Ankistrodesmus falcatus* en aguas post-consumo de tilapia en Sudáfrica empleando estrategias heterotróficas y mixotróficas. Milhazes-Cunha y Otero (2017) demostraron la viabilidad de usar cultivos de algas en conjunto con sistemas anaeróbicos para poder recircular el agua. De igual manera el uso de microalgas para la remoción de nutrientes presentes en las aguas post-consumo de acuicultura solo ha sido probado a escala laboratorio y a nivel demostrativo en países como España (Milhazes-Cunha & Otero, 2017), Dinamarca (Spiliotopoulou et al., 2017), Bélgica (Sfez, et al., 2015), Suráfrica (Enwereuzoh et al., 2021) y China (Wu et al., 2022).

Por lo anterior el presente proyecto fue orientado a diseñar y evaluar un sistema de fitorremediación de aguas residuales de piscicultura con el valor agregado de la generación de biomasa rica en metabolitos aprovechables, lo que representa una alternativa de desarrollo sostenible para el agro colombiano, mientras se aplican procesos que fortalezcan la economía del sector mediante la aplicación de conceptos de economía circular y cero residuos.

1. Marco General

La investigación social, el desarrollo en políticas públicas y el avance en el conocimiento han presentado grandes aportes y propuestas para el cumplimiento de los Objetivos de Desarrollo del Milenio (ODM) de Naciones Unidas a cumplirse en la Agenda 2030, específicamente en la gestión de los recursos hídricos y la producción y consumo sostenible. A pesar de lo anterior, actualmente la disponibilidad de agua no es la adecuada y según Naciones Unidas se espera que para el año 2050, al menos un 25% de la población mundial habite en naciones con escasez crónica y frecuente de agua dulce. El principal problema que plantea esta crisis es la insuficiente producción de alimentos y el deterioro de los ecosistemas que soportan la vida, ya que se deberá incrementar en 60% la producción de alimentos para los 2.000 millones de habitantes adicionales que tendrá la tierra en el 2030 (FAO 2003) y se espera que, para 2050 la agricultura necesitará producir un 60% más de alimentos a nivel mundial y un 100% más en los países en desarrollo. A medida que las tasas de crecimiento actuales de la demanda de agua de la agricultura mundial se hagan insostenibles, el sector tendrá que aumentar la eficiencia del uso que hace del agua reduciendo las pérdidas y, sobre todo, incrementar la productividad de los cultivos respecto al agua empleada (UN, 2015).

En la búsqueda de dar solución a esta problemática, la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y el Instituto Internacional para la Gestión del Agua (IWMI por su sigla en inglés), reconocen que fomentar la agricultura sostenible a partir de la reutilización del agua, es un aporte fundamental para cumplir con la Agenda 2030. La implementación de esta práctica permitirá la gestión sustentable de este recurso bajo una perspectiva de economía verde y circular. Esto último posee el potencial de minimizar los impactos

negativos sobre el medio ambiente, mientras se mejorará el acceso y el uso de agua de calidad para todos los actores involucrados.

La Agenda 2030 da un nuevo impulso al tratamiento de aguas residuales y su reutilización segura; sin embargo, su puesta en marcha requiere a su vez de medidas precisas para evitar riesgos tanto para la salud humana como para el medio ambiente. En este contexto, un creciente número de países están iniciando el desarrollo o bien fortaleciendo sus capacidades para lograr un uso más seguro y productivo de este recurso no convencional (FAO 2017).

Para el caso colombiano, la Ley 99 de 1993 en su artículo tercero establece como concepto de desarrollo humano sostenible: “el que conduzca al crecimiento económico, a la elevación de la calidad de la vida y al bienestar social, sin agotar la base de recursos naturales renovables en que se sustenta, ni deteriorar el medio ambiente o el derecho de las generaciones futuras a utilizarlo para la satisfacción de sus propias necesidades”. En lo que respecta al control de la contaminación hídrica que afecta la disponibilidad del recurso en cuanto a su calidad, el estado Colombiano ha fundamentado su política en la implementación de múltiples elementos que parten desde el decreto 1594 de 1984 que reglamenta los usos del agua y residuos líquidos, el cual fue actualizado en el decreto número 3930 del 25 de octubre del 2011 y ampliado con la resolución 631 del 17 de marzo del 2015 reglamentado parámetros y límites en los vertimientos puntuales a cuerpos de aguas superficiales y a sistemas de alcantarillado. Por otra parte, la ley 373 de 1997, aunque con énfasis en el Uso Eficiente y Ahorro del agua, contribuye de manera indirecta a la menor generación de aguas residuales y fomenta el desarrollo del reúso de estas aguas como una alternativa de bajo costo que debe ser valorada. Mientras que el Código Nacional de Recursos Naturales autoriza el reúso de aguas que provenientes del riego preferiblemente para nuevos riegos, el sector industrial

tiene la obligación de reciclar las aguas siempre que sea técnica y económicamente factible. Los objetivos de la norma de reúso son esencialmente tres: Uso eficiente del recurso, servir de fuente alternativa para requerimientos de agua de actividades o zonas en situaciones de escasez temporal o permanente y controlar el impacto acumulativo de las fuentes hídricas por la multiplicidad de descargas de contaminantes. Todas las normas aquí mencionadas, así como otras tantas sirvieron de sustento para la creación de la resolución 1207 de 2014, que reglamentó el reúso de aguas residuales tratadas. Dentro de las actividades agrícolas, la acuicultura es conocida por sus altos requerimientos en agua. Una vez finalizado el ciclo de crecimiento de los peces, las aguas post-consumo deben ser dispuestas de acuerdo con la normatividad vigente, ya que poseen altos niveles de compuestos nitrogenados (amonio, nitritos y nitratos), fosfatos y carbono orgánico disuelto (COD) (Lananan et al., 2014), los cuales provienen del alto contenido de alimento sin consumirse y las heces de los individuos (Crab et al., 2007).

A continuación, se describe el marco general y estado del arte de los conceptos enmarcados en el ámbito de acuicultura, piscicultura, aguas residuales y el uso de microalgas para tratamiento y/o aprovechamiento de aguas residuales.

1.1.1. Acuicultura y Piscicultura.

Sanabria (2016) define la Acuicultura como el cultivo de especies hidrobiológicas mediante técnicas apropiadas en ambientes naturales o artificiales y, generalmente bajo control. Para el caso colombiano, la acuicultura colombiana concentra en gran mayoría de los departamentos de la Región Andina, donde es mayor su presencia y en algunos departamentos de las regiones Amazonía y Orinoquía, en donde casi todos los cultivos se ubican en el pie de monte

de la Cordillera Oriental, estos sistemas se caracterizan por estar en núcleos familiares agrícolas en su mayoría dedicados exclusivamente a la cría y otras con sistemas mixtos.

De acuerdo con datos del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, la industria acuícola se desarrolla en dos grandes esquemas, en jaulas (localizadas en represas y lagunas) y en sistemas cerrados. Los principales sistemas de jaulas se localizan en la represa de Betania (Huila) y en la laguna de Tota (Boyacá). En Betania se producen el 43% de la actividad piscícola nacional, con una producción cercana a los 200 kg/m². A diferencia de los sistemas de jaulas, los sistemas cerrados se desarrollan en tanques perforados sobre la tierra o en tanques de PVC. Debido a su practicidad estos sistemas se encuentran a lo largo de todo el país; sin embargo, poseen una producción menor que las jaulas con valores máximos de 5 kg/m² (de forma semi-intensiva) (Fedeacua, 2012). Actualmente, el desarrollo sostenible de este renglón económico depende de dos factores: el calentamiento global y el consumo de recursos (energía, agua fresca y proteína) (Van Den Hende et al., 2014). El crecimiento acelerado de esta industria ha llevado al desarrollo de 3 restricciones críticas: la demanda de alimento para acuicultura, el alto volumen de agua fresca empleada y la alta concentración de aguas residuales las cuales deben disponerse de forma segura (Martins et al., 2010; Mook et al., 2012; Chen et al., 2015).

Por otro lado, los pronósticos sobre el cambio climático para los próximos años no son alentadores, y este reto ofrece la oportunidad de crear nuevos sistemas de producción de alimentos y/o rediseñar algunos sistemas existentes, todo enfocado en conservar la tierra, el agua y la energía, así como a reducir las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) o aumentar la captura de carbono (Campbell et al., 2016; Gephart et al., 2021; Rosenzweig et al., 2021; Thiault et al., 2019).

Boyd y McNevin (2015) estimaron el uso de la tierra por la acuicultura en un 0,17% de la superficie terrestre mundial, y el consumo del agua en un 0,82% del agua dulce renovable disponible. Verdegem y Bosma (2009) incluyeron el agua verde (agua de lluvia) y concluyeron que el 3,2% del uso mundial de agua dulce correspondía a la acuicultura. Boyd y McNevin (2015) estimaron que la pesca de captura y la acuicultura producían el 0,61% y el 0,49% de las emisiones mundiales de GEI, respectivamente. Una estimación más reciente realizada por Macleod et al. (2020) también dio una estimación de las emisiones de GEI por la acuicultura como el 0,49% de las emisiones globales, pero no dieron una estimación para la pesca de captura. Sin embargo, la acuicultura domina el consumo mundial de harina y aceite de pescado elaborado a partir de pequeños peces oceánicos. La producción acuícola necesitó el 18,3% de los peces capturados en el océano en 2017 para los ingredientes de los alimentos de peces (Naylor et al., 2021). La mayoría de los peces utilizados para fabricar ingredientes para alimentos de acuicultura son aptos para la alimentación humana (Cashion et al., 2017). Es por tanto necesario pensar en la reducción del uso de harina y aceite de pescado para disminuir su dependencia de los pequeños peces silvestres, importantes para la integridad de las redes alimentarias marinas y la seguridad alimentaria de los pobres en muchas zonas costeras. Es de considerar, además, que la escasez de harina y aceite de pescado para su uso en la acuicultura limitará la producción en el futuro si no se cumplen los objetivos de reducir su uso en la producción de concentrados alimenticios (Boyd et al., 2022).

En los últimos años se ha prestado una mayor atención a la gestión basada en los ecosistemas, al diseño de sistemas y a las nuevas formas de gobernanza del sector público y privado para gestionar los riesgos biológicos y climáticos y fomentar la producción acuícola sostenible (Brugere et al., 2019; Edwards, 2015). El desarrollo de tecnologías sostenibles es

esencial para el tratamiento de las aguas residuales de la acuicultura, puesto que los métodos tradicionales son costosos en términos de inversión de capital, consumo de energía y mantenimiento (Han et al., 2019). A continuación, se describen algunas de las tendencias actuales en tecnológicas para el tratamiento sostenible de las aguas residuales de la acuicultura, lo cual es esencial para tener un nexo sostenible entre el agua, los alimentos y la cadena energética

1.1.2. Sistemas de Recirculación Acuícola (RAS)

Los Sistemas de Recirculación Acuícola (RAS) se enfocan en el tratamiento de aguas residuales y el reciclaje del agua tratada. Por lo tanto, se utiliza una menor cantidad de agua para la producción de grandes cantidades de peces. En estos sistemas las aguas residuales pueden recircularse parcial o totalmente a los tanques de peces y suelen tener una reposición de agua del 5 al 10% al día, dependiendo del suministro y de las tasas de alimentación (Ahmed & Turchini, 2021). Los RAS disminuyen considerablemente el efecto de la contaminación de la piscicultura y reduce la utilización de agua dulce (Martins et al., 2010), lo que lo hace una alternativa sostenible. La eliminación de compuestos contaminantes es esencial para el desarrollo de los RAS (Lawson, 1995). La eliminación de residuos en los sistemas RAS se lleva a cabo a través de la eliminación mecánica de sólidos y la conversión de amoníaco y nitrito en nitrato a través del proceso de nitrificación (Preena et al., 2021). Por lo tanto, los RAS requieren de un 10-20% de intercambio de agua cada día, para reducir la acumulación de nitratos y mantener las condiciones aptas para la vida acuática (Martins et al., 2010), puesto que una alta concentración de nitratos en el sistema es tóxica para los peces y conduce a la eutrofización (Ahmad et al., 2021), lo que conlleva a un alto costo de energía asociado con el suministro de oxígeno y la eliminación de la toxicidad en los

sistemas de acuicultura (Cristian et al., 2013). La búsqueda de una solución más sostenible para el reto de tratar las aguas residuales de la acuicultura condujo a tecnologías innovadoras en este campo como el uso de humedales y la incorporación de métodos de fitorremediación en los sistemas RAS. En dichos sistemas, los peces pueden cultivarse junto a otros organismos, que convierten los nutrientes residuales descargados en productos valiosos (Jerónimo et al., 2021), lo que hace que el sistema sea más sostenible que los cultivos de un solo paso. La integración de los sistemas de humedales con los sistemas de recirculación ha conseguido mejorar la eficacia del tratamiento. Se ha informado de la eliminación significativa de sólidos en suspensión, materia orgánica, nitrógeno, fósforo, oligoelementos y microorganismos en las aguas residuales en estas unidades interconectadas (Gorito et al., 2022).

1.1.3. Las Microalgas como alternativa de tratamiento de aguas residuales

El objetivo principal del tratamiento de las aguas residuales es reducir significativamente la cantidad de materiales carbonosos y de compuestos de nitrógeno (N) y fósforo (P) antes de su vertido en los sistemas receptores (Grady et al., 2011). Esto se debe a que la presencia de estos materiales en grandes concentraciones puede tener efectos nocivos en los niveles de concentración de oxígeno disuelto (O_2), el estado trófico y, en última instancia, el bienestar de la fauna y la flora en el agua (Water, U. N. 2015). Los sistemas convencionales de tratamiento de aguas residuales se han aplicado con relativo éxito, sin embargo, presentan grandes desventajas relacionadas con la contaminación secundaria por el alto consumo de energía y la producción de lodos residuales y gases de efecto invernadero (Wan et al., 2016). Por lo tanto, para reducir el impacto ambiental del

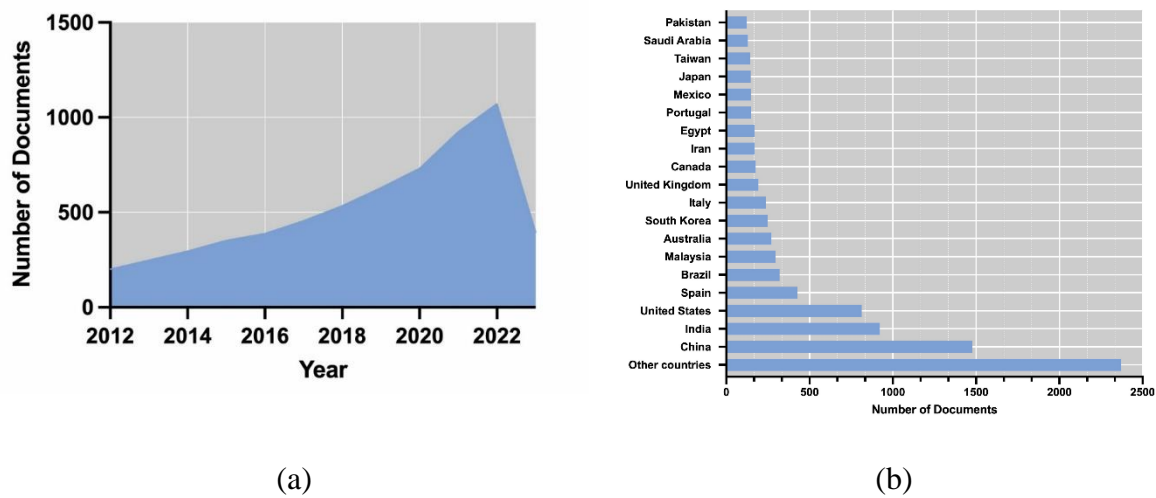
tratamiento de aguas residuales, es necesario desarrollar y adaptar procesos con una reducción sustancial del consumo de energía y de la producción de lodos (Mohsenpour et al., 2021).

En comparación con los métodos físicos y químicos, los tratamientos biológicos ofrecen algunas ventajas únicas, tales como bajo impacto al medio ambiente y costos más bajos (Rambabu et al., 2020). Las algas son un producto primario en los ecosistemas acuáticos, pueden utilizarse como indicadores ecológicos y eliminar contaminantes, esto debido a su alta sensibilidad a los contaminantes acuáticos y a sus mecanismos de respuesta al estrés (Sánchez et al., 2015). Las técnicas de biorremediación a partir de algas se llevaron a cabo por primera vez en la década de 1950 para eliminar los nutrientes y la carga orgánica disuelta de las aguas residuales. La principal ventaja de las tecnologías basadas en las algas es que no necesitan energía adicional para eliminar eficazmente los contaminantes (Li et al., 2022; Chen et al., 2020), a diferencia de los enfoques convencionales, como la microfiltración y la activación de lodos, que requieren importantes aportes de energía (Peter et al., 2021).

Múltiples estudios se han enfocado en algas para el aprovechamiento y/o tratamiento de aguas residuales, orientados a encontrar medios de cultivo de bajo costo, que sustenten la producción de metabolitos de interés (Catone et al., 2021; Ahmad et al., 2022), o ya sea como alternativa para tratamiento de diversos efluentes (Rossi et al., 2022; Wang et al., 2022) o ciertos contaminantes específicos (Li et al., 2022; Reddy et al., 2021). La figura 1a muestra el número de publicaciones en los últimos 10 años, (TITLE-ABS-KEY: algae OR microalgae OR microalga AND wastewater AND treatment). Se puede observar que, desde el año 2012, el número de documentos ha aumentado exponencialmente hasta llegar a 1071 documentos en el 2022, con un total de 6260 documentos durante todo el periodo de estudio. China, India, Estados Unidos y

España son los referentes en las publicaciones sobre el tratamiento y/o aprovechamiento de aguas residuales mediante el uso de microalgas (Fig 1b). Con respecto a Colombia se reporta un total de 33 publicaciones donde predomina el enfoque de tratamiento de aguas residuales y reducción de contaminantes específicos

Figura 1 Análisis bibliométrico sobre el tratamiento de aguas residuales con microalgas



Nota. Evolución del número de publicaciones de 2012 a 2023 sobre el tratamiento de aguas residuales con microalgas (a) y su país de origen (b), búsqueda realizada en abril del 2023.

El uso de aguas residuales para el crecimiento de microalgas se considera beneficioso para minimizar el uso de agua dulce y reducir el costo de los nutrientes necesarios para su crecimiento; ya que el nitrógeno (N) y el fósforo (P) se extraen de las aguas residuales como biorrecursos para la producción de biomasa y metabolitos con valor agregado (Raghuvanshi et al., 2018). Aunque las microalgas pueden tener numerosas ventajas en el tratamiento de aguas residuales, su aplicación sigue siendo un reto debido a los estrictos límites de descarga de nutrientes (Markou et al., 2018). En concreto, para lograr un crecimiento eficaz, las microalgas requieren una

concentración básica de nitrato (NO_3), que varía entre 200 y 400 mg/L, además de otros macronutrientes como el fósforo (P) y el carbono (C), así como micronutrientes como el hierro (Fe), el manganeso (Mn) zinc (Zn), azufre (S), cobre (Co), selenio (Se), potasio (K) y magnesio (Mg) (Kamyab et al., 2018; Olgúin, 2003; Verma & Srivastava, 2018).

1.1.4. Carbono

Con respecto al carbono, las microalgas asimilan el carbono inorgánico mediante la fotosíntesis, donde la energía solar se convierte en energía química produciendo oxígeno (O_2) como subproducto, mientras que en el segundo paso la energía química se utiliza para asimilar el dióxido de carbono (CO_2) en azúcares (Borowitzka, 2018). Se sabe que las microalgas sólo existen en ambientes acuáticos donde el carbono inorgánico necesario para su crecimiento se presenta en forma de CO_2 , bicarbonato (HCO_3^-) y carbonato (CO_3^{2-}), esto dependiendo del pH, la temperatura del medio, la concentración de cationes y la salinidad (Hill et al., 2014). En concreto, a valores de pH más elevados ($\text{pH} > 9$) la mayor parte del carbono inorgánico se encuentra en forma de carbonato (CO_3^{2-}), que no puede ser asimilado por las microalgas y, en consecuencia, el pH de las aguas residuales debe ser estrictamente evaluado (Eze et al., 2018).

La fuente de CO_2 más utilizada para el crecimiento de las microalgas es el aire atmosférico (CO_2 como 0,04% v/v, donde v/v denota el volumen de CO_2 por volumen de aire). Sin embargo, alrededor del 2% - 5% (v/v) de CO_2 en la corriente de gas suministrada suele ser necesario para una producción suficiente de biomasa microalga (Verma & Srivastava, 2018). De hecho, se ha informado de que 1 kg de biomasa microalgal puede utilizar 1,83 kg de CO_2 , pero el rendimiento teórico sólo puede predecirse cuando se define la fuente de nitrógeno (Verma & Srivastava, 2018).

En este caso, se puede aportar CO₂ atmosférico a las aguas residuales a través de la aireación forzada (aire enriquecido con 1-5% v/v de CO₂), aunque se ha demostrado que este método es económicamente inviable (Becker, E. W. 1994). En caso de que el CO₂ sea limitado, algunas microalgas pueden metabolizar compuestos orgánicos como azúcares, ácidos orgánicos, acetato o glicerol como fuente de carbono (Chew et al., 2018; Hu et al., 2018; Kong et al., 2013; Quintero-Dallos et al., 2019). De hecho, basándose en su metabolismo, las microalgas pueden ser fotoautótrofas, foto heterótrofas, mixótrofas y heterótrofas, mientras que en varias especies el modo de utilización del carbono puede pasar de la autotrofia a la heterotrofia, o incluso a la mixotrofia según la variedad y la disponibilidad de la fuente de carbono (Lu et al., 2017; Poddar et al., 2018).

La baja disponibilidad de carbono, en particular de carbono inorgánico, puede limitar el crecimiento de las microalgas y directamente la cantidad de N y P asimilada por las microalgas. Muchos estudios recientes se han centrado en la adición de varias fuentes de carbono junto con las aguas residuales para mejorar la producción de biomasa microalgal (Poddar et al., 2018; Otondo et al., 2018). El efecto es una mejora significativa en el crecimiento microalgal y la remediación de N y P de las aguas residuales, con la eficiencia dependiente de la concentración de CO₂ y el período de inyección y con la desventaja del alto costo que esto puede conllevar (Mohsenpour et al., 2021)

1.1.5. Nitrógeno

El nitrógeno es el segundo macronutriente más importante para el crecimiento de las microalgas y, por tanto, influye directamente en su rendimiento. El nitrógeno puede encontrarse

en muchas formas dentro de las aguas residuales y normalmente es asimilado por las microalgas como sustrato inorgánico (Whitton et al., 2015).

NO_3^- , NH_4^+ y NO_2^- son las fuentes de N inorgánico más utilizadas por las algas eucariotas (Fernández et al., 2009). El NH_4^+ como forma reducida de N es el preferido entre las fuentes de N inorgánico debido al menor gasto energético durante su asimilación (Fernández et al., 2009). Las algas también podrían consumir una variedad de N orgánico disuelto, como aminoácidos, urea, purinas, pirimidinas, glicina betaína, extracto de levadura, peptona, y de alguna manera péptidos y proteínas (Sutherland & Ralph, 2021; Yin et al., 2019; Neilson & Lewin, 1974; Näsholm et al., 2009; Schmidt et al., 2013). El orden preferido de utilización del N por las microalgas es $\text{NH}_4^+ > \text{NO}_3^- > \text{NO}_2^- > \text{urea}$ (Whitton et al., 2015). El N asimilado se transforma además en proteínas, ácido ribonucleico (ARN) y ácido desoxirribonucleico (ADN), que representan alrededor del 70-90%, 10-15% y 1-2% del nitrógeno celular de las microalgas, respectivamente (Su, 2021).

Las microalgas utilizan el NH_4^+ más que otras fuentes de N debido a la menor demanda de energía para su metabolismo. Sin embargo, concentraciones de NH_4^+ -N por encima de 100 mg/L se consideran tóxicas para las microalgas (Praveen et al., 2018). Se ha determinado que la tolerancia al NH_4^+ es de 66,4, 61, 42, 40 y 20 mg/L para Chlorophyceae, Diatomophyceae, Rhodophyceae, Prymnesiophyceae y Dioniphyceae, respectivamente (Collos & Harrison, 2014).

Muchas corrientes de aguas residuales contienen altas concentraciones de amonio (100 - 9000 mg/L NH_4^+ - N) y pueden utilizarse con éxito para la producción de microalgas (Ye et al., 2018).

Las altas temperaturas o los altos valores de pH podrían conducir a un equilibrio entre el amoníaco libre (NH_3) y el amonio (NH_4^+) que se desplaza hacia la producción de amoníaco y, por tanto, inhibe el crecimiento de las microalgas (Leng et al., 2018). Por otro lado, algunas cepas tienen la

habilidad de crecer en altas concentraciones de amoníaco, en un rango de hasta 130 mg/L (Sahu et al., 2013; Olguín, 2003). Además de las formas de nitrógeno inorgánico, la orina ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) derivada principalmente de las aguas residuales urbanas también puede ser utilizada como fuente de nitrógeno, pero sólo la nitrificación y la estabilización podrían conducir a altos rendimientos de producción de microalgas (Coppens et al., 2016).

1.1.6. Fósforo

En las microalgas, el P es un elemento importante que interviene en innumerables vías metabólicas, así como un componente estructural de los fosfolípidos, los nucleótidos y forma parte del ATP (Dyhrman et al., 2016). El P inorgánico en las aguas residuales existe en varios estados iónicos y, al igual que el carbono inorgánico, la especie específica depende del pH (H_3PO_4 , <2,15; H_2PO_4^- , 2,15 a 7,20; HPO_4^{2-} , 7,20 a 12,33; y PO_4^{3-} , >12,33) (Shen et al., 2015). Esta fuente de fósforo inorgánico se considera como la más biodisponible de P, y las microalgas asimilan preferentemente HPO_4^{2-} y H_2PO_4^- (Silva et al., 2015). Es de resaltar que la biomasa microalgal suele contener entre 0,5 y 3,3% de fósforo (da Fontoura et al., 2017).

En la naturaleza es frecuente encontrar un bajo nivel de P accesible en el medio ambiente, por lo que se producen múltiples ajustes bioquímicos como respuesta a un entorno limitado de P para las microalgas, esto implica la captura eficiente de P externo y la redirección de las moléculas que contienen P orgánico intracelular (Su, 2021). Por otro lado, en ambientes ricos en P las microalgas pueden acumular P en exceso y almacenarlo en forma de gránulos de polifosfato, un mecanismo denominado "captación de lujo" que sólo se produce cuando no hay periodos previos de inanición (Eixler et al., 2006).

El fósforo es un recurso no renovable, por lo que su reciclaje se considera vital para su uso futuro. La concentración ideal del fósforo en aguas residuales debe ser aproximadamente de 40 mg/L de $\text{PO}_4\text{-P}$, esto para apoyar la producción eficiente de biomasa de microalgas (Guven et al., 2019; Solovchenko et al., 2016). Sin embargo, la absorción de nutrientes para el crecimiento depende de la concentración asociada de nutrientes. Dado que la relación molar N:P en las microalgas de agua dulce oscila entre 8:1 y 45:1 (Whitton et al., 2015), la eliminación de fósforo de las aguas residuales es sistemáticamente menor que la de nitrógeno debido al mayor contenido de nitrógeno intracelular (Sakarika et al., 2020)

Múltiples especies de microalgas han sido identificadas con capacidad de crecimiento y biorremediación de efluentes, así como diferentes tipos de aguas residuales han sido estudiadas, tales como efluentes municipales, agrícolas, cerveceros, de refinería e industriales, para las cuales han sido reportadas diferentes eficiencias en el rendimiento del tratamiento y el crecimiento de las microalgas (Rajalakshmi et al., 2021; Alemu et al., 2018; Kumar et al., 2019; Nirmal et al., 2022). Se ha demostrado que las cepas *Scenedesmus obliquus* y *Chlorella Sokoniana* poseen una alta capacidad para remover nutrientes (carbono, N y P) de aguas residuales de las explotaciones porcinas (Chen et al., 2020; Prandini et al., 2016), mientras que *Ascochloris* sp. creció con éxito en los efluentes de la producción lechera y alcanza una buena producción de lípidos (Kumar et al., 2019). De igual manera otras especies de *Chlorella*, incluida *Chlorella vulgaris*, ha demostrado resultados interesantes en la remediación de N y P de efluentes de aguas residuales municipales procedentes del tratamiento primario ($\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$: 8 a 3 mg/L; NH_4^+ : 119 a 37 mg/L), y tratamiento secundario ($\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$: 6,1 a 0,5 mg/L; $\text{NH}_4^+\text{-N}$: 6,9 a 0,8 mg/L) (Gouveia et al., 2016).

Choi (2016) reportó una reducción del 88% de la DBO, el 82% del TN y el 54% del TP a partir de aguas residuales de cervecería por parte de *C. vulgaris*. Otras especies de microalgas examinadas por su potencial de biorremediación son *Scenedesmus* sp. *Isochrysis* sp. *Desmodesmus* sp. y *Parachlorella kessleri* (Qu et al., 2019; Li et al 2021; Chu et al 2022; Pandey et al., 2022). En la siguiente tabla se presenta una revisión de algas y cianobacterias cultivadas en diferentes efluentes, la remoción de contaminantes, así como la producción de biomasa y/o metabolitos de interés.

Tabla 1 Revisión bibliográfica de la biorremediación de aguas residuales con microalgas

Cepa	Medio	Remoción	Metabolitos	Cita
<i>Ascochloris</i> sp.	Agua residual de industria lechera	DQO 95,1% P 98,1% NT 79,7 %	Lípidos 0,072 g/L	Kumar et al., 2019
	Agua residual de curtiembre	DBO 19 mg /L DQO 243 mg/L P 99% P> 99% NT> 97%	Lípidos 0,95 g/L Carbohidratos 0,25 g/L Proteína 0,16 g/L	Rajalakshmi et al., 2021
<i>Chlorella</i> sp	Agua Residual de piscicultura	P> 50% NT> 95%	Biomasa 0,28 g/L Biomasa 0,9 g/L Proteínas > 45% Lípidos >13%	Vargas-Estrada et al., 2021 García-Martínez et al., 2022
	Agua residual sintética	P 94,54%, DBO>90%	Biomasa 0,933 g/L	Nirmal et al., 2022
	Agua residual de curtiembre	DQO>40% P>80% NT> 80%	Biomasa 0,0587 g/L Lípidos 24,53 % p/p	Gauje et al., 2022
<i>C. sorokiniana</i>	Aguas residuales porcinas	DQO> 90% P> 92% NT> 97%	Biomasa 5,45 g/L Proteínas > 22% p/p	Chen et al., 2020
	Suero del queso ricotta	DQO 26% P 75% TN 55%	Biomasa 2,28 g/L	Casá et al., 2022
	Efluente bruto de la acuicultura del cangrejo pardo	DQO> 96% P 100% NT 100%	Biomasa 0,879 g/L Proteínas> 31% Lípidos > 6% Carbohidratos> 39%	Viegas et al., 2021
<i>C. vulgaris</i>	efluente de cervecería	DQO>83% DBO> 88%	Biomasa 0,917 g/L	Choi, 2016

		P >54% NT>82%		
<i>Galdieria sulphuraria</i>	Agua residual Industrial	NT 94%	Biomasa 55 g/L Proteínas 47,6 % p/p	Zhu et al., 2022
			Biomasa 1,69 g/L	
<i>Isochrysis</i> sp.	Agua residual de acuicultura (Cultivo fototófico)	P 94,05% NT 71,12%	Lípidos 21,25% p/p Proteínas 12,16% p/p Carbohidratos 33,25% p/p Biomasa 1,92 g/L	Chu et al., 2022
	Agua residual de acuicultura (cultivo mixotrófico)	P 95,61% NT 73,39%	Lípidos 21,60% p/p Proteínas 14,87% p/p Carbohidratos 17,89% p/p	
<i>Parachlorella kessleri</i>	Aguas residuales porcinas	DQO >88% P >99% NT>95%	Biomasa 9,2 g/L Carbohidratos 56%	Qu et al., 2019
	Agua residual sintética de la industria de lácteos	DQO 92,50% P 84,87% NT 95,10%	Biomasa 3,44 g/L Lípidos 36,2 % p/p Biomasa 0,87 g/L	Pandey et al., 2022
<i>Scenedesmus</i> sp.	Agua Residual de piscicultura	P> 50% NT> 95%	Proteínas > 42% Lípidos >12% Carbohidratos> 23% Biomasa 0,811g/L	García-Martínez et al., 2022
	Efluente bruto de la acuicultura del cangrejo pardo	DQO> 96% P 100% NT 100%	Proteínas > 35% Lípidos >8% Carbohidratos> 30% Biomasa 0,380 g/L	Viegas et al., 2021
<i>S. obliquus</i>		P> 99%	Proteínas >35 % Carbohidratos> 22% Biomasa 0,334 g/L	Fan et al., 2020
	Agua residual domestica	NT> 93% P> 88% NT> 99%	Proteínas >42 % Carbohidratos> 32% Biomasa 3,1 g/L	
<i>Spirulina platensis</i>				
	Aguas residuales de la industria de lácteos	BOD> 80% DQO> 76% DQO> 91%	Lípidos 21% p/p Carbohidratos 39%	de Mendonça et al., 2022
	Agua residual del procesamiento de carne	P >69% NT> 67%	Biomasa 1,7 g/L	Hu et al., 2019

1.1.7. Biorremediación y aprovechamiento de biomasa de algas en aguas de Piscicultura

La producción piscícola es una industria de gran crecimiento con altos requerimientos de agua, donde para la producción de 1kg de pescado se requieren aproximadamente entre 200 y 600 m³ de agua. Una gran cantidad de sistemas piscícolas funcionan como sistemas abiertos o de flujo continuo, por lo que liberan grandes cantidades de agua rica en nutrientes en los cuerpos de aguas receptoras (Effendi., et al 2020). Este problema es especialmente crítico cuando estos efluentes con altas cargas orgánicas e inorgánicas se vierten en medios acuáticos con bajas tasas de dispersión, tales como lagos o estuarios (Fonseca et al., 2021).

En este sentido, la búsqueda de métodos alternativos y sostenibles para controlar la acumulación excesiva de nutrientes y microorganismos generados por estos efluentes ha sido un área de creciente interés (Lin et al., 2020; Paul et al., 2021). Dentro de estas nuevas alternativas se han estudiado los métodos biológicos, específicamente el uso de microalgas para la biorremediación de estos efluentes. Entre otros se destacan los resultados obtenidos Gao et al., 2016, donde se usó la microalga *Chlorella vulgaris* para el tratamiento de agua proveniente de cultivos de *Penaeus vannamei* en modo continuo, que permitió la remoción del nitrógeno y fósforototales en un 86,1% y 82,7%, respectivamente (Gao et al., 2016). De igual manera Hawrot-Paw et al., (2020) evaluaron la eficiencia de consumo de nutrientes durante el cultivo de *C. minutissima* en aguas residuales provenientes de un RAS para el cultivo de Salmon en Polonia, donde obtuvieron una reducción del 88% para el contenido total de nitrógeno, del 74,3% para el N-NO₂, del 88,6% para el N-NO₃, y de más del 99% para el fósforo total y los ortofosfatos (PO₄)

(Hawrot-Paw et al., 2020). Por su parte, Ansari et al., (2017) utiliza el efluente de tilapia del Nilo en modo discontinuo, donde *S. obliquus* logró una reducción del 88,7% del nitrógeno total y el 100% del fósforo total, mientras que *C. sorokiniana*, alcanzó un 98,2% y un 100%, respectivamente. Por otra parte, efluentes de *Mugil cephalus* en modo batch fueron usados para el crecimiento de *Tetraselmis suecica*, *Dunaliella tertiolecta* e *Isochrysis galbana* donde se reportaron consumos muy elevados tanto para N como P totales en las tres cepas evaluadas (Andreotti et al., 2017). No solo aguas residuales procedentes de la etapa de cultivo han sido evaluadas, es el caso del estudio reportado por Apandi et al (2019) en el cual se usó agua residual de mercado de productos frescos, procedente principalmente de vísceras de pescado y marisco (diluida al 50% en agua desionizada), la cual fue remediada con *Scenedesmus sp.* logrando tasas de eliminación del 91% y 87% para el P y el N totales.

De lo anterior se puede establecer que la integración del tratamiento de las aguas residuales piscícola con el cultivo de algas dentro de los sistemas de recirculación acuícola (RAS) puede aportar no sólo beneficios ecológicos sino también económicos (Hawrot-Paw et al., 2020). La generación de biomasa y productos de valor agregado permite la sustentabilidad de los sistemas acuícolas, tal es el caso de la aplicación de *Tetraselmis sp.* y *Phaeodactylum sp* para la biorremediación de estas aguas, donde la biomasa generada fue usada como alimento de ostras (Li et al., 2019). Otros estudios muestran la viabilidad de la producción de biomasa de microalgas como alimento vivo para los criaderos de acuicultura, donde se identificó una reducción del 92% del costo de producción al aumentar la escala de 25 a 1500 m² (Oostlander et al., 2020).

De igual manera otras aplicaciones se han estudiado para el aprovechamiento de la biomasa generada de los procesos de biorremediación de agua de piscicultura. Uno de dichos estudios

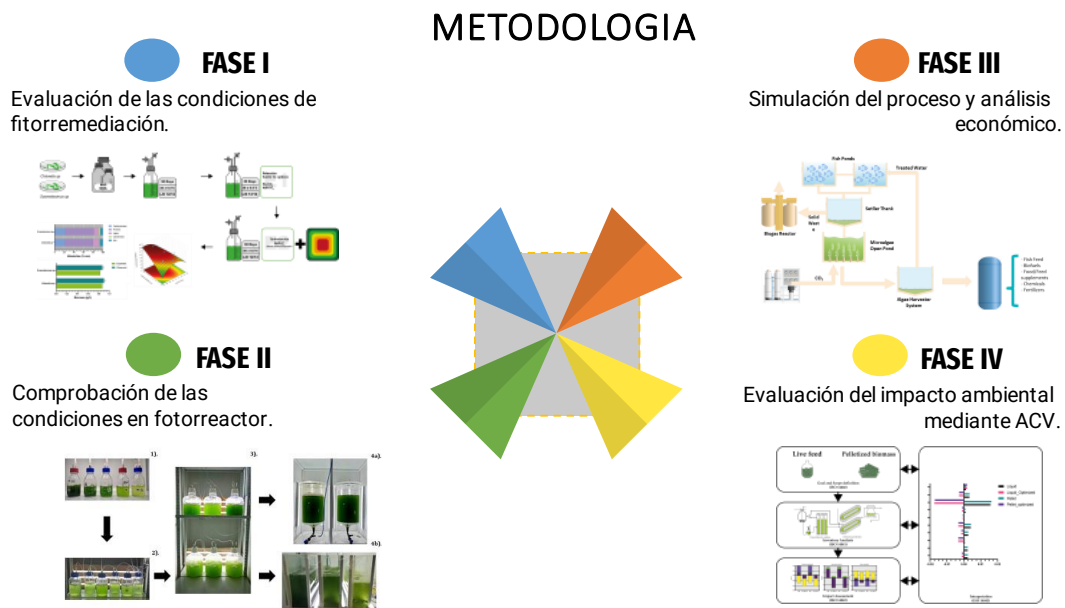
muestra la utilidad de *S. platensis* en el tratamiento de aguas residuales de acuicultura y demostró que la posterior aplicación de la biomasa algal en estudios de fertilización para hortalizas promueve un mayor crecimiento de las plantas en todas las hortalizas probadas, en comparación con los controles (Wuang et al., 2016). En el mismo sentido se realizó el estudio de efluentes de la producción de cangrejos, las cuales se consideraron adecuados para el crecimiento de, *C. vulgaris* y *S. obliquus*, con excelentes tasas de biorremediación. Mientras que el uso de la biomasa algal producida mostró resultados muy prometedores como bioestimulante en la germinación de las semillas de trigo y berro, simultáneamente se realizaron evaluaciones de torrefacción demostrando que la biomasa torrefacta tenía resultados prometedores como vector energético (72% de biocarbón), así como estimulante en la germinación de las semillas (60% en berros y 40% en trigo). Además, el carbón producido también pudo utilizarse como adsorbente en efluentes contaminados con colorantes, alcanzando un 63% de adsorción sin ningún tratamiento adicional. (Viegas et al., 2021).

Esta revisión de antecedentes establece la importancia del presente estudio, mostrando la trascendencia de la aplicación de microalgas en los procesos de biorremediación de aguas residuales de piscicultura, además del cierre de la cadena de valor con el aprovechamiento de la biomasa generada en el proceso.

2. Metodología

El presente proyecto se desarrolló en 4 fases que permitieron el cumplimiento de los objetivos planteados: Fase I: Se realizó la evaluación de las condiciones de fitorremediación mediante el ajuste del agua residual como medio de cultivo y evaluando con esto la cinética de crecimiento de la microalgas de acuerdo a la formulación del medio de cultivo generado, Fase II: Comprobación de las condiciones de cultivo a un mayor volumen de cultivo con dos tipos de fotorreactores y a escala de 80 l de cultivo, Fase III: Se realizó mediante el programa SUPERPRO la simulación del proceso y análisis económico para su implementación a nivel industrial y la Fase IV: Evaluación del impacto ambiental de la metodología planteada mediante la herramienta de análisis de ciclo de vida presentando las posibles alternativas de ajuste al sistema.

Figura 2 Fases de la metodología desarrollada



3. Objetivos

Objetivo General

Desarrollar y aplicar una Metodología del diseño y construcción de un sistema de Fitorremediación de un Complejo de Recirculación Acuícola para el aprovechamiento sostenible de aguas Post-Consumo mediante la aplicación de conceptos de economía circular y cero residuos.

Objetivos Específicos

- Diseñar y construir un sistema para la fitorremediación de las aguas post-consumo de un sistema de producción acuícola.
- Realizar la evaluación del proceso y análisis económico del sistema de fitorremediación propuesto mediante la simulación del proceso, con el fin de elaborar recomendaciones para escalamiento de sistema de fitorremediación y el aprovechamiento de la biomasa generada en productos de valor agregado.
- Evaluar el impacto ambiental de la metodología propuesta mediante el análisis de ciclo de vida enfocados en la aplicación de conceptos de economía circular y cero residuos.

4. Resultados

En el presente apartado se presentan los resultados obtenidos en marcados en el desarrollo una nueva Metodología para el diseño y construcción de un sistema de Fitorremediación de un Complejo de Recirculación Acuícola para el aprovechamiento sostenible de aguas Post-Consumo mediante la aplicación de conceptos de economía circular y cero residuos. La metodología está basada en tres componentes claves del desarrollo sostenible: diseño de un sistema novedoso de Fitorremediación junto con el análisis de Ciclo de Vida y validación económica. Los resultados aquí obtenidos sugieren que las microalgas pueden recuperar eficazmente los nutrientes de las aguas residuales piscícolas con la producción simultánea de biomasa para su aprovechamiento como suplementos alimenticios para los peces, además de otros productos de alto valor, lo que permite impulsar una bioeconomía sostenible.

4.1.1. Evaluación de las condiciones de biorremediación de microalgas y cianobacterias en aguas de piscicultura.

La información presentada en este apartado corresponde a los resultados publicados en el artículo:

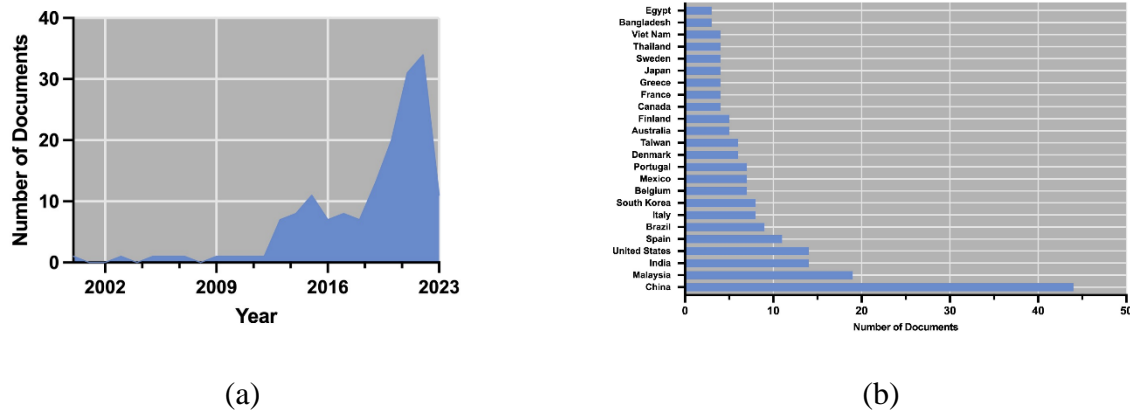
García-Martínez, J. B., Sanchez-Tobos, L. P., Carvajal-Albarracín, N. A., Barajas-Solano, A. F., Barajas-Ferreira, C., Kafarov, V., & Zuorro, A. (2022). The Circular Economy Approach to Improving CNP Ratio in Inland Fishery Wastewater for Increasing Algal Biomass Production. In Water (Vol. 14, Issue 5). <https://doi.org/10.3390/w14050749>

4.1.2. Introducción

La producción acuícola se desarrolla en dos tipos de sistemas: abiertos (con intercambio constante de agua) y cerrados (sin intercambio de agua) (Tejido-Nuñez et al., 2019). Sin embargo, Los sistemas abiertos requieren un gran volumen de intercambio de agua, lo que genera una elevada demanda de agua dulce y una alta concentración de aguas residuales con niveles significativos de nitrógeno y fósforo inorgánico disuelto que deben ser tratadas de forma segura antes de su eliminación (Mook et al., 2012).

La investigación y el desarrollo sobre la aplicación de los residuos líquidos de la acuicultura como fuente de nutrientes para producir metabolitos basados en algas es un campo que, en los últimos años, ha atraído a diferentes investigadores de todo el mundo. La figura 3 muestra el número de publicaciones en los últimos 23 años (TITLE-ABS-KEY: aquaculture AND wastewater AND microalga), en búsqueda realizada en abril del 2023 en la base de datos Scopus (Elsevier). Se puede observar que, desde 2018, el número de documentos se ha incrementado exponencialmente hasta un número final de 166. China, Malasia, India, España y Estados Unidos dominan la publicación científica sobre el uso de las aguas residuales de acuicultura para convertirlas en metabolitos y biomasa utilizables.

Figura 3 Análisis bibliométrico sobre el tratamiento de aguas residuales piscícolas con microalgas



Nota. Evolución del número de publicaciones de 2012 a 2022 sobre el tratamiento de aguas residuales acuícolas mediante biotecnología de microalgas (a) y su país de origen (b).

Hasta la fecha, el uso de diferentes cepas de microalgas y cianobacterias como *Chlamydomonas* sp. (Morando-Grijalva et al., 2020), *Chlorella* sp. (Lugo et al., 2020; Mtaki et al., 2021; Hesni et al., 2020), *Dunaliella* sp. (Malibari et al., 2018; Andreotti et al., 2017; Andreotti et al., 2019), *Isochrysis* sp. (Andreotti et al., 2017) *Nannochloropsis* sp. (Dourou et al., 2018; Malibari et al., 2018), *Navicula* sp. (Malibari et al., 2018), *Oscillatoria* sp. (Attasat et al., 2013), *Parachlorella* sp. (Liu et al., 2019), *Platymonas* sp. (Barnharst et al., 2018; Ding et al., 2020), *Scenedesmus* sp. (Malibari et al., 2018; Peng et al., 2020), *Spirulina* sp. (Cardoso et al., 2020), *Synedra* sp. (Li et al., 2017), *Tetraselmis* sp. ((Spiliotopoulou et al., 2018; Gao et al., 2016; Andreotti et al., 2017), biofilm de algas y bacterias (Han et al., 2020) y consorcios mixtos de cepas de algas (Wicker et al., 2020) para la eliminación de nutrientes de las aguas residuales de la pesca se ha probado a escala de laboratorio (<50 L) y de demostración (>200 L) en países como Bélgica

(Sfez et al., 2015; Van Den Hende et al., 2014) China (Andreotti et al.,2020), Colombia (Guiza-Franco et al., 2018; Garcia-Martínez et al., 2019), Dinamarca (Wicker et al., 2020), España (Villar-Navarro et al., 2021; Milhazes-Cunha & Otero., 2017), Sudáfrica (Ansari et al., 2017; Guldhe et al., 2017) y Polonia (Hawrot-Paw et al., 2020). Un dato interesante de estos estudios es que la mayoría de los autores trabajaron con aguas residuales procedentes de sistemas RAS. Hay pocos informes sobre la utilización de aguas residuales de pesquerías continental con altas tasas de intercambio de agua. El presente apartado evalúa las aguas residuales de la pesca continental con alto intercambio de agua como fuente de nutrientes para producir microalgas.

4.1.3. Metodología

Aguas residuales de piscicultura

El agua residual no tratada utilizada en este estudio se obtuvo de la empresa El Manantial del municipio de El Zulia (Norte de Santander, Colombia). La producción de peces (*Oreochromis sp.*) se lleva a cabo en estanques abiertos aireados con intercambio de agua constante durante todo el año. El sistema utiliza agua de un río local, filtrada a través de un filtro de malla fina con una tasa de reposición de agua del 40% al día. Las muestras proceden de la etapa de engorde con una tasa de alimentación de aproximadamente tres raciones para 7 g/unidad-día (aproximadamente 24% p/p de proteína, y 2,5 p/p de lípidos) hasta alcanzar una densidad de cultivo de 20-30 peces/m³. El agua se recogió a lo largo de 2019 (de febrero a diciembre) utilizando un frasco de borosilicato ámbar estéril y se transportó a 20 °C. El agua residual se utilizó inmediatamente después de su llegada y se analizó químicamente (pH, turbidez, temperatura, DBO₅, DQO, alcalinidad total,

acidez, dureza total, dureza cálcica, nitratos y fosfatos) según los métodos estándar para examinar el agua y las aguas residuales (Baird & Bridgewater 2017).

Microorganismos

Se utilizaron como inóculo *Chlorella* sp. (CHLO_UFPS010) y *Scenedesmus* sp. (SCEN_UFPS015) de la colección INNOValgae (UFPS, Colombia), en una proporción del 20% con respecto al volumen del cultivo. Las cepas se pre-cultivaron en un matraz de vidrio de 2 L con un volumen de trabajo de 1,2 L que contenía medio Bold Basal (Andersen, R. A. 2005). El medio se mezcló mediante la inyección de aire filtrado con 0,5% (v/v) de CO₂ a un flujo de 0,78 L min⁻¹, 25 °C y un ciclo de luz/oscuridad de 12:12 h a 100 μmol·m⁻²·s⁻¹ durante 30 días.

Diseño experimental

Las aguas residuales de piscicultura se filtraron dos veces según Hawrot-Paw et al. (2020) se esterilizaron con rayos UV utilizando un dispositivo previamente diseñado para este tipo de aguas residuales (Guiza-Franco et al., 2018). Para identificar la mejor fuente inorgánica de carbono que mejorara la producción de biomasa algal y la eliminación de N y P, el agua residual se suplementó con diferentes concentraciones (0,8, 1,2 y 1,6 g/L) de carbonato de sodio (Na₂CO₃) o de bicarbonato de sodio (NaHCO₃) antes de la inoculación. Ambas cepas se cultivaron (por triplicado) en un matraz de vidrio de 2 L con un volumen de trabajo de 1,2 L de agua residual estéril. Cada matraz se mezcló mediante la inyección de aire filtrado a un flujo de 0,78 L·min⁻¹ y un ciclo de luz/oscuridad de 12:12 h a 100 μmol·m⁻²·s⁻¹ durante 30 días. Como controles, las cepas

se cultivaron en Medio Bold Basal (control BBM) y agua residual sin adición de carbono (control WW).

La biomasa producida se cosechó utilizando un dispositivo de electroflotación (10 electrodos de aluminio, 20 min, 150 rpm y 50 W) (Sanchez-Galvis et al., 2020; Castellanos-Estupinan et al., 2018), se lavó tres veces con agua destilada, se liofilizó y se almacenó (4 °C) hasta su uso. Por último, se midieron los diferentes componentes de la biomasa, como los carbohidratos (García-Martínez et al., 2016; Barajas-Solano et al., 2014), las proteínas (Mota et al., 2018), los lípidos (Mishra et al., 2014), los carotenoides (Mishra et al., 2018) y las cenizas (Rasoul-Amini et al., 2014). En los medios libres de células se analizó su contenido en nitratos y fosfatos.

Aguas residuales suplementadas

Se analizó el efecto de suplementar las aguas residuales con N, P y una fuente de carbono. Para ello, se utilizaron las concentraciones de NaNO_3 , el buffer de fosfato (K_2HPO_4 y KH_2PO_4) presentes en el Medio Bold Basal (Andersen, R. A. 2005), y bicarbonato de sodio (NaHCO_3) como fuente de carbono. El efecto de estos componentes se evaluó mediante un diseño de superficie de respuesta no factorial con tres factores, tres niveles y dos puntos centrales. El diseño resuelto se puede encontrar en la Tabla 2.

Tabla 2 *Diseño de experimentos para el análisis de la relación C/N/P*

Experimento	NaNO ₃ (mL/L)	buffer Fosfato		NaHCO ₃ (g/L)
		K ₂ HPO ₄ (mL/L)	KH ₂ PO ₄ (mL/L)	
10 (C)	7	7	7	1,2
12	10,3	7	7	1,2
17 (C)	7	7	7	1,2
13	7	3,7	3,7	1,2
6	5	5	5	1,6
11	3,7	7	7	1,2
14	7	10,3	10,3	1,2
2	5	9	9	1,6
3	9	5	5	1,6
9	9	9	9	1,6
1	5	5	5	0,8
4	9	9	9	0,8
7	5	9	9	0,8
5 (C)	7	7	7	1,2
16	7	7	7	1,87
8	9	5	5	0,8
15	7	7	7	0,53

La producción de biomasa con el medio ajustado fue comprobada en reactores de diferente volumen. Inicialmente, *Chlorella* sp. (CHLO_UFPS010) fue inoculada (en una relación del 20% con respecto al volumen de cultivo) en agua residual de piscicultura con NO₃ (0,125 g/L), PO₄ (K₂HPO₄ + KH₂PO₄, 10 ml/L) y NaHCO₃ (0,5 g/L) ajustados en 20 frascos de 500 mL con un volumen de trabajo de 250 mL durante 20 días de acuerdo con los resultados publicados en García-Martínez et al (2022). Al finalizar el tiempo se utilizó parte del volumen de cultivo para la inoculación en 10 frascos de 2 L con un volumen de trabajo de 1,4 L durante 20 días. De igual forma, parte de este volumen se empleó para inocular 6 frascos Nalgene® de 10L, con 8 L de volumen de trabajo. El volumen de estos frascos se empleó para la inoculación de dos tipos de fotobiorreactores (tubular y flat-plate). Cada uno de los fotobiorreactores evaluados tienen un volumen de 30 L con un volumen de trabajo de hasta 20 L. Los reactores fueron agitados mediante la inyección de aire filtrado a un flujo de 0,06 vvm, esto tanto para los tubulares como para los

flat-plate. De igual forma se iluminaron con lámparas LED a una intensidad de $120 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y un ciclo de luz/oscuridad de 12:12 durante 30 días (figura 7). Una vez cada 5 días, se tomaron muestras de biomasa para determinar la concentración de biomasa y proteínas totales.

4.1.4. Resultados

Aguas residuales piscícolas

Los nutrientes, como el nitrógeno y el fósforo, son los principales responsables de la eutrofización de las masas de agua cercanas a los lugares de producción pesquera (Dourou et al., 2018); por lo tanto, la eliminación de esos nutrientes es un paso fundamental para prevenir los impactos negativos en los entornos acuáticos locales (Nasir et al., 2015; Garcia-Martinez et al., 2016). Se analizaron las aguas residuales para determinar el contenido de nitratos, fosfatos y otros parámetros necesarios para identificar la calidad del agua (Tabla 3).

Tabla 3 *Caracterización Físicoquímica del agua residual*

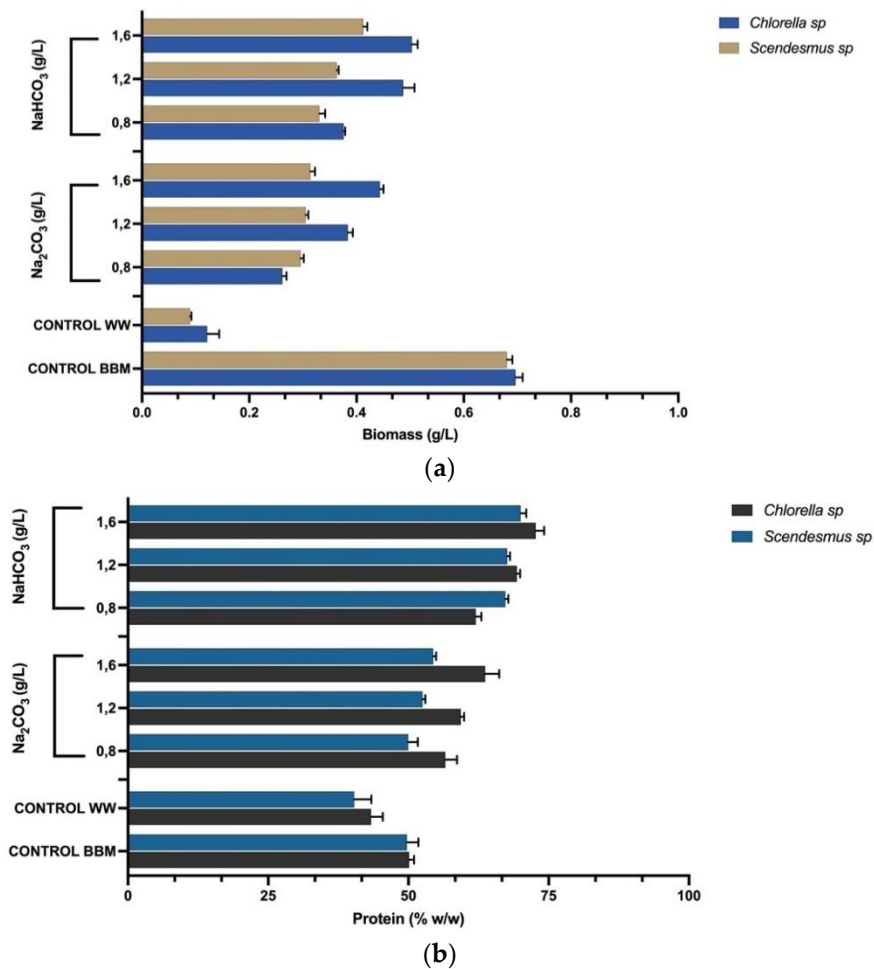
Parámetros	Unidades	Valor Medio
pH	pH	$8 \pm 0,1$
Turbiedad	NTU	$20 \pm 0,8$
Temperatura	°C	$24 \pm 0,5$
Demanda Bioquímica de Oxígeno (BOD ₅)	mg/L	$25,3 \pm 0,02$
Demanda Química de Oxígeno (COD)	mg/L	$41 \pm 0,05$
Alcalinidad Total	mg/L CaCO ₃	$80,88 \pm 4,2$
Acidez	mg/L CaCO ₃	$6 \pm 0,08$
Dureza total	mg/L CaCO ₃	$90 \pm 0,82$
Dureza Cálctica	mg/L CaCO ₃	$62,5 \pm 0,3$
Nitratos	mg/L NO ₃	$80 \pm 0,04$
Fosfatos	mg/L PO ₄	$70 \pm 0,07$

Efecto de la Fuente de carbono

De acuerdo con los resultados, las mayores concentraciones de carbonato y bicarbonato de sodio (>1 g/L) mejoraron la concentración final de biomasa en ambas cepas en comparación con

el crecimiento de la cepa en las aguas residuales (control WW). *Chlorella sp.* creció ligeramente mejor en las aguas residuales (hasta 0,51 g/L) que *Scenedesmus sp.* (0,41 g/L) suplementadas con las diferentes fuentes de carbono; sin embargo, el bicarbonato de sodio mejoró la producción de biomasa (Figura 4a) y de proteínas (Figura 4b) en comparación con el carbonato de sodio. Se resalta además la producción de proteínas que tanto para carbonato como bicarbonato superaron incluso la producción en medio BBM

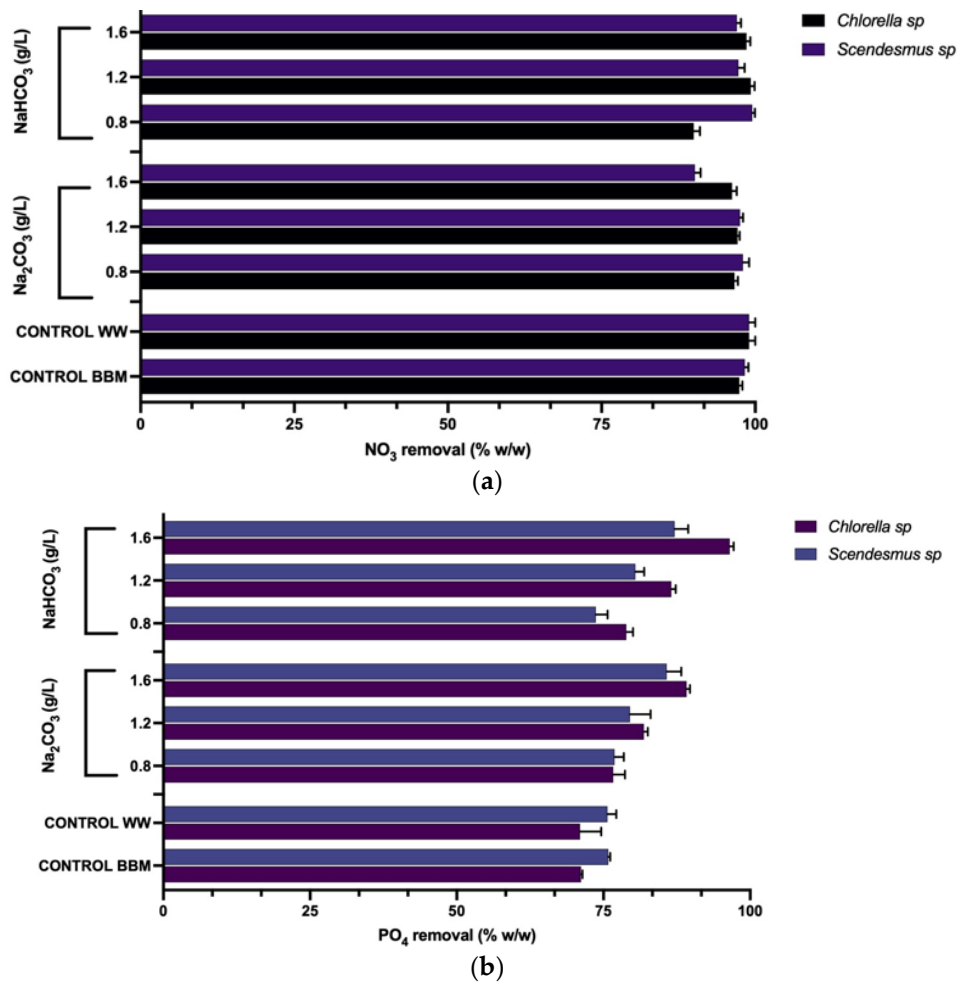
Figura 4 Concentración de biomasa y proteína



Nota. La figura 4 muestra la concentración de biomasa (a) y contenido de proteínas (b) utilizando diferentes concentraciones de carbonato y bicarbonato de sodio.

A diferencia de la biomasa, la eliminación de NO_3 y PO_4 de ambas cepas se mantuvo relativamente constante, incluso en comparación con los dos controles (BBM y WW). Según los resultados de la absorción de NO_3 (Figura 5a), no hubo diferencias significativas entre ambas fuentes de carbono y los controles. Por otro lado, la eliminación de PO_4 (Figura 5b) pareció estar influenciada por la concentración de la fuente de carbono. En los experimentos con mayor Na_2CO_3 y NaHCO_3 , se consumió más del 80% del PO_4 .

Figura 5 eliminación de NO_3 y PO_4



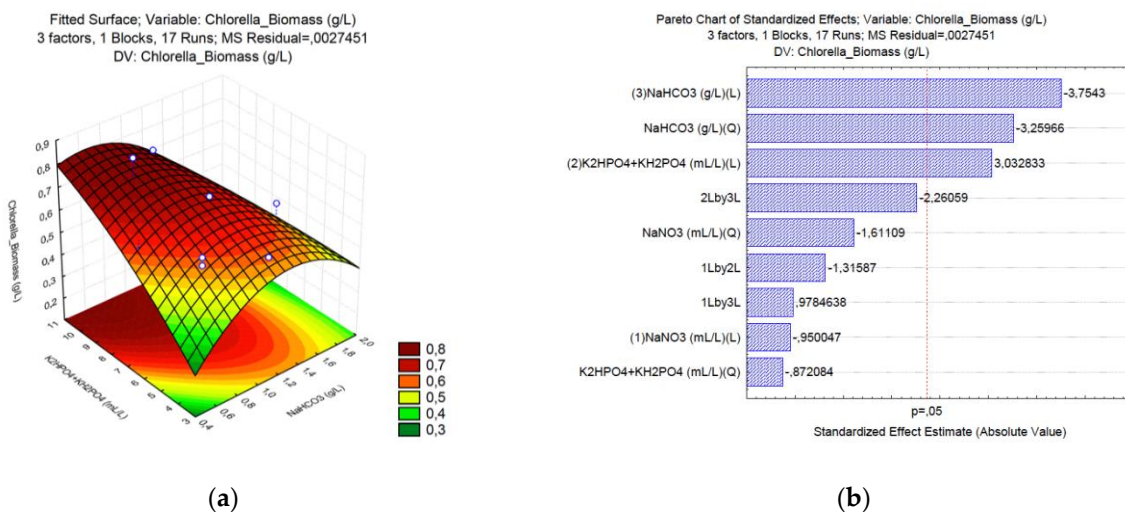
Nota. La figura 5 muestra la eliminación de nitrato (NO_3) (a) y fosfato (PO_4) (b) utilizando diferentes concentraciones de carbonato y bicarbonato de sodio.

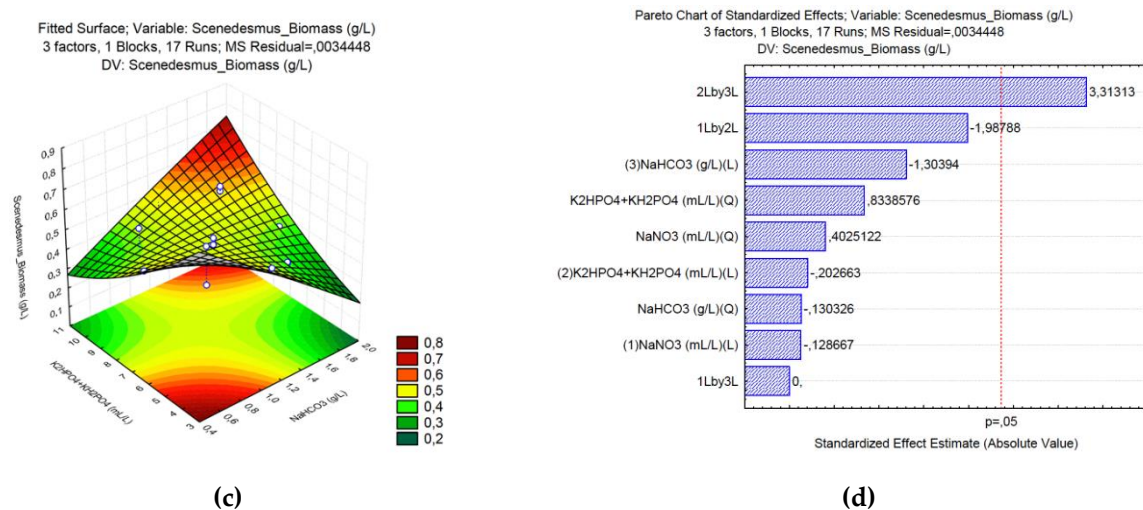
El análisis y la selección de la fuente de carbono son pasos críticos en la producción de biomasa de algas y cianobacterias; la concentración correcta de la fuente de carbono empleada potenciará la síntesis y acumulación de los metabolitos de interés (Zuorro et al., 2021). La mayoría de los estudios encontrados en la literatura utilizaron CO₂ como fuente primaria de carbono; sin embargo, el carbonato de sodio es la fuente de carbono preferida en diferentes medios de cultivo como el BG11. Otras fuentes de carbono como el bicarbonato de sodio y el acetato de sodio se han estudiado como fuente alternativa para la producción de algas. Lu et al. encontraron que el bicarbonato de sodio redujo significativamente el contenido de N y P mientras producía hasta 1,7 g/L de *Spirulina platensis* en aguas residuales porcinas crudas (Lu et al., 2021). En el presente estudio, ambas cepas crecieron mejor en las aguas residuales suplementadas con hasta 1,6 g/L de bicarbonato de sodio; sin embargo, la concentración final de biomasa fue relativamente baja (0,4-0,6 g/L) para ambas cepas, lo que puede deberse a los menores niveles de N y P disponibles. En otro estudio, Do et al. probaron la eficiencia de una nueva cepa de *Scenedesmus acuminatus* en niveles altos de carbonato. Los autores encontraron que la cepa era capaz de soportar hasta 4,2 g/L de bicarbonato sódico con una concentración de biomasa (1,7 g/L) y una alta remoción de N y P (Do et al., 2021). Otros trabajos utilizando carbonato (Duan et al., 2020) y bicarbonato de sodio (Cuéllar-García et al., 2019) en *S. obliquus* encontraron valores de concentración de biomasa más bajos (0,21 y 0,68 g/L respectivamente). Por último, Barajas-Solano et al. encontraron que una concentración relativamente baja de carbonato de sodio aumentó la biomasa y la producción de hidrocarburos en una cepa colombiana de *Botryococcus braunii* (Barajas-Solano et al., 2016)

Aguas residuales suplementadas

Los datos experimentales relativos a los efectos de la concentración de NaNO_3 , NaHCO_3 y buffer fosfato (K_2HPO_4 y KH_2PO_4) sobre la producción de biomasa se ajustaron a dos modelos: lineal (L) y cuadrático (Q) (Figura 6b, d). El NaHCO_3 y el buffer fosfato afectaron a la concentración final de biomasa en ambas cepas. La Figura 6a, c presenta los gráficos de superficie de respuesta para el efecto de $\text{NaHCO}_3/\text{K}_2\text{HPO}_4 + \text{KH}_2\text{PO}_4$ en la concentración de biomasa para *Chlorella sp.* y *Scenedesmus sp.* Según los resultados concentraciones de buffer de fosfato superiores a 10 mL/L favorecen la concentración final de biomasa para ambas cepas, mientras que para *Chlorella sp.* se requiere de bajas concentraciones de NaHCO_3 (0, 4-0,8 g/L) y para *Scenedesmus sp.* concentraciones superiores a 1,5 g/L NaHCO_3 .

Figura 6 Gráficas de superficie de respuesta y Pareto para *Chlorella sp.* (a,b), y *Scenedesmus sp.* (c,d).





Al analizar los resultados de las interacciones encontradas entre las variables (Figura 6a-d), se eligió la relación NaHCO_3 a $\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{K}_2\text{HPO}_4$. La Tabla 4 representa los escenarios más altos para la concentración de biomasa; X es la concentración de NaHCO_3 (mL/L), e Y es la concentración de $\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{K}_2\text{HPO}_4$ (mL/L) mientras se mantiene el NaNO_3 a 5 mL/L (0,125 g/L de NaNO_3) para cada cepa.

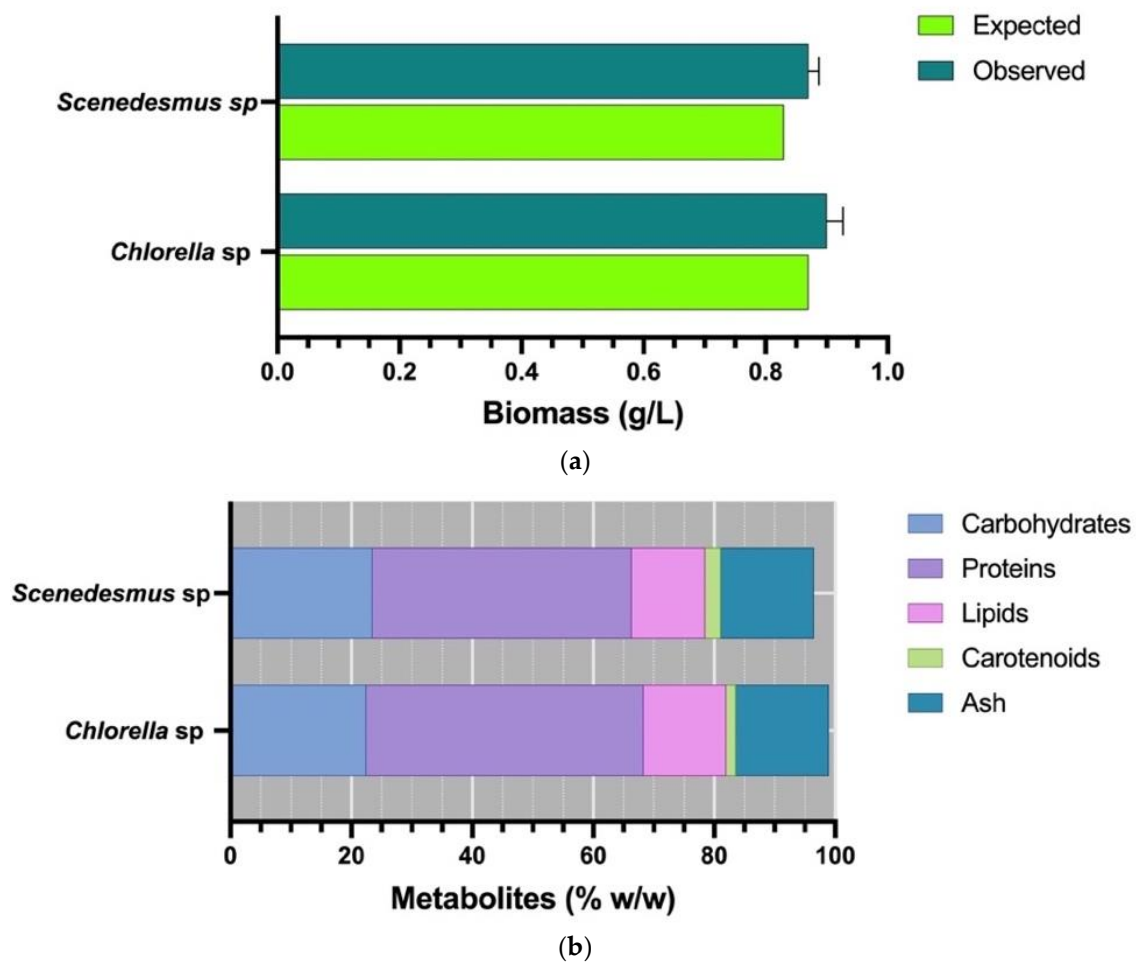
Tabla 4 Variables evaluadas para la concentración óptima de biomasa en ambas cepas.

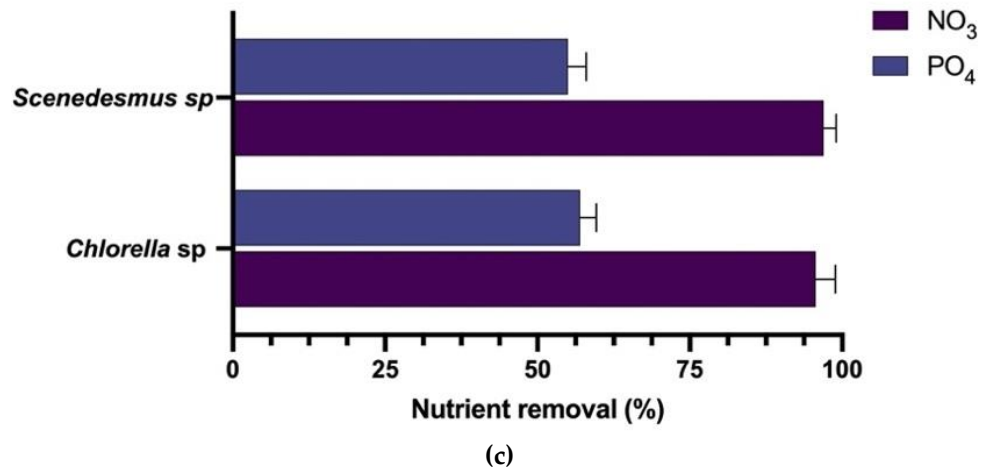
Cepa	Etiqueta	Variable	Valor
<i>Chlorella</i> sp	X	NaHCO_3 (g/L)	0,5
	Y	$\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{K}_2\text{HPO}_4$ (mL/L)	11
	Z _(esperado)	Biomasa (g/L)	0,87
<i>Scenedesmus</i> sp	X	NaHCO_3 (g/L)	2
	Y	$\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{K}_2\text{HPO}_4$ (mL/L)	11
	Z _(esperado)	Biomasa (g/L)	0,83

En las condiciones optimizadas, la concentración de biomasa producida fue ligeramente superior al resultado esperado para *Chlorella* sp. y *Scenedesmus* sp. (0,9 y 0, 87 g/L) (Figura 7a), con una interesante concentración de carbohidratos (22,5% y 23,5% p/p), proteínas (45,8% y

42,8% p/p), lípidos (13,6 y 12,2% p/p), carotenoides totales (1,6% y 2,5% p/p) y cenizas (15,4% y 15,3% p/p) (Figura 7b). La eliminación de NO₃ y PO₄ (Figura 7c) mostró que más del 95% del NO₃ disponible y hasta el 50% del PO₄ fueron consumidos por ambas cepas.

Figura 7 Producción de componentes y eliminación de nutrientes en condiciones optimizadas.





Nota. En la gráfica 7 se muestra la producción de biomasa (a), su composición (b) y la eliminación de nutrientes (c) en las condiciones optimizadas para las aguas residuales suplementadas para *Chlorella* y *Scenedesmus sp.*

De acuerdo con los resultados obtenidos, donde se estableció los mejores criterios para la producción, se desarrollo el proceso de evaluación de dichas condiciones a volúmenes mayores partiendo de un inoculo de 500 ml hasta llegar a un volumen de cultivo de hasta 40 L

Figura 8 Ruta de inoculación del cultivo desde frascos de 500 mL (1), 2L (2), 10L (3), hasta lograr la inoculación de fotobiorreactores tubulares de 30L (4a) y fotobiorreactores flat-plate (4b).

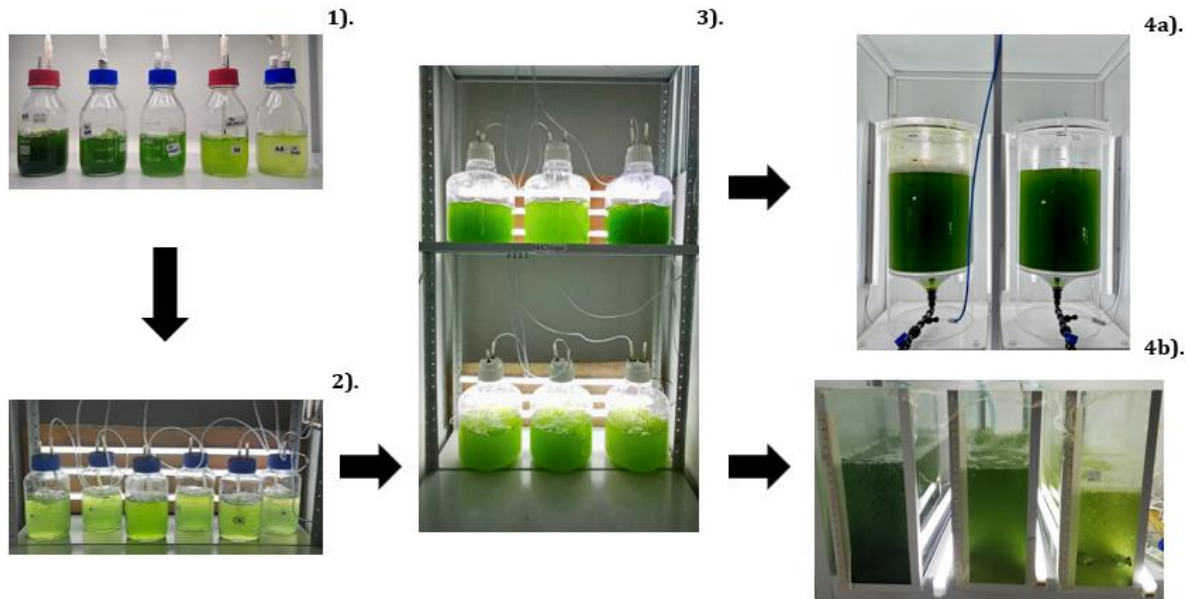
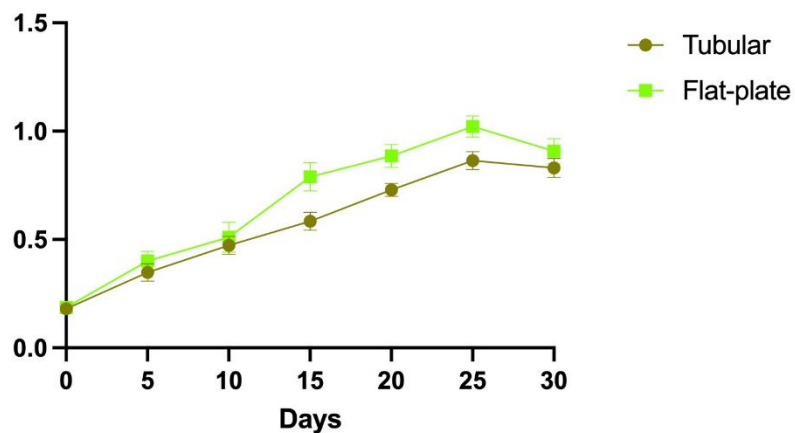


Figura 9 Cultivo de *Chlorella* sp. (CHLO_UFPS010) en dos tipos de fotobiorreactores.

De acuerdo con los resultados de la figura 9, después de 30 días de cultivo, la concentración



de biomasa producida en el flat-plate es ligeramente mayor que la obtenida en el fotobiorreactor tubular. Lo anterior se puede explicar debido al área expuesta a la luz, ya que el reactor tipo flat-

plate posee un área plana mayor, la cual está más expuesta, además, el ancho de este reactor es mucho menor (15 cm de ancho en comparación con 40 cm de diámetro del tubular), lo cual hace que la luz fluya que manera homogénea. Por otro lado, la tabla 5 muestra los resultados de productividad de biomasa y concentración final de proteínas totales (% p/p). Estos resultados demuestran que la diferencia en productividad entre los dos reactores es mínima, y que la concentración final de proteínas totales en la biomasa es menor al 3% (p/p).

Tabla 5 *Variables de concentración de biomasa y proteínas en Chlorella sp. (CHLO_UFPS010)*

Fotobiorreactor	Biomasa		Proteínas Totales
	Concentración final	Productividad	Concentración final
	(g/L)	(g/L*d ⁻¹)	(% p/p)
Tubular	0,8	0,0200	44,3
Flat-Plate	0,9	0,0239	45,7

Existen varias consideraciones que son importantes, una de ellas es el valor final de cada reactor. El fotobiorreactor tubular fue adquirido de la empresa Synoxis algae (Francia) por un costo unitario de cuatro millones de pesos (más impuestos y envío), este equipo fue construido en plástico resistente a ácido y sus piezas de repuesto (inyector de aire y válvulas) deben ser adquiridas directamente con la empresa francesa. Mientras que cada reactor flat-plate fue construido localmente con materiales de fácil acceso a nivel nacional; su precio final fue de doscientos mil pesos colombianos. Lo último hace que la opción más viable económicamente hablando sea la producción de inóculos de cepas de microalgas en los fotobiorreactores flat-plate.

Por otra parte, es importante resaltar que en la región de Norte de Santander (Colombia), la mayor parte de las pesquerías continentales trabajan bajo un constante intercambio de agua; este proceso permite eliminar el alto contenido de nutrientes de los sistemas de producción, manteniendo al mismo tiempo los niveles de oxígeno, lo que ayuda al crecimiento de los peces y evita la proliferación de floraciones de microorganismos tóxicos. Esto último explica la menor cantidad de NO_3 y PO_4 encontrada en las muestras. Por lo tanto, las aguas residuales deben ser complementadas con una fuente externa de N y P para apoyar el crecimiento de las microalgas para producir alimento para los peces, lo que puede aumentar el costo de producción.

Los resultados acá plasmados, muestran que la interacción entre el bicarbonato de sodio y la fuente de fosfato mejoró la producción de biomasa; hasta se sabe, este es el primer informe sobre el efecto de la interacción P/C en la concentración de biomasa utilizando aguas residuales procedentes de la pesca continental. La mayoría de los trabajos publicados en los últimos años se centran en la viabilidad del N, el P y la concentración de la fuente de carbono (en forma de CO_2). El nitrógeno y el fosfato se destinan a la síntesis de proteínas y metabolitos esenciales, mientras que el carbono se emplea en la fijación del nitrógeno y la producción de biomasa (Barajas-Solano et al., 2016).

La aplicación de cultivos de microalgas como proceso sostenible para la eliminación de nutrientes se ha estudiado en aguas residuales de *Oreochromis niloticus* ((Tejido-Nuñez et al., 2019; Zuorro et al., 2021; Guldhe et al., 2017; Halfhide et al., 2014; Lugo et al., 2020), *Lates calcarifer* (Crab et al 2007), cultivo de camarones (Ge et al., 2016; Peng et al., 2020; Barnharst et al., 2018), *Mugil cephalus* (Dourou et al., 2018; Daneshvar et al., 2018), *Sparus aurata* (Dourou et al., 2018; Andreotti et al., 2020), *Scophthalmus maximus* (Michels et al., 2014), e incluso aguas residuales sintéticas (Daneshvar et al., 2018; Ding et al., 2020). De acuerdo con los resultados, el porcentaje

de NO_3 eliminado (>95%) es similar al reportado por la mayoría de los autores; sin embargo, la tasa de PO_4 fue menor que la de otros autores ya que el agua residual fue suplementada con P externo.

La concentración de biomasa producida se ve afectada no sólo por el comportamiento biológico de la cepa, sino también por la fuente de las aguas residuales y el método de cultivo de las algas. En general, la concentración de biomasa registrada para diferentes cepas en una amplia gama de aguas residuales de acuicultura oscila entre 0,1 y 1 g/L. Las mayores concentraciones de biomasa de algas registradas fueron reportadas por Han et al. (2020), Guldhe et al., 2017 y Tejido-Núñez et al. (2019), (2,52, 2,47 y 2,28 g/L, respectivamente); sin embargo, Han et al. (2020) utilizaron consorcios de algas-bacterias, mientras que Gulde et al. (2017) cultivaron la cepa en modo heterotrófico y Tejido-Núñez et al. (2019) utilizaron aguas residuales no estériles. Otros autores, como Malibari et al. (2018) y Ge et al. (2016), informaron de la menor concentración de biomasa (<0,5 g/L); incluso cuando los autores evaluaron una amplia gama de cepas de algas, las aguas residuales evaluadas se obtuvieron del cultivo de camarones (incluyendo *Penaeus (Litopenaeus) vannamei*). Por lo tanto, este tipo de agua residual no posee altos nutrientes para la producción de algas. Los diferentes estudios enumerados en la Tabla 6 muestran niveles similares de eliminación de NO_3 y PO_4 , lo que implica que las diferentes cepas estudiadas son capaces de consumir esos nutrientes; sin embargo, a menos que las aguas residuales procedan de sistemas de recirculación acuícola (RAS), como el trabajo de Dourou et al. (2018), se complementen con aguas residuales de pulpa de papel (Tao et al., 2017), se enriquezcan con digestato de biogás (Wicker et al., 2020), o incluso se enriquezcan con un medio de cultivo (Cardoso et al 2021), este tipo de aguas residuales no son capaces de mantener grandes concentraciones de biomasa algal. Por último, el contenido

en proteínas de estas cepas oscila entre el 24% y el 60% (p/p), lo que las convierte en una fuente interesante para la alimentación de los peces.

Tabla 6 *Cepas evaluadas para la eliminación de nutrientes (NO₃ y PO₄) y la concentración de biomasa producida en diferentes aguas residuales acuícolas.*

Cepa	Producción de biomasa (g/L)	Contenido de proteína (% w/w)	Fuente de agua residual	Remoción NO ₃ (%)	Remoción PO ₄ (%)	Referencia
<i>Chlamydomonas</i> sp.	0,66	n/a	<i>Oreochromis niloticus</i>	84,7	96	(Morando-Grijalva et al., 2020)
<i>Chlorella</i> sp.	0,058	n/a	<i>Shrimp culture</i>	>90	>90	(Malibari et al., 2018)
<i>Chlorella</i> sp. NIVA CHL-137	n/a	n/a	<i>Lates calcarifer</i>	--	99	(Crab et al., 2007)
<i>C. sorokiniana</i>	0,39	n/a	<i>O. niloticus</i>	98,1	n/a	(Halfhide et al., 2014)
<i>C. sorokiniana</i> 211/8K	2,47 ¹	24,57		84,51	73,35	(Guldhe et al., 2017)
	0,476	n/a	<i>O. niloticus</i>	78	77	(Lugo et al., 2020)
	1,1	n/a		94,6	97,9	(Morando-Grijalva et al., 2020)
	0,58	n/a		95	81	(Attasat et al., 2013)
<i>C. vulgaris</i>	2,85	57	<i>catfish</i>	n/a	n/a	(Mtaki et al., 2021)
	n/a	n/a	<i>carpas, truchas y larvas de esturión</i>	92,23	89,25	(Hesni et al., 2020)
	0,426	n/a	<i>Cultivo de camarón</i>	86,1	82,7	(Ge et al., 2016)
	n/a	n/a		99	n/a	(Peng et al., 2020)
<i>C. vulgaris</i> LH-1	1,1	n/a	<i>Acuicultura marina</i>	97,3	53,8	(Barajas-Solano et al., 2014)
<i>C. vulgaris</i> 2714	1,12 ²	n/a	<i>acuicultura intensiva sintética</i>	99	95	(Daneshvar et al., 2018)
<i>C. vulgaris</i> CCAP 211/11B	1,31 ³	49,96	<i>Sistema de recirculación acuícola cerrado</i>	76,56	92,72	(Andreotti et al., 2019)
<i>C. vulgaris</i> CCAP 211/52	2,28	n/a	<i>O. niloticus</i>	99,8	99,7	(Tejido-Nuñez et al., 2019)
<i>Dunaliella</i> sp.	0,061	n/a	<i>Cultivo de camarón</i>	>90	>90	(Malibari et al., 2018)
<i>D. tertiolecta</i>	0,38	n/a	<i>Mugil Cephalus</i>	95,44	91,19	(Andreotti et al., 2017)

	0,329	n/a		96	99	(Daneshvar et al., 2018)
<i>Isochrysis galbana</i>	0,16	n/a		66,02	91,93	(Andreotti et al., 2017)
<i>Nannochloropsis</i> sp.	0,073	n/a	<i>Cultivo de camarón</i>	>90	>90	(Malibari et al., 2018)
<i>N. gaditana</i>	0,847	41	<i>Sparus aurata and Dicentrarchus labrax production</i>	92	87	(Dourou et al., 2018)
<i>Navicula</i> sp. 1	0,083	n/a	<i>Cultivo de camarón</i>	>90	>90	(Malibari et al., 2018)
<i>Navicula</i> sp. 2	0,077	n/a		>90	>90	
<i>Oscillatoria okeni</i>	0,38	n/a	<i>O. niloticus</i>	90	75	(Attasat et al., 2013)
<i>Parachlorella kessleri</i> TY	0,275	n/a	<i>Aguas residuales de la acuicultura</i>	99	95,6	(Liu et al., 2019)
<i>Platymonas helgolandica</i>	1,85	n/a	<i>Agua residual sintética de acuicultura marina</i>	55	80	(Ding et al., 2020)
var. <i>tsingtaoensis</i>						
<i>Platymonas helgolandica</i>	n/a	n/a	<i>Cultivo de camarón</i>	99	n/a	(Barnharst et al., 2018)
<i>Scenedesmus obliquus</i>	0,07	n/a		85	79	(Daneshvar et al., 2018)
<i>Sc. quadricauda</i> NIVA-CHL 7	0,38	n/a	<i>O. niloticus</i>	98,7	n/a	(Halfhide et al., 2014)
<i>Spirulina</i> sp.	1,1 ⁴	65,73		72,11	93,84	(Cardoso et al., 2020)
<i>Synedra</i> sp. FACHB-1712	0,37 ⁵	n/a	<i>Estanque de acuicultura de agua dulce</i>	65,44	68,98	(Li et al., 2017)
<i>Tetradesmus obliquus</i> SAG 276-1	1,98	n/a	<i>O. niloticus</i>	99,7	99,6	(Tejido-Núñez et al., 2019)
<i>Tetraselmis</i> sp.	0,081	n/a	<i>Cultivo de camarón</i>	>90	>90	(Malibari et al., 2018)
<i>T. chunii</i>	1,38	39,8	<i>Sea bass</i>	99	n/a	(Villar-Navarro et al., 2021)
	1,97	50,2	<i>Sparus aurata</i>	99,8	98,7	(Andreotti et al., 2020)
<i>T. suecica</i>	1,0	n/a	<i>Scophthalmus maximus</i>	95,7	99	(Michels et al., 2014)
	0,60	n/a		94,40	96,06	(Andreotti et al., 2017)
	0,460	n/a	<i>M. cephalus</i>	98	97	(Andreotti et al., 2019)

Algal–bacterial biofilm	2,52	n/a	<i>Cultivo mixto de peces y camarones</i>	95	99	(Han et al., 2020)
Mixed consortia	1,99 ⁶	n/a	<i>Efluente de acuicultura</i>	99,5	99,2	(Wicker et al., 2020)
<i>Chlorella</i> sp	0,9	45,8	<i>Producción de pescado en aguas continentales</i>	>95	52,3	Presente estudio
<i>Scenedesmus</i> sp	0,87	42,8	<i>(Oreochromis sp)</i>		51,4	

Nota. ¹ Crecimiento en condiciones heterótrofas. ² Co-cultivo con *Mucor indicus* 24905. ³ Mezcla de aguas residuales de pulpa de papel (60%) y de acuicultura (40%). ⁴ Aguas residuales complementadas con un 25% (v/v) de medio Zarrouk. ⁵ Relación N:P ajustada a 6:1. ⁶ Enriquecido con digestato de biogás.

4.1.5. Conclusiones

En este estudio, encontramos que las aguas residuales de las pesquerías continentales dedicadas a la producción de *Oreochromis sp.* deben ser complementadas con una fuente externa de N y P para que funcionen como fuente de nutrientes para la producción de biomasa algal. Los resultados de la optimización mediante un diseño de superficie de respuesta no factorial muestran que la adición de NaNO₃ (0,125 g/L), K₂HPO₄ (0,075 g/L), KH₂PO₄ (0,75 g/L) y NaHCO₃ (0,5 y 2 g/L para *Chlorella sp.* y *Scenedesmus sp.* respectivamente) aumentaron significativamente la biomasa de *Chlorella sp.* (0,87 g/L) y *Scenedesmus sp.* (0,83 g/L), donde la relación PO₄/NaHCO₃ aumentó la producción general de biomasa tanto en *Chlorella sp.* y *Scenedesmus sp.* Aunque estos resultados muestran que la adición de otros nutrientes no es necesaria, sigue siendo fundamental determinar la calidad de la biomasa producida en cuanto a su aplicación como suplemento

alimenticio para la producción acuícola y los posibles impactos ambientales (positivos o negativos) generados por este tipo de proceso.

4.1.6. Diseño del sistema para la fitorremediación de las aguas post-consumo de un sistema de producción acuícola.

La información presentada en este apartado corresponde a los resultados de investigación publicado en el artículo:

García-Martínez, J. B., Contreras-Roper, J. E., Urbina-Suarez, N. A., López-Barrera, G. L., Barajas-Solano, A. F., Kafarov, V., Barajas-Ferreira, C., Ibarra-Mojica, D. M., & Zuorro, A. (2022). A Simulation Analysis of a Microalgal-Production Plant for the Transformation of Inland-Fisheries Wastewater in Sustainable Feed. In *Water* (Vol. 14, Issue 2). <https://doi.org/10.3390/w14020250>

4.1.7. Introducción

El mercado mundial de biomasa y metabolitos de algas se perfila con un gran crecimiento a nivel económico, se espera que para el 2024 este alcance los 1143 millones de dólares, con una tasa de crecimiento anual del 7,39% (Yellapu et al., 2019). Debido a sus colores naturales, antioxidantes y otras sustancias químicas bioactivas con valiosas cualidades, estos microorganismos se utilizan eficazmente en los criaderos de acuicultura como suplementos para la alimentación animal (Spolaore et al., 2006). Sin embargo, su uso puede aumentar el precio del producto final debido a la selección de especies y a los costosos medios de cultivo. El uso de microalgas en un enfoque circular-bioeconómico para la industria de la acuicultura ofrecerá un

doble beneficio: tratamiento de aguas residuales de bajo costo y biomasa para alimentación animal (Guzmán et al., 2020; Apandi et al., 2019). Sin embargo, es necesario identificar y analizar las condiciones de funcionamiento, la eficiencia de la producción de biomasa y el efecto de la concentración de N, P y otros nutrientes en el crecimiento celular.

En los últimos años, la aplicación de software especializado, como Aspen Plus, SuperPro y MATLAB, ha permitido analizar los diferentes procesos de consumo de nutrientes y su transformación en biomasa total y metabolitos de interés (Bitog et al., 2011). Estudios recientes, como el modelo BIO_ALGAE, abordan los parámetros físicos, químicos y cinéticos críticos que rigen la producción de microalgas y bacterias en aguas residuales (Solimeno et al., 2017). Este modelo ha demostrado ser útil para simular la biorremediación y la producción de microalgas en aguas residuales de acuicultura en un sistema semicontinuo con diferentes factores ambientales (Andreotti et al., 2020). Sin embargo, los diferentes trabajos en este campo emplean datos de sistemas de producción templados. Según el conocimiento de los autores, no hay datos disponibles de zonas tropicales. El presente trabajo se centra en el análisis de simulación de una planta de producción de microalgas bajo diferentes escenarios para transformar las aguas residuales de la pesca continental en alimento animal sostenibles con un enfoque economía circular.

4.1.8. Metodología

Cepa

En este estudio se utilizó *Chlorella sp.* (CHLO_UFPS010) de la colección INNOValgae (Universidad Francisco de Paula Santander, Cúcuta, Colombia). *C. vulgaris* se cultivó en un matraz de vidrio de 2 L con un volumen de trabajo de 1,2 L que contenía medio Bold Basal (Andersen, R. A. 2005). El medio se mezcló mediante la inyección de aire filtrado con 0,5% (v/v)

de CO₂ a un flujo de 0,78 L/min, a 25 °C y con un ciclo de luz y oscuridad de 12:12 h a 100 μmol/m² s durante 30 días.

Diseño experimental

Las aguas residuales de pesca obtenidas de los acuicultores locales de *Oreochromis sp.* (El Zulia, Norte de Santander, Colombia) se filtraron dos veces y se esterilizaron con rayos UV (Guiza-Franco et al., 2018). Después de la esterilización, el agua residual se complementó con una cantidad conocida de nutrientes hasta alcanzar una concentración de NO₃ y PO₄ (0,1 y 0,24 g/L, respectivamente). Las algas se cultivaron (por triplicado) en un matraz de vidrio de 9 L con un volumen de trabajo de 7 L de agua residual suplementada y esterilizada con UV. Cada matraz se mezcló mediante la inyección de aire filtrado a un flujo de 4,2 L/min y un ciclo de luz y oscuridad de 12:12 h a 100 μmol/m² s durante 40 días. Cada cinco días se extrajeron 50 mL de medio de forma axénica y la biomasa se concentró utilizando un equipo electroflotador (Sanchez-Galvis et al., 2020). La biomasa recuperada se secó (50 °C, 12 h) y se pesó. El medio libre de células se filtró y se utilizó para la determinación de NO₃ (HI 93728-01, HANNA) y PO₄ (HI 93713-01, HANNA). A partir de los resultados se obtuvieron las constantes cinéticas para la producción de biomasa y el consumo de NO₃ y PO₄. Las constantes se describieron mediante la linealización de la ecuación de Monod:

$$\frac{1}{\mu} = \frac{1}{\mu_{max}} + \frac{K_s}{\mu_{max}} \times \frac{1}{S} \quad (1)$$

Descripción del proceso y simulación de la planta

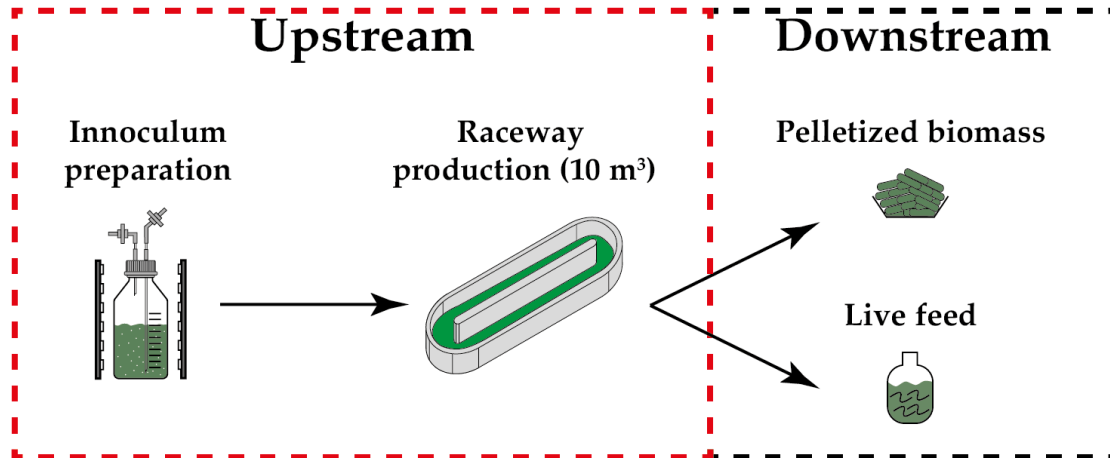
La planta de producción de microalgas con aguas residuales de la pesca se simuló con el software SuperPro Designer® v8.0. (Intelligen, Inc., Scotch Plains, NJ, USA). En la etapa previa, *Chlorella sp.* se cultivó en medio Bold Basal con las variables de cultivo seleccionadas que se muestran en la Tabla 7. Una vez obtenida la concentración celular deseada, las células (10% v/v) se transfirieron a fotobiorreactores (PBR) con volúmenes de trabajo más altos (pre-inóculo). Una vez que el PBR alcanzó la densidad celular adecuada, las células fueron transferidas (10% v/v) a dos raceways de 5 m³ (20 d, (30 ± 2) °C).

Tabla 7 *Variables para la producción de Biomasa*

Constantes	Variable	Valores	Unidades
X ₀	Biomasa Inicial	0,08	g/L
CO ₂	Concentración CO ₂	6	% v/v
N ₀	Concentración inicial de nitratos	0,1	g/L
P ₀	Concentración inicial de fosfatos	0,2	g/L
I	Intensidad de luz	100	μmol/m ² s
Q	Entrada de aire	0,6	vvm

En el proceso posterior, la biomasa producida se cosechó por centrifugación y se utilizó para producir alimento para peces en dos formas: biomasa peletizada (seca) y alimento vivo (líquido), representado en la figura 10.

Figura 10 Descripción del proceso



La producción de biomasa de *Chlorella sp.* (Ecuación (2)) su tasa de consumo de NO_3 (Ecuación (3)), y su tasa de consumo de PO_4 (Ecuación (4)) fueron modeladas mediante la linealización de la ecuación cinética de Monod (Monod, J. 1949).

$$X_f = X e^{\Delta t \cdot \mu} \quad (2)$$

$$S_f = S_0 - \mu \times Y_{\frac{s}{x}} \times \Delta t \times X_0 \quad (3)$$

$$\mu = \frac{\mu_{max} \times s}{k_s + s} \quad (4)$$

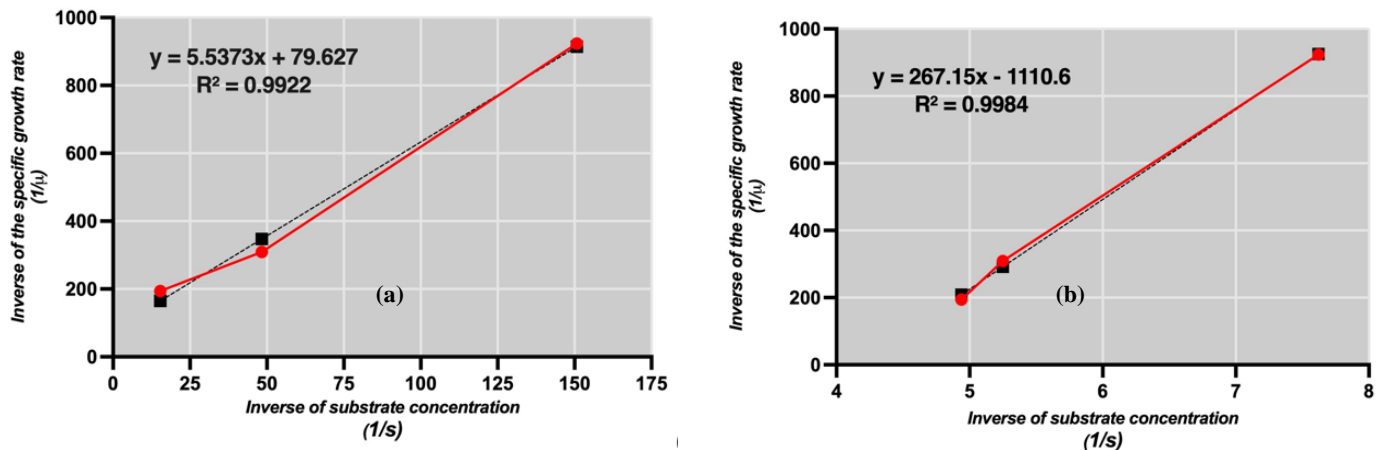
4.1.9. Resultados

Constantes cinéticas de consumo de NO_3 y PO_4

Un modelo computacional contiene muchos factores que influyen en el desarrollo del sistema a evaluar. En este caso, la simulación de un sistema de cultivo de microalgas en agua residual de pesca permite entender el comportamiento de este microorganismo. De acuerdo con los resultados experimentales, fue posible obtener las constantes de consumo de NO_3^- y PO_4^- que

se pueden encontrar en la Figura 11, donde la pendiente y el intercepto se refieren a k_s/μ_{max} y $1/\mu_{max}$, respectivamente.

Figura 11 Tasas de constantes de consumo de NO_3 (a) y PO_4 (b).



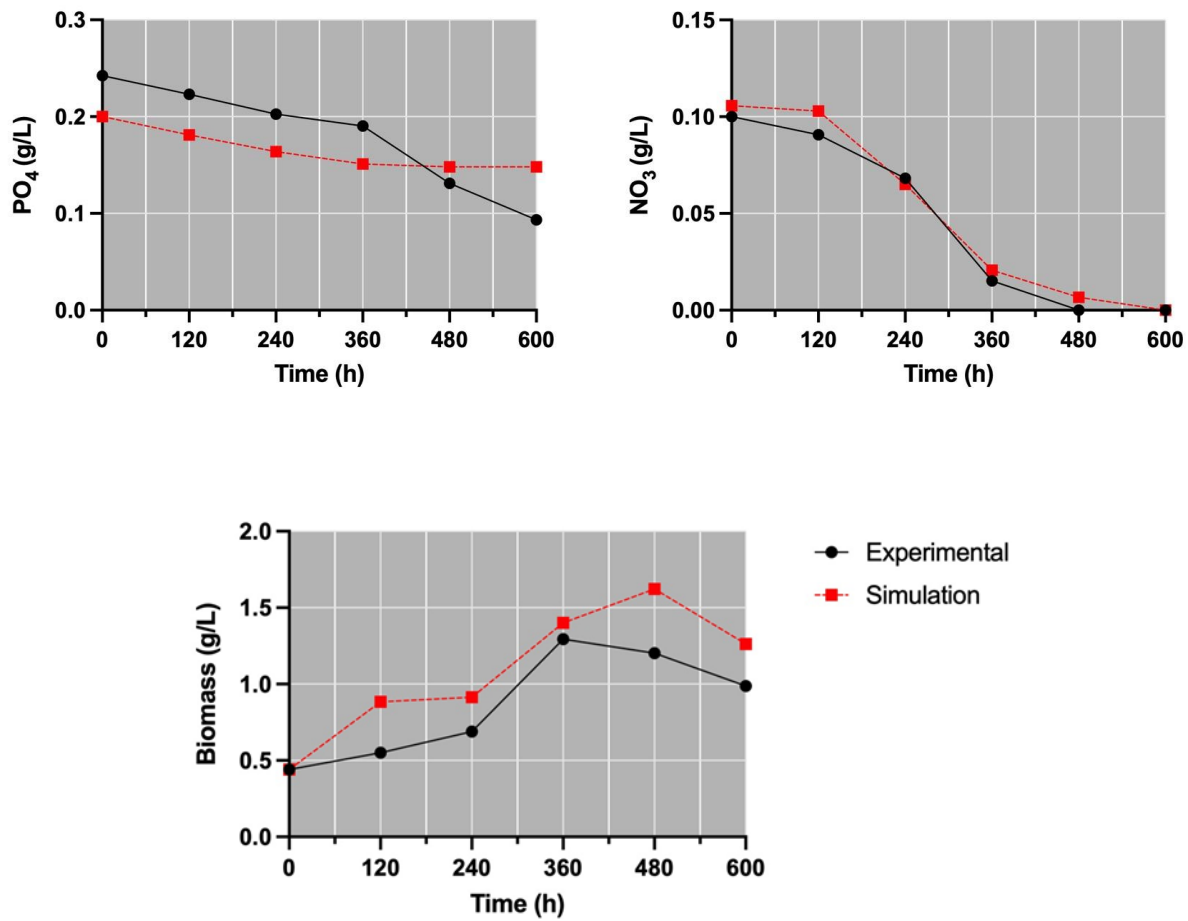
La tabla 8 presenta los resultados de las variables cinéticas del cultivo experimental de *Chlorella sp.* en aguas residuales piscícolas. El efecto de variables como la calidad de la luz (intensidad lumínica y ciclo luz-oscuridad) (Ma et al., 2021), el pH (Montanaro et al., 2017), la temperatura (Ho et al., 2012) y la disponibilidad de carbono, nitrógeno y fósforo (Garcia-Martinez et al., 2019; Cuéllar-García et al., 2019), juegan un papel fundamental en la productividad de la biomasa y de metabolitos específicos, como carbohidratos, proteínas y lípidos (Barajas-Solano et al., 2014; Garcia-Martínez et al., 2016). Según Park et al. (2011), la disponibilidad de estos elementos es fundamental para sintetizar diversas moléculas que desempeñan un papel esencial en el metabolismo celular.

Tabla 8 *Variables cinéticas del cultivo experimental de Chlorella sp.*

Constantes	Variable	Valor
μ	Velocidad de crecimiento específico	0,042
$Y_{N/X}$	Constante de consumo de nitratos	0,23
$Y_{P/X}$	Constante de consumo de fosfatos	0,35

Estableciendo correctamente las variables críticas del proceso de crecimiento microalgal, es posible mejorar la precisión entre los datos experimentales y los obtenidos mediante simulación, lo que establece un punto fiable para la optimización de los diferentes procesos en el cultivo de microorganismos fotosintéticos (Huaynate et al., 2015; Zuorro A. 2015). La figura 12 muestra el comportamiento de la producción de biomasa y el consumo de NO_3 y PO_4 según las ecuaciones previamente establecidas. Los resultados muestran que la desviación entre los datos experimentales y los teóricos es relativamente baja (0,29, 0,03 y 0,08 para biomasa, NO_3 y PO_4 , respectivamente). Sin embargo, cabe mencionar que, para este caso, no se consideró la inhibición por densidad celular, CO_2 , luz y otras variables que pueden tener un impacto positivo o negativo dentro del proceso.

Figura 12 Comparación gráfica entre los datos experimentales y simulados para la concentración de biomasa de *Chlorella sp.* y la concentración de NO_3 y PO_4 disponible en el medio

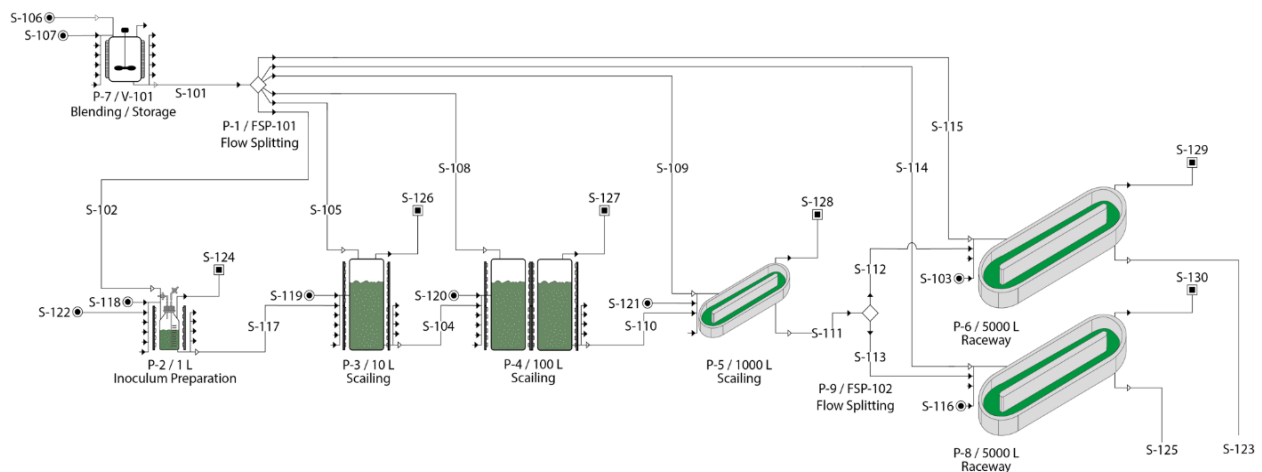


Upstream

La figura 13 presenta el proceso de producción de biomasa de *Chlorella sp.* a partir de aguas residuales de piscifactoría complementadas con nutrientes. Este sistema consiste en la preparación del medio de cultivo, la adaptación, el escalado y la producción de las microalgas en reactores raceway que tienen una capacidad de producción anual de hasta 180 m³. La fase de crecimiento comprende siete reactores (cuatro fotobiorreactores y tres raceways) con tiempos de

residencia de 20 días y una concentración final de 0,8 g/L. Este sistema se diseñó para funcionar en paralelo y mantener una producción constante de biomasa. Cada reactor se inoculó con una concentración del 10% (v/v) de algas, excepto el producto final, que tuvo un inóculo del 20% (v/v).

Figura 13 Diagrama de flujo del proceso de producción de *Chlorella sp.*

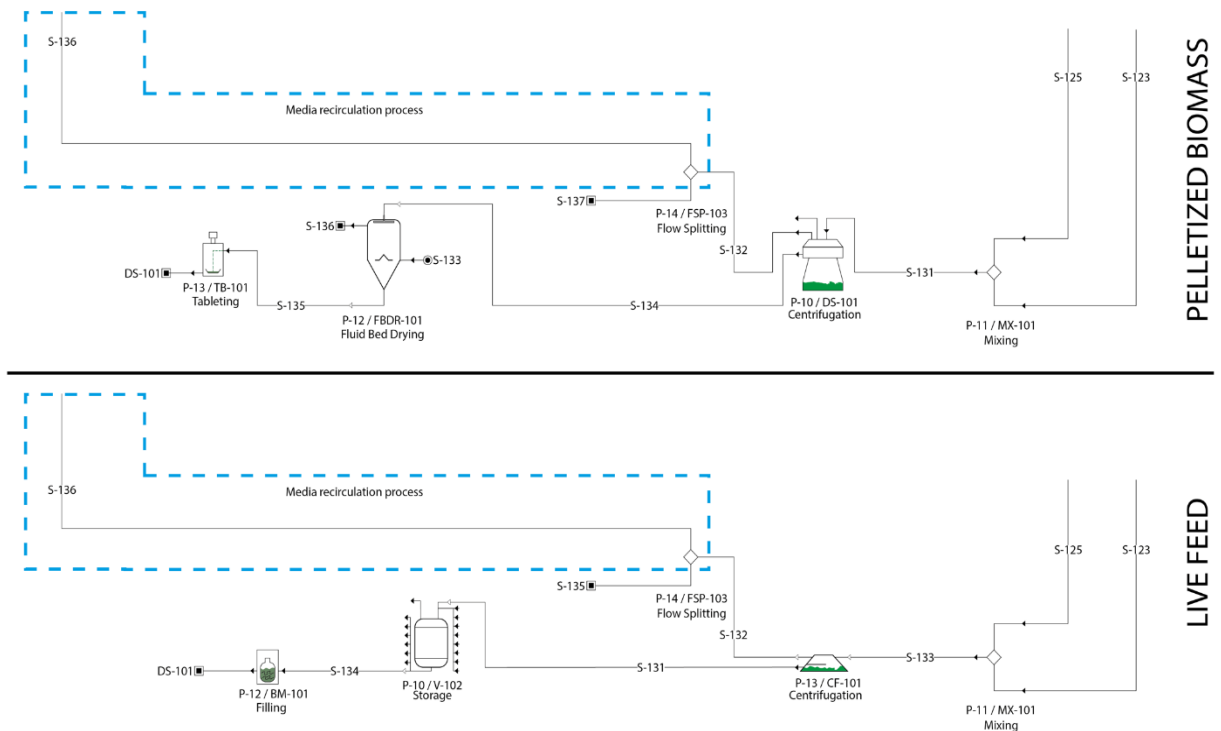


Downstream

La figura 14 muestra el proceso posterior al cultivo, para producir biomasa peletizada y alimento vivo de *Chlorella sp.* La recolección de la biomasa es uno de los puntos críticos en la producción de microalgas, ya que esta etapa puede generar hasta el 40% de los costos totales de producción (Iasimone et al., 2018; Lu et al., 2020; Zhu et al., 2019; Castellanos-Estupiñan et al., 2018). El proceso de alimentación en vivo emplea un sistema de separación sólido-líquido (centrífuga) que elimina hasta el 40% de la humedad total. La biomasa concentrada se embotella (50 mL por unidad) y se distribuye como alimento para diferentes tipos de peces que requieren dietas de fitoplancton vivo. Este proceso genera hasta 64 697 botellas de alimento cada 20 días. Para el sistema de producción de alimento seco, se utilizó una centrifugadora para eliminar hasta el 60% de la humedad total; la biomasa concentrada pasa por un secador de lecho fluidizado, que permite

reducir la humedad relativa del producto hasta un 6%. Por último, la biomasa se peletiza (1mg por pellet), alcanzando una producción final de 5875 pellets por hora. Para mejorar el impacto en la huella hídrica de estos procesos, se implementó la recirculación de agua postcosecha (resaltada en azul) para cada sistema evaluado. Esta alternativa permite una reducción sustancial de los costos de producción ya que no se consumen todos los nutrientes por completo (Wang et al., 2013; Zuorro et al., 2021; Huang et al., 2016)

Figura 14 Diagrama de flujo del proceso posterior de la biomasa peletizada y del alimento vivo de *Chlorella sp.*



Capital fijo

Los costos fijos de producción (DFC siglas en inglés) definen el destino económico de cualquier planta de producción; incluyen los gastos necesarios para las pautas de procesamiento y la

funcionalidad de cada sistema implicado (Zuorro, A., 2021). En consecuencia, define la viabilidad técnico-económica del proceso. Dentro de los DFC, podemos encontrar los costos directos (TPDC siglas en ingles), que se refieren a la adquisición, equipamiento y funcionalidad de la planta; los costos indirectos (TPIC siglas en ingles), que son las variables relacionadas con la construcción; y, finalmente, los CFC, que son los responsables de la seguridad y el aseguramiento del proyecto. En la tabla 9 muestra un aumento de los costos debido a la inclusión de la recirculación del medio. Este aumento se debe a la incorporación de nuevos equipos, que requieren nuevos espacios, materiales y personal capacitado para su correcto funcionamiento. En cada proceso se utilizan otros equipos, lo que supone una demanda de espacio, materiales y consumo operativo.

Tabla 9 *Estimación del capital fijo para dos escenarios de producción de biomasa utilizando Chlorella sp.*

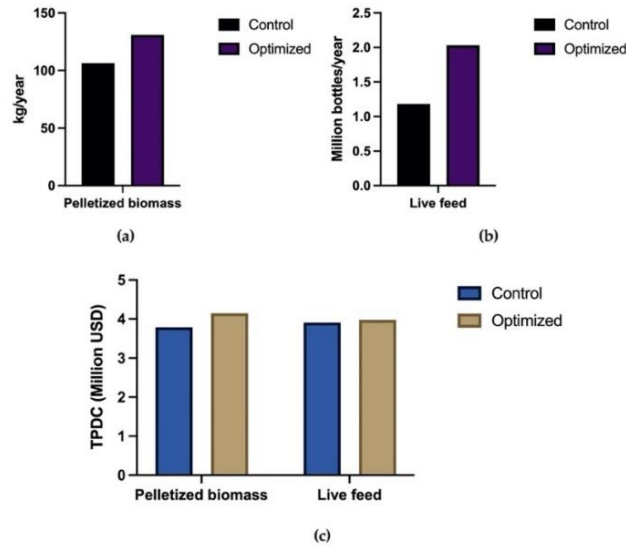
Capital fijo estimado	Biomasa peletizada		Alimento vivo	
	Normal (USD)	Optimizada (USD)	Normal (USD)	Optimizada (USD)
Total de Costos Directos de la Planta (TPDC) (Costos físicos)	118,639	128,955	102,577	116,059
Total Costos Indirectos de la planta (TPIC)	75,373	81,928	71,523	73,735
Total Costos de la planta (TPC = TPDC + TPIC)	194,012	210,883	174,100	189,794
Honorarios del contratista y contingencia (CFC)	14,603	15,872	13,856	14,285
Costo de capital fijo directo (DFC = TPC + CFC)	208,615	226,756	197,957	204,080

El crecimiento de las microalgas mantuvo un comportamiento sigmoideal típico de la aplicación de la cinética con recursos limitados. La fase de latencia tuvo lugar entre 0 y 120 h, momento en el que las células tuvieron un proceso de adaptación a los recursos disponibles dentro del medio establecido en el experimento. Una vez finalizada esta fase, se inició el crecimiento exponencial con aproximadamente 360 h, alcanzando su máxima tasa de duplicación de 1,2 g/L de biomasa.

Debido al agotamiento de los nutrientes disponibles y a la alta densidad celular en la última fase de crecimiento exponencial, la tasa de crecimiento de las algas se redujo a una función lineal, estabilizándose en 0,8 g/L y alcanzando su fase estacionaria (Garcia-Martinez et al., 2016).

La aplicación de simulaciones en procesos industriales es una solución eficiente para modelar y optimizar rutas específicas (Limonta et al., 2013). Estas técnicas se basan en la predicción del comportamiento del proceso deseado mediante el cálculo del balance de masa y energía de cada sección del sistema (Petrides et al., 2014). Mediante el análisis de los diferentes procesos y su respectiva optimización, es posible desarrollar nuevos y mejores productos que sean económicamente competitivos, como se observa en la Figura 15, donde la optimización de la recirculación del medio de cultivo proporciona una mejora sustancial en su producción de hasta un 20% para la biomasa peletizada y hasta un 80% para el alimento vivo. Un resultado significativo es un ligero aumento del TPDC para cada proceso. Este aumento se produce porque los nutrientes siguen estando disponibles en el medio de cultivo, lo que disminuye el costo de producción por metro cúbico y mejora la tasa de conversión de los nutrientes presentes en el medio en biomasa utilizable.

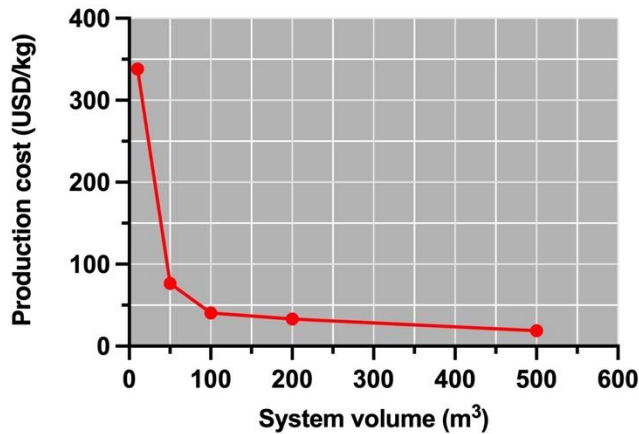
Figura 15 Producción de biomasa para el año biomasa granulada (a) y alimento vivo (b); coste directo total de la planta para dos escenarios de producción de biomasa (c).



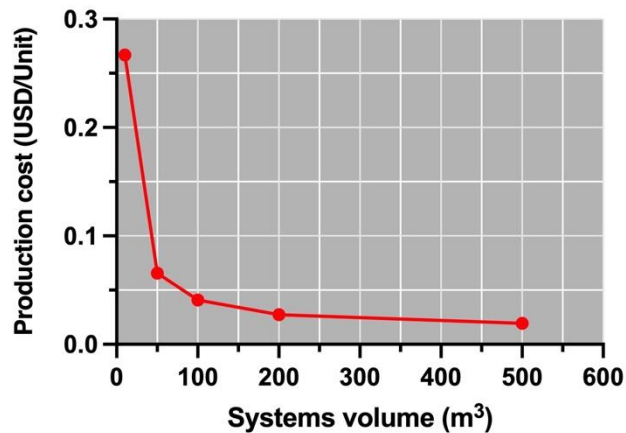
Según Ruiz et al. (2016), la variable más crítica que favorece la rentabilidad de los productos derivados de la biomasa microalgal es la escala del sistema, ya que al aumentar la capacidad de la planta se reducen los costes asociados a la producción. La figura 16 resume el costo por kg/unidad de biomasa procesada. El escalado define la rentabilidad del sistema para los dos escenarios evaluados (biomasa peletizada y alimento vivo) utilizando cinco capacidades de producción diferentes (10, 50, 100, 200 y 500 m³). El costo de producción se calculó según la ecuación (5).

$$Biomass\ cost = \frac{Production\ cost\ in\ USD}{Biomass\ production\ in\ kg} \quad (5)$$

Figura 16 Dependencia del costo de producción del volumen del sistema para dos escenarios de producción de biomasa: (a) biomasa peletizada y (b) alimento vivo.



(a)



(b)

Según los resultados, en los sistemas de baja escala (<math><50\text{ m}^3</math>), los costos de producción son muy elevados para los sistemas de producción de biomasa peletizada y de alimento vivo (hasta 338 USD/kg y 0,26 USD/unidad, respectivamente) en comparación con los que tienen volúmenes de operación de hasta

como el pH, la temperatura y la dispersión de la luz en el reactor, afectarán a la productividad final del sistema (Acién et al., 2012; Bernard et al., 2012; Blanken et al., 2013).

4.1.10. Conclusiones

La aplicación de las microalgas como herramienta biotecnológica para la eliminación de contaminantes y la reutilización del agua en los sistemas de piscicultura es una estrategia esencial para aumentar la sostenibilidad del sector industrial. Según los resultados del software SuperPro Designer, cultivando *Chlorella sp.* en aguas residuales de piscifactoría suplementadas con N y P, es posible producir hasta 11,875 kg/año (31,3 kg/d) con un costo de producción de hasta 18 (USD/kg) para la biomasa seca y 0,19 (USD/botella) para la biomasa concentrada. Asimismo, se pudo establecer la cinética de crecimiento de la biomasa dependiente del sustrato con una producción máxima de 1,25 g/L después de 15 días y un consumo parcial del 98% de N y del 20% de P. Sin embargo, es fundamental tener en cuenta que la eficiencia final de la producción puede variar en función de variables no controlables, como el clima y la calidad del agua residual.

4.1.11. Análisis de ciclo de vida del diseño propuesto

4.1.12. Introducción

Las nuevas tendencias en producción sostenible requieren nuevas y novedosas formas de producción, cuyos procesos tengan un menor impacto sobre el medio ambiente (Sarasini et al., 2018). Bajo esta idea, el Análisis de Ciclo de Vida (ACV) es considerada una de las herramientas más efectivas para diseñar, rediseñar y/o implementar nuevos productos o servicios bajo un

enfoque de sostenibilidad ambiental (Degieter et al., 2022; Ubando et al., 2022). Este tipo de análisis permite cuantificar los diferentes impactos ambientales del ciclo de vida del producto (extracción del material, transformación, uso y disposición final del producto), lo anterior permite identificar de forma eficiente los cuellos de botella en una cadena de producción (Magalhães et al., 2022).

Para evaluar la sostenibilidad de un producto en una nueva cadena de producción, es esencial basarse en un enfoque estandarizado, realizando evaluaciones totalmente validadas, que incluyan el cálculo de todos los flujos de entrada (energía y recursos) y salida (emisiones) para cada etapa de producción (Herrera et al., 2021). De acuerdo con el marco de ACV descrito por las normas ISO 14040:2006 y 14044:2006, estos flujos se utilizan para crear un modelo de proceso virtual y luego se traducen en una serie de impactos ambientales utilizando modelos matemáticos. El ACV se centra en los procesos que tienen lugar en la tecnosfera (que comprende nuestras economías y sociedades) y el medio ambiente en el que están integrados; por lo cual los efectos del consumo de recursos naturales se cuantifican esencialmente en términos de equilibrio entre lo que se ve afectado por el medio ambiente y aquellos que no (Maiolo et al., 2021).

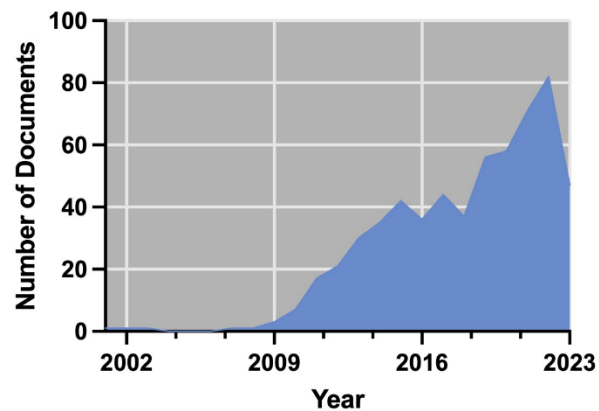
La producción industrial de microalgas y cianobacterias ha despegado recientemente en todo el mundo (García-Martínez et al., 2016; Zuorro et al., 2021). Esto se debe a una mayor aceptación por parte de diferentes industrias y consumidores finales de productos de alto valor agregado derivados de fuentes renovables.

Según Araujo et al (2021), solo en la Unión Europea, a finales de 2019, había más de 200 empresas que producían biomasa tanto de microalgas como de cianobacterias para diferentes usos. Esta producción a gran escala implica una serie de procesos unitarios como el cultivo, cosecha,

secado y el procesamiento posterior de la biomasa producida. Cada uno de los anteriores posee diferentes insumos asociados en términos de electricidad y materias primas y, por lo tanto, poseen una huella ambiental diferencial (Barajas-Solano et al., 2014; Rangel-Basto et al., 2018; Rani et al., 2021; Urbina-Suarez et al., 2022; Zuorro et al., 2019).

Los puntos críticos de una cadena de producción de algas pueden identificarse realizando un estudio de evaluación del ciclo de vida (ECV) atribucional (Yadav et al., 2020). El uso de la metodología de Análisis del ciclo de vida (ACV) en microalgas se ha extendido para evaluar productos y servicios en el sector alimentario y energético (Bartek et al., 2021; Davis et al., 2021; Maiolo et al., 2020; McKuin et al., 2022; Morales et al., 2020; Rodríguez et al., 2019; Schade & Meier, 2020), especialmente para cuantificar con precisión las emisiones medioambientales, resaltar los puntos críticos, comparar procesos y, por último, evaluar la oportunidad de adoptar un proceso de producción innovador en comparación con las opciones existentes (Herrera et al., 2021).

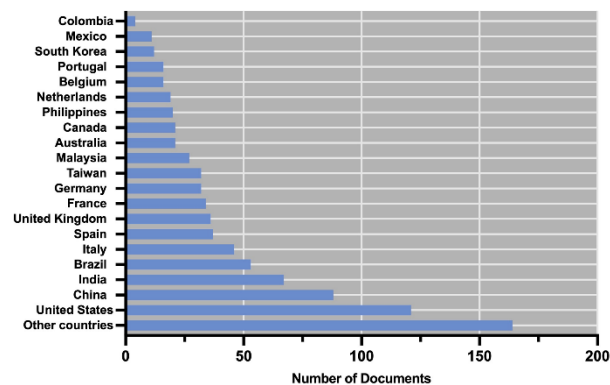
Según el análisis de la producción bibliográfica en la base de datos SCOPUS, realizada en abril del 2023, utilizando la búsqueda (TITLE-ABS-KEY (microalgae OR microalga AND life AND cycle AND assessment OR LCA), se obtuvieron 591 documentos entre 2000 y 2023 (figura 17). De ellos, sólo 19 documentos abordan el tema del ACV en la producción de microalgas para sustituir parcialmente los suplementos alimenticios en los procesos de piscicultura y acuicultura.

Figura 17 *Número de documentos sobre el ACV en microalgas*

Según la literatura, la mayoría de los estudios de ACV aplicados a la producción de distintos productos derivados de las microalgas emplean datos obtenidos a pequeña escala (D'Imporzano et al., 2018; Nigam et al., 2022; Zhao et al., 2022). Otros trabajos se centran en la cadena de producción, donde evalúan la relación entre la materia prima, la obtención de metabolito de interés y la energía requerida para conseguirlo (Arashiro et al., 2022; Pegallapati & Frank, 2016; Sun et al., 2022); de igual manera se identifican estudios centrados en determinar el impacto de las emisiones de ciertas sustancias químicas de interés medioambiental (NH_4 y N_2O) que son comunes durante el upstream (Pérez-López et al., 2017; Peter et al., 2022). Mientras que algunos de los estudios de ACV son bastante optimistas sobre la aplicabilidad y conveniencia del cultivo de microalgas para fines básicos tales como producción de energía (Hossain et al., 2019; Moshood et al., 2022), o como materia prima para otros usos industriales (Bussa et al., 2020); otros estudios son más cautos a la hora de delinear y delimitar el papel que puede tener la producción de microalgas en los futuros sistemas de producción (Branco-Vieira et al., 2020; Pérez-López et al., 2017; Yadav et al., 2020). Los principales países en los que se ha aplicado Análisis de Ciclo de

Vida como una herramienta para identificar la sostenibilidad de la biotecnología de microalgas son: Estados Unidos, seguido de China, Brasil, Italia, Alemania y otros (figura 18). Para el caso concreto del ACV aplicado a la producción de microalgas como alternativa sostenible para la sustitución parcial de alimento para peces en piscicultura y acuicultura, sólo se han encontrado ocho trabajos hasta la fecha. La tabla 10 presenta un resumen de estos trabajos, incluyendo el objetivo de estos estudios, así como la unidad funcional y el país de origen del estudio.

Figura 18 Países que escriben sobre el ACV en microalgas



Muchos de estos estudios están orientados a la evaluación de la sostenibilidad de la producción de componentes alimenticios para piscicultura como producto alternativo al uso de residuos o tratamiento de aguas residuales (McKuin et al., 2022; Bartek et al., 2021; Sfez, et al., 2015), así mismo se han presentado ACV para procesos de biorrefinería o generación de múltiples componentes de valor añadido incluyendo proteína para alimentación animal (Herrera et al., 2021; Sills et al., 2020), de igual manera se encuentran trabajos centrados únicamente en la producción de proteína a partir de microalgas para su sustitución parcial o total en la alimentación animal, especialmente en piscicultura (Maiolo et al., 2021; Rodríguez et al., 2019; Sills et al., 2020)

Tabla 10 ACV de la producción de componentes alimenticios para peces a partir de microalgas

Objetivo	Unidad Funcional	Cepa	País	Referencia
Evaluación del impacto ambiental de los bioestimulantes a base de algas y concentrados para acuicultura.	1 kg Biomasa seca	<i>n/a</i>	España	(Herrera et al., 2021)
Cuantificación de la huella ambiental del aceite ω -3 de algas	1 kg ω -3	<i>Schizochytrium</i> sp	Holanda	(Davis et al., 2021)
Comparación de los impactos del ciclo de vida entre el aceite de pescado y el de algas para la alimentación acuícola.	1 kg de aceite		Estados Unidos	(McKuin et al., 2022)
Evaluación del impacto ambiental del sustituto del aceite de pescado producido por algas.	1 ton de DHA	<i>Cryptocodinium cohnii</i>	Alemania	(Bartek et al., 2021)
Evaluación del impacto ambiental de las algas a escala industrial para la producción de alimentos	1 kg Biomasa seca	<i>Nannochloropsis</i> sp		(Schade & Meier, 2020)
Comparar un conjunto de fuentes de proteínas (incluidas las algas) como sustitutos de la harina de pescado utilizando el ACV.	1 ton Proteína Cruda	<i>Tisochrysis lutea</i>	Italia	(Maiolo et al., 2021)
Producción a gran escala de algas	1 kg Biomasa seca	<i>Tetraselmis suecica</i>	Francia	(Morales et al., 2020)
Análisis de la viabilidad de vincular una instalación FMFO y una planta de producción de algas	Harina de algas (ton/h)	<i>Scenedesmus almeriensis</i>	Argentina	(Rodríguez et al., 2019)

Teniendo en cuenta lo anterior, el objetivo de esta sección consistió en evaluar los impactos ambientales asociados a la producción de 1 kg de biomasa para alimentación animal en piscicultura, cultivada en efluentes de piscicultura como medio de cultivo, para lo cual se modelaron cuatro escenarios con dos alternativas de downstream utilizando la metodología de ACV.

4.1.13. Metodología

Definición del objetivo y alcance

El objetivo de este trabajo es modelar el impacto ambiental de la producción de 1 kg de biomasa microalgal utilizando aguas residuales post-cultivo procedentes de piscifactorías continentales como alternativa sostenible para la generación de concentrados alimenticios para peces.

Unidad funcional

La Unidad Funcional (UF) utilizada en este estudio es 1 kg de biomasa procesada en cuatro escenarios: (1) Algal Life Feed (ALF), (2) Algal Life Feed con nutrientes reciclados (ALF+Rn), (3) Biomasa peletizada (PB) y (4) Biomasa peletizada con nutrientes reciclados (PB+Rn). Los límites del estudio se definieron: "de la puerta a la puerta", empezando por la inoculación y bioaugmentación de las algas, seguido por su producción en reactores de canal y su recolección y envasado.

Proceso de producción

El alga utilizada en este estudio es una cepa de *Chlorella sp.* (CHLO_UFPS010). Las cinéticas de biomasa, nitratos y fosfatos se obtuvieron de García-Martínez et al (2022b), mientras que los datos relativos a la eliminación de CO₂, consumo energético, transferencia de masa, agua residual producida y biomasa total producida se obtuvieron de García-Martínez et al (2022a)

Evaluación del impacto del ciclo de vida

El Inventario de Ciclo de Vida (ICV) desarrollado considera todos los procesos del sistema en primer plano, en el que los datos primarios corresponden a todos los flujos de entrada y salida que se obtuvieron a escala piloto, estos se consideraron también para el escenario a escala industrial. Los datos secundarios para el sistema de fondo en el ACV completo consideran la base de datos Ecoinvent como la principal fuente de datos (Wernet et al., 2016). El análisis de Impactos de Ciclo de Vida (AICV) se realizó considerando un año de funcionamiento de la planta industrial. En adelante, los datos AICV y el modelo de evaluación se compilaron utilizando el software SimaPro® versión 9.4. Los impactos ambientales potenciales se calcularon según el método de punto medio ReCiPe 2016 (enfoque jerárquico) (Huijbregts et al., 2017), que se centra en cuestiones medioambientales, por lo que es el método más adecuado para este estudio. Las categorías de efectos que se evaluaron fueron calentamiento global, agotamiento del ozono estratosférico, eutrofización de agua dulce, eutrofización marina, ecotoxicidad terrestre, ecotoxicidad de agua dulce, ecotoxicidad marina, toxicidad cancerígena humana, escasez de recursos fósiles y consumo de agua. Además, no se consideraron las emisiones a largo plazo para ninguno de los dos escenarios.

4.1.14. Resultados

Inventario de Ciclo de vida

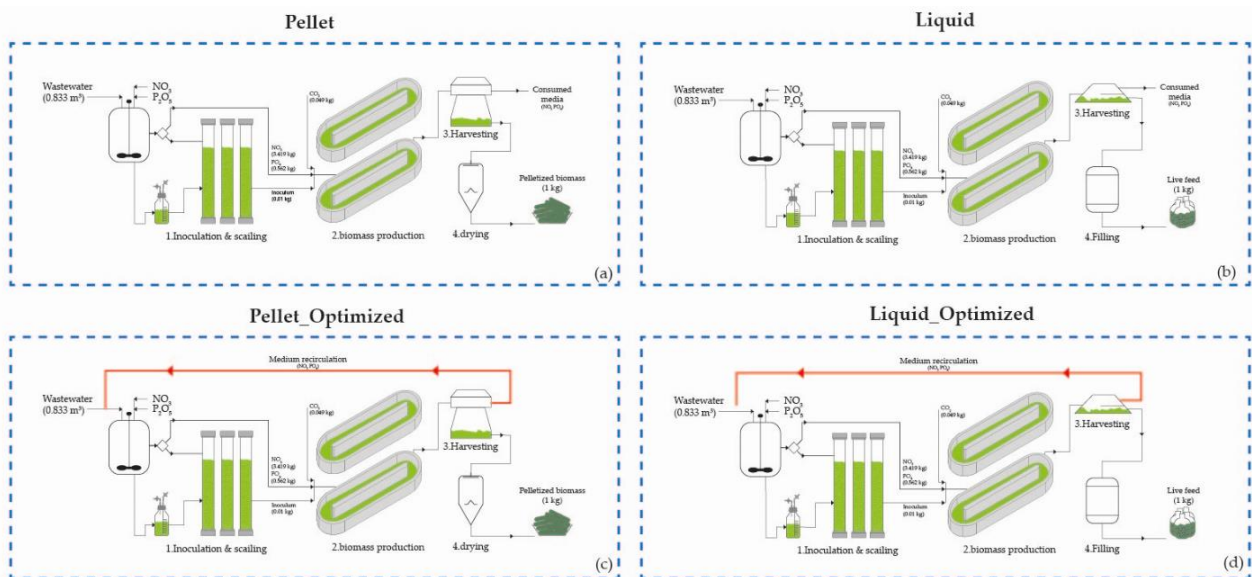
La Fig. 18 presenta un resumen del inventario del ciclo de vida utilizado para la producción de biomasa de microalgas de los 4 escenarios propuestos. Tal como se ha mencionado los

escenarios propuestos están con la unidad funcional propuesto, sin embargo, es importante aclarar que, durante el tratamiento de aguas residuales con microalgas, se obtienen aguas residuales tratadas y biomasa de microalgas, que pueden considerarse como coproductos, teniendo cada uno responsabilidad sobre los impactos ambientales que se han producido. Sin embargo, para evitar la asignación de estos impactos, se llevó a cabo la expansión de la frontera del sistema, así como aplicado por Arashiro et al. (2018) y Colzi Lopes et al. (2018). Con este procedimiento, previsto por la norma ISO 14040, el sistema multifuncional es tratado como mono-funcional. La biomasa de microalgas fue señalado como el objetivo del proceso, de modo que el tratamiento de las aguas residuales fue abordado como una forma de reducir el impacto ambiental de la biomasa. Sin utilizar aguas residuales, se necesitaría agua del grifo y fertilizantes que contuvieran nitrógeno (N) y fósforo (P) para abastecer el crecimiento de las microalgas en medios sintéticos. Por lo tanto, estos se tomaron como productos evitados, según lo propuesto por Castro et al. (2020a) y Souza et al. (2019), ya que el agua y los nutrientes están presentes en las aguas residuales.

Sin embargo, también es importante aclarar que dependiendo del origen del agua residual y su composición es necesario realizar procesos de dilución o de suplementación de nutrientes con el fin de, ya sea mejorar la producción de biomasa y las productividades de metabolitos interés o favorecer el consumo de otros componentes dentro de dichos residuos (Osundeko et al., 2019). Teniendo en cuenta lo anterior y de acuerdo con la caracterización del agua de piscicultura realizada en García_Martinez et al., (2022a), fue necesario adicionar fuentes de nitratos y fosfatos para enriquecer el agua residual utilizada como medio de cultivo, lo que permitió mejorar el consumo de carbono orgánico presente y favorecer la producción de metabolitos de interés. En concordancia con el balance de materia del proceso, en la figura 19a y 19b se incluyen los nitratos

y fosfatos residuales dentro de las corrientes de salidas de los sistemas, mostrados como residuos, los cuales contribuyen de forma directa en los indicadores de eutrofización del agua dulce y eutrofización marina generando una alta carga contaminante al sistema evaluado (figura 19), desconociendo el potencial uso de dichos componentes para su reutilización.

Figura 19 Escenarios evaluados en el ACV



Las figuras 19c y 19d representan los sistemas PELLET OPTIMIZED y LIQUID OPTIMIZED, en los cuales se resalta el aprovechamiento de los residuos de nitratos y fosfatos generados, así como el re-uso del agua como parte del medio de cultivo. El reaprovechamiento estos componentes evidencia una mejora sustancial del proceso, tal como lo confirma en su estudio Thielemann et al., (2021) donde se determinó que el cultivo de algas heterótrofas en combinación con técnicas de aprovechamiento de residuos puede contribuir de forma importante a la mitigación del cambio climático y a las medidas de desarrollo sostenible y al mismo tiempo a la conservación

de los recursos. Por lo tanto, el cultivo de microalgas basado en aguas residuales tiene el potencial de mejorar sustancialmente la economía y la sostenibilidad de la producción de metabolitos de alto valor a través de la reducción tanto del requisito de suministro de nutrientes externos como de la huella de agua dulce (Nishshanka et al., 2021b).

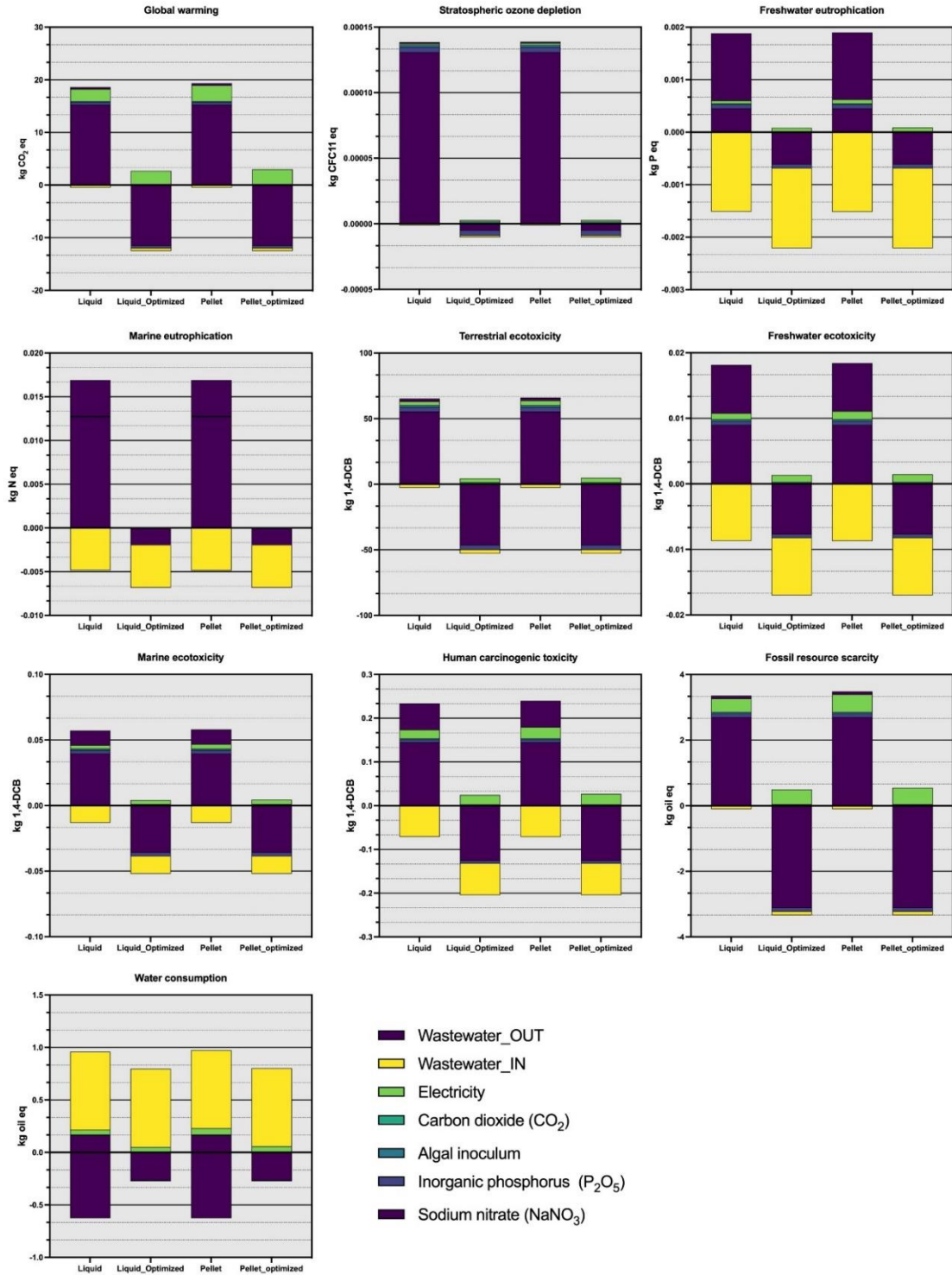
Evaluación de Impacto

La figura 20 muestra los impactos ambientales asociados a los cuatro escenarios propuestos: (1) LIQUID, (2) LIQUID OPTIMIZED, (3) PELLET y (4) PELLET OPTIMIZED, para las diez categorías evaluadas: Calentamiento global (Global Warming: kg CO₂ eq), Agotamiento de ozono (Stratospheric Ozone Depletion: kg CFC11 eq), Eutrofización de agua dulce (Freshwater Eutrophication: kg P eq), Eutrofización marina (Marine Eutrophication: kg N eq), Ecotoxicidad terrestre (Terrestrial Ecotoxicity: kg 1,4-DCB), Ecotoxicidad de agua dulce (Freshwater ecotoxicity: kg 1,4-DCB), Ecotoxicidad marina (Marine ecotoxicity: kg 1,4-DCB), Toxicidad carcinogénica en humanos (Human carcinogenic Toxicity: kg 1,4-DCB), Escasez de recurso fósil (Fossil Resource Scarcity: kg oil eq) y Consumo hídrico (Water consumption: m³). Estas categorías son apropiadas para el estudio y también se han empleado en otros trabajos relacionados con la biomasa de microalgas (Arashiro et al 2022; Souza et al., 2019).

De acuerdo con los resultados, se resalta la contribución del nitrato de sodio NaNO₃ en las categorías: calentamiento global (15,29 kg de CO₂), agotamiento de ozono (0,0001309 kg CFC11 eq), Eutrofización marina (0,01271 kg de N eq), Ecotoxicidad terrestre (55,334 kg 1,4-DCB), Ecotoxicidad de agua dulce (0,009 kg 11,4-DCB), Ecotoxicidad marina (0,0396 kg 11,4-DCB) Toxicidad carcinogénica en humanos (0,1448 kg 11,4-DCB) y Escasez de recurso fósil (2,7054 kg

de oil eq) para los sistemas LIQUID y PELLET, en los cuales es suministrado este componente como nutriente que permite enriquecer las aguas residuales de piscicultura usadas como medio de cultivo. Lo que evidencia el efecto adverso que este componente genera al medio ambiente y la necesidad de buscar alternativas tales como el uso de componentes residuales ricos en nitratos ya sea del mismo sistema piscícola o de otras fuentes residuales desaprovechadas. En ese sentido, es posible destacar los efectos positivos de la recirculación de dichos nutrientes para los sistemas LIQUID OPTIMIZED y PELLET OPTIMIZED logrando el consumo de casi el 96% de nitratos y 89% de fosfatos. Comparando los sistemas de producción de biomasa de microalgas a partir de agua residual de piscicultura se puede identificar que los sistemas donde se realizó la reutilización de nutrientes presentaron los menores impactos ambientales para las categorías mencionadas. Estos resultados son congruentes con lo descrito por Mohd Nasir et al., (2023) donde determinaron que todos los escenarios que incorporaban microalgas en la materia prima presentaban valores negativos para las categorías de eutrofización, incluida la eutrofización marina y la eutrofización de agua dulce (Mohd Nasir et al., 2023).

Figura 20 Evaluación de los impactos ambientales



De igual manera, Mu et al (2014) obtuvieron valores negativos para eutrofización (-0,052 kg de N-eq/km de transporte vehicular) al producir biomasa algal con fines energéticos (combustibles a partir de procesos pirolíticos). Lo anterior permite establecer que las microalgas cultivadas a partir de aguas residuales desempeñan un papel fundamental a la hora de proporcionar beneficios y reducir los impactos de la eutrofización mediante la eliminación de nutrientes (compuestos de N y P) del efluente de aguas residuales.

Otro de los aspectos significativos es la evaluación del recurso hídrico y el ajuste necesario para su reutilización dentro del proceso. Se evaluó tanto el agua de entrada (wastewater_IN) como la de salida del proceso (wastewater_OUT) y los impactos que estos generan a los escenarios planteados. En la figura 20 se muestra los impactos para estas corrientes, se destaca los valores negativos para el agua de entrada, tanto para los sistemas LIQUID y PELLET como para su versión OPTIMIZED, específicamente en los impactos: Eutrofización de agua dulce, Eutrofización marina, Ecotoxicidad de agua dulce, Ecotoxicidad marina y Toxicidad carcinogénica en humanos, esto debido al aprovechamiento de agua residual y al retiro de esta del medio ambiente.

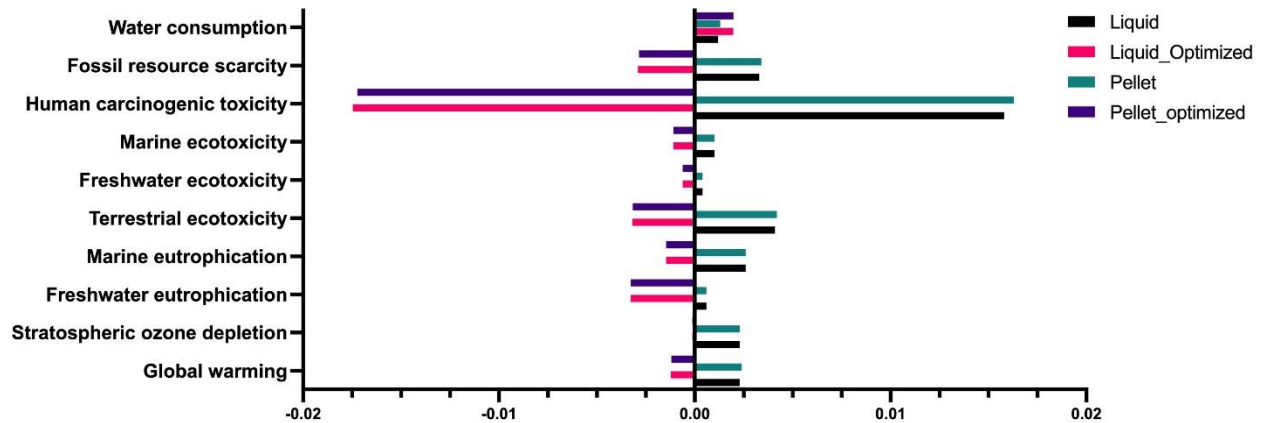
Estudios similares determinaron que las categorías de agotamiento del ozono estratosférico, escasez de recursos minerales y consumo de agua se vieron favorecidas debido a que en la etapa de crecimiento de las microalgas se utilizaron aguas residuales y evitando el agua del grifo y los fertilizantes, lo cual es suficiente para reducir los impactos de otras etapas del ciclo de vida (Marangon et al., 2021). Por otra parte, Schneider et al. (2018) compararon el uso de aguas residuales y un medio de cultivo sintético (NPK) en el crecimiento de microalgas. De acuerdo con los autores el escenario de aguas residuales fue menos impactante en 17 de las 18 categorías de impacto. El uso de aguas residuales como medio de cultivo para el crecimiento de microalgas

también actúa en la compensación medioambiental al promover su tratamiento y evitar el uso de fertilizantes. De igual manera en estudios como el de Raghuvanshi et al. (2018) también compararon el crecimiento de microalgas en agua limpia y en aguas residuales, encontrando menores impactos ambientales en las etapas desde el crecimiento hasta la valoración de la biomasa microalgal en biodiésel cuando se utilizaron aguas residuales.

Normalización

La Figura 21 muestra los resultados globales de las 10 categorías de impacto ambiental de la ACV. Dado que estas categorías se expresaron en unidades de referencia diferentes, el gráfico muestra los valores normalizados de cada categoría. La normalización se utilizó para identificar en qué medida una categoría de impacto tenía un valor relativamente alto o bajo. Este procedimiento se llevó a cabo para aclarar cuál de los escenarios tenía el mejor potencial medioambiental. Ambos escenarios tienen aportes considerablemente impactantes en diferentes categorías, y es importante saber cuál de ellos causa la mayor presión sobre el medio ambiente, es de aclarar que un valor negativo indica un impacto ambiental reducido o nulo.

Para los escenarios OPTIMIZED, todas las categorías de impacto reportan un valor negativo a excepción del consumo de agua, esto se debe básicamente a que independientemente de que se hace uso de agua residual en el proceso esto implica también un uso del recurso agua y por ende se reporta este impacto al sistema. De igual manera, es importante destacar que el tratamiento de aguas residuales es una actividad con un alto impacto, pero no se puede evitar; Por ello se debe buscar la reducción de los diferentes impactos negativos mediante la reutilización del agua, la producción de energía y la recuperación de nutrientes (Hao et al., 2019).

Figura 21 Normalización de los impactos ambientales

Se puede identificar que para los 4 escenarios evaluados los sistemas LIQUID y PELLET presentan efectos ambientales negativos en todas las categorías de impacto destacándose Toxicidad carcinogénica en humanos, mientras que los sistemas LIQUID OPTIMIZED y PELLET OPTIMIZED muestran efectos positivos, lo que permite seleccionar estos escenarios como los que menos efectos negativos generan al medio ambiente.

Así, se entiende que el aprovechamiento de las aguas residuales piscícolas se hace un elemento fundamental que permite mejorar ambientalmente no solo el proceso de producción de biomasa microalgal si no que impacta de forma positiva en los sistemas piscícolas, generando un proceso sostenible enmarcado dentro de una economía circular.

4.1.15. Conclusiones

El análisis de ciclo de vida realizado permitió identificar que el componente que genera más presión sobre el medio ambiente es la adición de NaNO_3 como elemento que permite enriquecer el agua residual piscícola para mejorar la producción de biomasa microalgal y favorecer

el consumo de otros componentes contaminantes presentes en dichos efluentes, esto se evidencia en las categorías: calentamiento global (15,29 kg de CO₂), agotamiento de ozono (0,0001309 kg CFC11 eq), Eutrofización marina (0,01271 kg de N eq), Ecotoxicidad terrestre (55,334 kg 1,4-DCB), Ecotoxicidad de agua dulce (0,009 kg 11,4-DCB), Ecotoxicidad marina (0,0396 kg 11,4-DCB) Toxicidad carcinogénica en humanos (0,1448 kg 11,4-DCB) y Escasez de recurso fósil (2,7054 kg de oil eq) para los sistemas LIQUID y PELLET

Los resultados obtenidos confirman la importancia de la reutilización del agua residual piscícola y los nutrientes en el sistema de producción de biomasa lo que se representa como un impacto positivo en el análisis de normalización de los indicadores de impacto ambiental, determinando que los mejores escenarios son LIQUID OPTIMIZED y PELLET OPTIMIZED

Conclusiones

En este trabajo fue desarrollada y aplicada una nueva Metodología del diseño y construcción de un sistema de Fitorremediación de un Complejo de Recirculación Acuícola del aprovechamiento sostenible de aguas Post-Consumo mediante la aplicación de conceptos de economía circular y cero residuos. La metodología está basada en tres componentes claves del desarrollo sostenible: diseño de un sistema novedosa de Fitorremediación junto con el análisis de Ciclo de Vida y validación económica. Se probó la capacidad de las aguas residuales de un sistema de pesca continental en Colombia (Norte de Santander) como medio de cultivo para *Chlorella sp.* y *Scenedesmus sp.*

Se evaluó la simulación de este sistema para su transformación en alimento sostenible para peces utilizando el software Designer® y se evaluaron los impactos ambientales de la producción de 1 kg de biomasa para alimentación animal cultivada en efluentes pesqueros mediante el método de evaluación del ciclo de vida utilizando el software Simapro.

Los resultados mostraron que la adición de NaNO_3 (0,125 g/L), K_2HPO_4 (0,075 g/L), KH_2PO_4 (0,75 g/L), y NaHCO_3 (0,5 y 2 g/L para *Chlorella sp.* y *Scenedesmus sp.* respectivamente) aumentó significativamente la biomasa de *Chlorella sp.* (0,87 g/L) y *Scenedesmus sp.* (0,83 g/L).

Es posible producir hasta 11.875 kg/año (31,3 kg/día) con un costo de producción de hasta 18 (USD/kg) para la biomasa seca y 0,19 (USD/botella 500 ml de biomasa) para la biomasa concentrada.

Se estableció la cinética de crecimiento de la biomasa dependiente del sustrato con una producción máxima de 1,25 g/L al cabo de 15 días y una eliminación del 98% del N disponible junto con un 20% del P.

Se determinó que los efectos medioambientales se redujeron al utilizar aguas residuales como fuente de agua y nutrientes, alcanzando valores de impacto negativos, presentando como única excepción el consumo de agua, mientras que el análisis de los impactos normalizados mostró que los resultados más significativos están dentro de la categoría relacionada con la toxicidad.

La metodología desarrollada puede ser utilizada para el diseño y construcción de los sistemas de fitorremediación para el aprovechamiento de aguas post-consumo de sistemas piscícolas en diferentes regiones, impactando así en el desarrollo sostenible del país.

Recomendaciones

Evaluar el aprovechamiento de los lodos residuales en la etapa de tratamiento del agua residual generada de los cultivos de peces ya sea para obtener nutrientes para enriquecer el agua utilizada para el cultivo de microalgas o como materia prima para la generación de energía mediante biodigestión.

Evaluar el crecimiento y comportamiento del cultivo de los peces en el agua residual tratada luego del cultivo de alga. De igual manera, evaluar el consumo y efecto de la biomasa producida como suplemento alimenticio de los peces.

Establecer el consumo energético total del proceso y su remplazo por energías alternativas que puedan ser implementadas en zonas con dificultades de acceso a la energía eléctrica del país.

Principales publicaciones obtenidos en la tesis

Durante el desarrollo de la tesis doctoral, se resaltan los siguientes resultados

Cuatro (4) artículos publicados en revistas homologadas ante MINCIENCIAS:

García-Martínez, J. B., Sanchez-Tobos, L. P., Carvajal-Albarracín, N. A., Barajas-Solano, A. F., Barajas-Ferreira, C., Kafarov, V., & Zuorro, A. (2022). The Circular Economy Approach to Improving CNP Ratio in Inland Fishery Wastewater for Increasing Algal Biomass Production. In *Water* (Vol. 14, Issue 5). <https://doi.org/10.3390/w14050749>

(Q1_SCOPUS A1_MINCIENCIAS)

García-Martínez, J. B., Contreras-Ropero, J. E., Urbina-Suarez, N. A., López-Barrera, G. L., Barajas-Solano, A. F., Kafarov, V., Barajas-Ferreira, C., Ibarra-Mojica, D. M., & Zuorro, A. (2022). A Simulation Analysis of a Microalgal-Production Plant for the Transformation of Inland-Fisheries Wastewater in Sustainable Feed. In *Water* (Vol. 14, Issue 2). <https://doi.org/10.3390/w14020250>

(Q1_SCOPUS A1_MINCIENCIAS)

García-Martínez, J. B., Urbina-Suarez, N. A., Zuorro, A., Barajas-Solano, A. F., & Kafarov, V. (2019). Fisheries wastewater as a sustainable media for the production of algae-based products. *Chemical Engineering Transactions*, 76. <https://doi.org/10.3303/CET1976224>

(Q3_SCOPUS B_MINCIENCIAS)

Gámez-Ortiz, L.P., González-Soto, M. J., Perez-Roa, M. E., García-Martínez, J. B., Urbina-Suarez, N. A., and Diaz-Castañeda, C. E. (2019). Bioconversion of post-culture wastewater from farm fisheries for the production of high-value algal biomass. *Journal of Physics, Conference series*, 1388 012036 DOI 10.1088/1742-6596/1388/1/012036

(Q3_SCOPUS B_MINCIENCIAS)

Codirección de dos (2) tesis de maestría en Ingeniería Química

Título: Evaluación de sistemas piloto de lodos activados y UASB para el aprovechamiento de efluentes tratados de aguas residuales domesticas de Cúcuta (Norte de Santander) en cultivos de *Chlorella sp.*, mediante la metodología del análisis de ciclo de vida.

Estudiante: Michael Edgardo Pérez Roa.

Programa: Maestría en Ingeniería Química

Institución: Universidad Industrial de Santander

Estado: Terminada

Título: Transformación de lixiviados del Parque Tecnológico Ambiental Guayabal (VEOLIA S.A.S. E.S.P.) en productos de valor agregado mediante el uso de microalgas y cianobacterias”.

Estudiante: María Daniela Ortiz Álvarez.

Programa: Maestría en Ingeniería Química.

Institución: Universidad Industrial de Santander

Estado: En curso.

Codirección de cuatro (4) tesis de pregrado

Título: Bioconversión de efluentes piscícolas para la producción de biomasa algal de alto valor agregado.

Estudiantes: Lynda Valentina Carreño Villarreal, Carlos Simón González Acevedo.

Programa: Ingeniería Química.

Institución: Universidad Industrial de Santander

Estado: Terminado

Título: Evaluación preliminar del potencial de la biomasa algal producida en efluentes piscícolas.

Estudiante: Lyda Marcela Chacon Figueroa.

Programa: Ingeniería Química.

Institución: Universidad Industrial de Santander

Estado: Terminado

Título: Evaluación de la capacidad de biorremediación de aguas post-consumo de piscicultura mediante el uso de microalgas y cianobacterias.

Estudiante: Neddy Finrley Ariza Perez.

Programa: Ingeniería Ambiental.

Institución: Universidad Francisco de Paula Santander

Estado: Terminado

Título: Evaluación del efecto de la fuente de carbono para la producción de biomasa microalgal utilizando efluentes piscícolas como medio de cultivo.

Estudiantes: Nicolaz carvajal albarracin, Leidy Paola Sanchez Tobos.

Programa: Ingeniería Biotecnológica

Institución: Universidad Francisco de Paula Santander

Estado: Terminado

Diez (10) presentaciones en eventos internacionales

Application Of Microalgal Strains from Inland Fisheries for The Production of Algal Feed Through the Removal on Excess Nutrients. *The 7th Conference of the International Society for Applied Phycology (ISAP2021)*. Online conference, May 14 to August 13, 2021.

Bioconversion of Fisheries Farm Wastewater for the Production of Algal Biomass of High Value. *3rd International Conference on Technologies & Business Models for Circular Economy*. on-line, Slovenia, 15 December 2020.

Improvement of Colombian Aquaculture Hydric Sustainability: Application of Phytoremediation Process Under a Circular Economy Scheme. *International Conference on Technologies & Business Models for Circular Economy*. Portorož, Slovenia. 05-09-2018.

Bio-conversión de aguas post- consumo piscícola para la producción de biomasa algal de alto valor agregado. *5th International Week of Science, Technology & Innovation*. Universidad Francisco de Paula Santander. Cucuta-Colombia, 20-11-2018.

Valuación de la capacidad de biorremediación de aguas post-consumo de piscicultura mediante el uso de microalgas y cianobacterias. *6th International Week of Science, Technology & Innovation*. Universidad Francisco de Paula Santander. Cucuta-Colombia. 20-11-2019.

Determinación de fuentes de carbono en la producción de biomasa de microalgas cultivadas en aguas residuales de piscicultura. *7th International Week of Science, Technology & Innovation*. Universidad Francisco de Paula Santander. Cucuta-Colombia. 10-09-2020.

Sustainable Production of Industrially Relevant Microalgae-based Metabolites. *8th International Week of Science, Technology & Innovation*. Universidad Francisco de Paula Santander. Cucuta-Colombia. 21-09-2021.

Aislamiento, e identificación de microorganismos aislados de termales ubicados en Norte de Santander. *III Seminario Internacional Catatumbarí*, Universidad Francisco de Paula Santander. Ocaña-Colombia 13-10-2021.

Eliminación de nutrientes y pesticidas de la escorrentía agrícola utilizando algas y cianobacterias. *II Simposio Internacional y Simposio Nacional de Desarrollo Rural, Agroecología y Sostenibilidad*. Bogotá, 13-10-2021.

Biodiversidad de cianobacterias y microalgas en sistemas de piscicultura continental. *III Congreso Internacional de Ciencias Agrarias y Ambientales. Cambio climático y producción agropecuaria sostenible*. Bogotá, 5-11-2021

Referencias

- Acién, F. G., Fernández, J. M., Magán, J. J., & Molina, E. (2012). Production cost of a real microalgae production plant and strategies to reduce it. *Biotechnology Advances*, 30(6), 1344–1353. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.02.005>
- Ahmad, A. L., Chin, J. Y., Mohd Harun, M. H. Z., & Low, S. C. (2022). Environmental impacts and imperative technologies towards sustainable treatment of aquaculture wastewater: A review. *Journal of Water Process Engineering*, 46, 102553. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2021.102553>
- Ahmad, A., Banat, F., Alsafar, H., & Hasan, S. W. (2022). Algae biotechnology for industrial wastewater treatment, bioenergy production, and high-value bioproducts. *Science of The Total Environment*, 806, 150585. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150585>
- Ahmad, I., Babitha Rani, A. M., Verma, A. K., & Maqsood, M. (2017). Biofloc technology: an emerging avenue in aquatic animal healthcare and nutrition. *Aquaculture International*, 25(3), 1215–1226. <https://doi.org/10.1007/s10499-016-0108-8>
- Ahmed, N., & Turchini, G. M. (2021). Recirculating aquaculture systems (RAS): Environmental solution and climate change adaptation. *Journal of Cleaner Production*, 297, 126604. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.126604>
- Alemu, K., Assefa, B., Kifle, D., & Kloos, H. (2018). Removal of Organic Pollutants from Municipal Wastewater by Applying High-Rate Algal Pond in Addis Ababa, Ethiopia. *Earth Systems and Environment*, 2(2), 377–386. <https://doi.org/10.1007/s41748-018-0050-1>
- Alexander, K. A., Angel, D., Freeman, S., Israel, D., Johansen, J., Kletou, D., Meland, M., Pecorino, D., Rebours, C., Rousou, M., Shorten, M., & Potts, T. (2016). Improving sustainability of aquaculture in Europe: Stakeholder dialogues on Integrated Multi-trophic Aquaculture (IMTA). *Environmental Science & Policy*, 55, 96–106. <https://doi.org/10.1016/j.envsci.2015.09.006>
- Andersen, R. A. (2005). Recipes for freshwater and seawater media. *Algal culturing techniques*.
- Andreotti, V., Chindris, A., Brundu, G., Vallainc, D., Francavilla, M., & García, J. (2017). Bioremediation of aquaculture wastewater from *Mugil cephalus* (Linnaeus, 1758) with different microalgae species. *Chemistry and Ecology*, 33(8), 750–761. <https://doi.org/10.1080/02757540.2017.1378351>

- 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 Pollution*, 230(3), 60. <https://doi.org/10.1007/s11270-019-4122-0>
- Andreotti, V., Solimeno, A., Rossi, S., Ficara, E., Marazzi, F., Mezzanotte, V., & García, J. (2020). Bioremediation of aquaculture wastewater with the microalgae *Tetraselmis suecica*: Semi-continuous experiments, simulation and photo-respirometric tests. *Science of The Total Environment*, 738, 139859. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139859>
- Ansari, F. A., Singh, P., Guldhe, A., & Bux, F. (2017). Microalgal cultivation using aquaculture wastewater: Integrated biomass generation and nutrient remediation. *Algal Research*, 21, 169–177. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.11.015>
- Apandi, N. M., Mohamed, R. M. S. R., Al-Gheethi, A., & Kassim, A. H. M. (2019). Microalgal biomass production through phycoremediation of fresh market wastewater and potential applications as aquaculture feeds. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(4), 3226–3242. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3937-3>
- Aragaw, T. A., & Asmare, A. M. (2018). Phycoremediation of textile wastewater using indigenous microalgae. *Water Practice and Technology*, 13(2), 274–284. <https://doi.org/10.2166/wpt.2018.037>
- Arashiro, L. T., Josa, I., Ferrer, I., van Hulle, S. W. H., Rousseau, D. P. L., & Garfí, M. (2022). Life cycle assessment of microalgae systems for wastewater treatment and bioproducts recovery: Natural pigments, biofertilizer and biogas. *Science of The Total Environment*, 847, 157615. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.157615>
- Arashiro, L. T., Montero, N., Ferrer, I., Acién, F. G., Gómez, C., & Garfí, M. (2018). Life cycle assessment of high rate algal ponds for wastewater treatment and resource recovery. *Science of The Total Environment*, 622–623, 1118–1130. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.12.051>
- Araújo, R., Vázquez Calderón, F., Sánchez López, J., Azevedo, I. C., Bruhn, A., Fluch, S., Garcia Tasende, M., Ghaderiardakani, F., Ilmjärv, T., Laurans, M., mac Monagail, M., Mangini, S., Peteiro, C., Rebours, C., Stefansson, T., & Ullmann, J. (2021). Current Status of the Algae Production Industry in Europe: An Emerging Sector of the Blue Bioeconomy. *Frontiers in Marine Science*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.626389>

- Attasat, S., Wanichpongpan, P., & Ruenglerpanyakul, W. (2013). Cultivation of microalgae (*Oscillatoria okeni* and *Chlorella vulgaris*) using tilapia-pond effluent and a comparison of their biomass removal efficiency. *Water Science and Technology*, 67(2), 271–277. <https://doi.org/10.2166/wst.2012.505>
- Aylin Alagöz, B., Yenigün, O., & Erdinçler, A. (2018). Ultrasound assisted biogas production from co-digestion of wastewater sludges and agricultural wastes: Comparison with microwave pre-treatment. *Ultrasonics Sonochemistry*, 40, 193–200. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.05.014>
- Baird R, Bridgewater L (2017) Standard methods for the examination of water and wastewater (23rd ed.). American Public Health Association.
- Barajas-Solano, A. F., Gonzalez-Delgado, A. D., & Kafarov, V. (2014). Effect Of Thermal Pre-Treatment On Fermentable Sugar Production Of *Chlorella Vulgaris*. *Chemical Engineering Transactions*, 37, 655–660. <https://doi.org/10.3303/CET1437110>
- Barajas-Solano, A. F., Guzmán-Monsalve, A., & Kafarov, V. (2016). Effect of carbon-nitrogen ratio for the biomass production, hydrocarbons and lipids on *botryococcus braunii* UIS 003. *Chemical Engineering Transactions*, 49(2011), 247–252. <https://doi.org/10.3303/CET1649042>
- Barnharst, T., Rajendran, A., & Hu, B. (2018). Bioremediation of synthetic intensive aquaculture wastewater by a novel feed-grade composite biofilm. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 126, 131–142. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.10.007>
- Bartek, L., Strid, I., Henryson, K., Junne, S., Rasi, S., & Eriksson, M. (2021). Life cycle assessment of fish oil substitute produced by microalgae using food waste. *Sustainable Production and Consumption*, 27, 2002–2021. <https://doi.org/10.1016/j.spc.2021.04.033>
- Becker, E. W. (1994). *Microalgae: biotechnology and microbiology* (Vol. 10). Cambridge University Press.
- Bernard, O., & Rémond, B. (2012). Validation of a simple model accounting for light and temperature effect on microalgal growth. *Bioresource Technology*, 123, 520–527. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.07.022>
- Bitog, J. P., Lee, I.-B., Lee, C.-G., Kim, K.-S., Hwang, H.-S., Hong, S.-W., Seo, I.-H., Kwon, K.-S., & Mostafa, E. (2011). Application of computational fluid dynamics for modeling and

- designing photobioreactors for microalgae production: A review. *Computers and Electronics in Agriculture*, 76(2), 131–147. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2011.01.015>
- Blanken, W., Cuaresma, M., Wijffels, R. H., & Janssen, M. (2013). Cultivation of microalgae on artificial light comes at a cost. *Algal Research*, 2(4), 333–340. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2013.09.004>
- Borowitzka, M. A. (2018). Chapter 3 - Biology of Microalgae (I. A. Levine & J. B. T.-M. in H. and D. P. Fleurence (eds.); pp. 23–72). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811405-6.00003-7>
- Boyd, C. E., McNevin, A. A., & Davis, R. P. (2022). The contribution of fisheries and aquaculture to the global protein supply. *Food Security*. <https://doi.org/10.1007/s12571-021-01246-9>
- Boyd, C., & McNevin, A. (2015). *Aquaculture, resource use, and the environment*. John Wiley & Sons.
- Branco-Vieira, M., Costa, D., Mata, T. M., Martins, A. A., Freitas, M. A. v, & Caetano, N. S. (2020). A life cycle inventory of microalgae-based biofuels production in an industrial plant concept. *Energy Reports*, 6, 397–402. <https://doi.org/10.1016/j.egyr.2019.08.079>
- Brugère, C., Aguilar-Manjarrez, J., Beveridge, M. C. M., & Soto, D. (2019). The ecosystem approach to aquaculture 10 years on – a critical review and consideration of its future role in blue growth. *Reviews in Aquaculture*, 11(3), 493–514. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/raq.12242>
- Bussa, M., Zollfrank, C., & Röder, H. (2020). Life-cycle assessment and geospatial analysis of integrating microalgae cultivation into a regional economy. *Journal of Cleaner Production*, 243, 118630. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.118630>
- Campbell, B. M., Vermeulen, S. J., Aggarwal, P. K., Corner-Dolloff, C., Girvetz, E., Loboguerrero, A. M., Ramirez-Villegas, J., Rosenstock, T., Sebastian, L., Thornton, P. K., & Wollenberg, E. (2016). Reducing risks to food security from climate change. *Global Food Security*, 11, 34–43. <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2016.06.002>
- Cardoso, L. G., Duarte, J. H., Costa, J. A. V., de Jesus Assis, D., Lemos, P. V. F., Druzian, J. I., de Souza, C. O., Nunes, I. L., & Chinalia, F. A. (2021). *Spirulina* sp. as a Bioremediation Agent for Aquaculture Wastewater: Production of High Added Value Compounds and

- Estimation of Theoretical Biodiesel. *BioEnergy Research*, 14(1), 254–264.
<https://doi.org/10.1007/s12155-020-10153-4>
- Casá, N. E., Lois-Milevicich, J., Alvarez, P., Mateucci, R., & de Escalada Pla, M. (2022). *Chlorella vulgaris* cultivation using ricotta cheese whey as substrate for biomass production. *Journal of Applied Phycology*, 34(2), 745–756. <https://doi.org/10.1007/s10811-022-02685-3>
- Cashion, T., Le Manach, F., Zeller, D., & Pauly, D. (2017). Most fish destined for fishmeal production are food-grade fish. *Fish and Fisheries*, 18(5), 837–844.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1111/faf.12209>
- Castellanos-Estupinan, M., Sanchez-Galvis, M., Garcia-Martinez, J. B., Barajas-Ferreira, C., Zuorro, A., & Barajas-Solano, A. F. (2018). Design of an Electroflotation System for the Concentration and Harvesting of Freshwater Microalgae. *Chemical Engineering Transactions*, 64, 1-6 SE-Research Articles. <https://doi.org/10.3303/CET1864001>
- Castro, J. de S., Calijuri, M. L., Ferreira, J., Assemany, P. P., & Ribeiro, V. J. (2020). Microalgae based biofertilizer: A life cycle approach. *Science of The Total Environment*, 724, 138138.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138138>
- Catone, C. M., Ripa, M., Geremia, E., & Ulgiati, S. (2021). Bio-products from algae-based biorefinery on wastewater: A review. *Journal of Environmental Management*, 293, 112792.
<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112792>
- Chen, C.-Y., Kuo, E.-W., Nagarajan, D., Ho, S.-H., Dong, C.-D., Lee, D.-J., & Chang, J.-S. (2020). Cultivating *Chlorella sorokiniana* AK-1 with swine wastewater for simultaneous wastewater treatment and algal biomass production. *Bioresource Technology*, 302, 122814.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122814>
- Chen, Y.-D., Liu, F., Ren, N.-Q., & Ho, S.-H. (2020). Revolutions in algal biochar for different applications: State-of-the-art techniques and future scenarios. *Chinese Chemical Letters*, 31(10), 2591–2602. <https://doi.org/10.1016/j.ccllet.2020.08.019>
- Chew, K. W., Chia, S. R., Show, P. L., Ling, T. C., Arya, S. S., & Chang, J.-S. (2018). Food waste compost as an organic nutrient source for the cultivation of *Chlorella vulgaris*. *Bioresource Technology*, 267, 356–362. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.07.069>

- Chia, S. R., Chew, K. W., Leong, H. Y., Ho, S.-H., Munawaroh, H. S. H., & Show, P. L. (2021). CO₂ mitigation and phycoremediation of industrial flue gas and wastewater via microalgae-bacteria consortium: Possibilities and challenges. *Chemical Engineering Journal*, 425, 131436. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.131436>
- Choi, H.-J. (2016). Parametric study of brewery wastewater effluent treatment using *Chlorella vulgaris* microalgae. *Environmental Engineering Research*, 21(4), 401–408. <https://doi.org/10.4491/eer.2016.024>
- Chu, R., Ma, J., Zhou, C., Liu, D., Wang, G., Ruan, R., Lu, Y., Yan, X., & Cheng, P. (2022). Improved growth of bait microalgae *Isochrysis* and aquacultural wastewater treatment with mixotrophic culture. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 45(3), 589–597. <https://doi.org/10.1007/s00449-021-02681-w>
- Collos, Y., & Harrison, P. J. (2014). Acclimation and toxicity of high ammonium concentrations to unicellular algae. *Marine Pollution Bulletin*, 80(1), 8–23. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.01.006>
- Colzi Lopes, A., Valente, A., Iribarren, D., & González-Fernández, C. (2018). Energy balance and life cycle assessment of a microalgae-based wastewater treatment plant: A focus on alternative biogas uses. *Bioresource Technology*, 270, 138–146. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.09.005>
- Coppens, J., Lindeboom, R., Muys, M., Coessens, W., Alloul, A., Meerbergen, K., Lievens, B., Clauwaert, P., Boon, N., & Vlaeminck, S. E. (2016). Nitrification and microalgae cultivation for two-stage biological nutrient valorization from source separated urine. *Bioresource Technology*, 211, 41–50. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.03.001>
- Crab, R., Avnimelech, Y., Defoirdt, T., Bossier, P., & Verstraete, W. (2007). Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. *Aquaculture*, 270(1-4), 1-14.
- Cristian, S., Benone, P., Neculai, P., Marilena, T., Victor, C., & Magdalena, T. (2013). Preliminary research on the anammox process and control of nitrogen compounds in a recirculating aquaculture system. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation*, 6(1), 27-33.
- Cuéllar-García, D. J., Rangel-Basto, Y. A., Urbina-Suarez, N. A., Barajas-Solano, A. F., & Muñoz-Peñaloza, Y. A. (2019). Lipids production from *Scenedesmus obliquus* through

- carbon/nitrogen ratio optimization. *Journal of Physics: Conference Series*, 1388(1), 12043. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1388/1/012043>
- D'Imporzano, G., Veronesi, D., Salati, S., & Adani, F. (2018). Carbon and nutrient recovery in the cultivation of *Chlorella vulgaris*: A life cycle assessment approach to comparing environmental performance. *Journal of Cleaner Production*, 194, 685–694. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.05.174>
- da Fontoura, J. T., Rolim, G. S., Farenzena, M., & Gutterres, M. (2017). Influence of light intensity and tannery wastewater concentration on biomass production and nutrient removal by microalgae *Scenedesmus* sp. *Process Safety and Environmental Protection*, 111, 355–362. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2017.07.024>
- Daneshvar, E., Antikainen, L., Koutra, E., Kornaros, M., & Bhatnagar, A. (2018). Investigation on the feasibility of *Chlorella vulgaris* cultivation in a mixture of pulp and aquaculture effluents: Treatment of wastewater and lipid extraction. *Bioresource Technology*, 255, 104–110. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.01.101>
- Davis, D., Morão, A., Johnson, J. K., & Shen, L. (2021). Life cycle assessment of heterotrophic algae omega-3. *Algal Research*, 60, 102494. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102494>
- de Mendonça, H. V., Otenio, M. H., Marchão, L., Lomeu, A., de Souza, D. S., & Reis, A. (2022). Biofuel recovery from microalgae biomass grown in dairy wastewater treated with activated sludge: The next step in sustainable production. *Science of The Total Environment*, 824, 153838. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153838>
- de Souza, M. H. B., Calijuri, M. L., Assemany, P. P., Castro, J. de S., & de Oliveira, A. C. M. (2019). Soil application of microalgae for nitrogen recovery: A life-cycle approach. *Journal of Cleaner Production*, 211, 342–349. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.11.097>
- Degieter, M., Gellynck, X., Goyal, S., Ott, D., & de Steur, H. (2022). Life cycle cost analysis of agri-food products: A systematic review. *Science of The Total Environment*, 850, 158012. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.158012>
- Ding, Y., Guo, Z., Mei, J., Liang, Z., Li, Z., & Hou, X. (2020). Investigation into the Novel Microalgae Membrane Bioreactor with Internal Circulating Fluidized Bed for Marine Aquaculture Wastewater Treatment. In *Membranes* (Vol. 10, Issue 11). <https://doi.org/10.3390/membranes10110353>

- Do, C. V. T., Nguyen, N. T. T., Tran, T. D., Pham, M. H. T., & Pham, T. Y. T. (2021). Capability of carbon fixation in bicarbonate-based and carbon dioxide-based systems by *Scenedesmus acuminatus* TH04. *Biochemical Engineering Journal*, 166, 107858. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2020.107858>
- Dourou, M., Tsolcha, O. N., Tekerlekopoulou, A. G., Bokas, D., & Aggelis, G. (2018). Fish farm effluents are suitable growth media for *Nannochloropsis gaditana*, a polyunsaturated fatty acid producing microalga. *Engineering in Life Sciences*, 18(11), 851–860. <https://doi.org/10.1002/elsc.201800064>
- Duan, Y., Guo, X., Yang, J., Zhang, M., & Li, Y. (2022). Nutrients recycle and the growth of *Scenedesmus obliquus* in synthetic wastewater under different sodium carbonate concentrations. *Royal Society Open Science*, 7(1), 191214. <https://doi.org/10.1098/rsos.191214>
- Dyhrman, S. T. (2016). Nutrients and Their Acquisition: Phosphorus Physiology in Microalgae BT - *The Physiology of Microalgae* (M. A. Borowitzka, J. Beardall, & J. A. Raven (eds.); pp. 155–183). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-24945-2_8
- Edwards, P. (2015). Aquaculture environment interactions: Past, present and likely future trends. *Aquaculture*, 447, 2–14. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.02.001>
- Effendi, H., Widyatmoko, Utomo, B. A., & Pratiwi, N. T. M. (2020). Ammonia and orthophosphate removal of tilapia cultivation wastewater with *Vetiveria zizanioides*. *Journal of King Saud University - Science*, 32(1), 207–212. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2018.04.018>
- Eixler, S., Karsten, U., & Selig, U. (2006). Phosphorus storage in *Chlorella vulgaris* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) cells and its dependence on phosphate supply. *Phycologia*, 45(1), 53–60. <https://doi.org/10.2216/04-79.1>
- Enwereuzoh, U., Harding, K., & Low, M. (2021). Microalgae cultivation using nutrients in fish farm effluent for biodiesel production. *South African Journal of Chemical Engineering*, 37, 46–52. <https://doi.org/10.1016/j.sajce.2021.03.007>
- Eze, V. C., Velasquez-Orta, S. B., Hernández-García, A., Monje-Ramírez, I., & Orta-Ledesma, M. T. (2018). Kinetic modelling of microalgae cultivation for wastewater treatment and

carbon dioxide sequestration. *Algal Research*, 32, 131–141.

<https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.03.015>

Fan, H., Wang, K., Wang, C., Yu, F., He, X., Ma, J., & Li, X. (2020). A comparative study on growth characters and nutrients removal from wastewater by two microalgae under optimized light regimes. *Environmental Technology & Innovation*, 19, 100849.

<https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.100849>

FAO (2003). Agriculture Organization (FAO) of the United Nations. *The State of Food and Agriculture*, 4.

FAO (2009). Integrated multitrophic aquaculture (IMTA) in marine temperate waters. In: Soto D (ed) *Integrated Mariculture*. In FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper, 529, 7-46. (Vol. 529).

FAO (2017) Reutilización de aguas para agricultura en América Latina y el Caribe.

FAO (2018) *The state of fisheries and aquaculture in the world 2018*

FAO, F. (2020). *The state of world fisheries and aquaculture 2020. Sustainability in action*. Rome.

FAO. 2022. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation*. Rome, FAO. <https://doi.org/10.4060/cc0461en>

Fernández, E., Llamas, Á., & Galván, A. (2009). Chapter 3 - Nitrogen Assimilation and its Regulation (E. H. Harris, D. B. Stern, & G. B. B. T.-T. C. S. (Second E. Witman (eds.); pp. 69–113). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-370873-1.00011-3>

Fonseca, A. L., Newton, A., & Cabral, A. (2021). Local and meso-scale pressures in the eutrophication process of a coastal subtropical system: Challenges for effective management. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 250, 107109.

<https://doi.org/10.1016/j.ecss.2020.107109>

Gao, F., Li, C., Yang, Z.-H., Zeng, G.-M., Feng, L.-J., Liu, J., Liu, M., & Cai, H. (2016). Continuous microalgae cultivation in aquaculture wastewater by a membrane photobioreactor for biomass production and nutrients removal. *Ecological Engineering*, 92, 55–61. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.03.046>

- García-Martínez, B., Ayala-Torres, E., Reyes-Gomez, O., Zuurro, A., Barajas-Solano, A., & Barajas-Ferreira, C. (2016). Evaluation of a Two-Phase Extraction System of Carbohydrates and Proteins from *Chlorella vulgaris* UTEX 1803. *Chemical Engineering Transactions*, 49, 355-360 SE-Research Articles. <https://doi.org/10.3303/CET1649060>
- García-Martínez, J. B., Contreras-Ropero, J. E., Urbina-Suarez, N. A., López-Barrera, G. L., Barajas-Solano, A. F., Kafarov, V., Barajas-Ferreira, C., Ibarra-Mojica, D. M., & Zuurro, A. (2022a). A Simulation Analysis of a Microalgal-Production Plant for the Transformation of Inland-Fisheries Wastewater in Sustainable Feed. *Water*, 14. <https://doi.org/10.3390/w14020250>
- García-Martínez, J. B., Sanchez-Tobos, L. P., Carvajal-Albarracín, N. A., Barajas-Solano, A. F., Barajas-Ferreira, C., Kafarov, V., & Zuurro, A. (2022 b). The Circular Economy Approach to Improving CNP Ratio in Inland Fishery Wastewater for Increasing Algal Biomass Production. *Water*, 14. <https://doi.org/10.3390/w14050749>
- García-Martínez, J. B., Urbina-Suarez, N. A., Zuurro, A., Barajas-Solano, A. F., & Kafarov, V. (2019). Fisheries wastewater as a sustainable media for the production of algae-based products. *Chemical Engineering Transactions*, 76. <https://doi.org/10.3303/CET1976224>
- Gauje, B., Yusufu, W. N., Chia, M. A., Bako, S. P., Abolude, D. S., Tanimu, Y., Adudu, J. A., & Okoduwa, S. I. R. (2022). Simultaneous phytoremediation of tannery effluent and production of fatty acids rich biomass by *Chlorella sorokiniana*. *Journal of Applied Phycology*, 34(2), 929–940. <https://doi.org/10.1007/s10811-022-02683-5>
- Ge, H., Li, J., Chang, Z., Chen, P., Shen, M., & Zhao, F. (2016). Effect of microalgae with semicontinuous harvesting on water quality and zootechnical performance of white shrimp reared in the zero water exchange system. *Aquacultural Engineering*, 72–73, 70–76. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2016.04.006>
- Gephart, J. A., Henriksson, P. J. G., Parker, R. W. R., Shepon, A., Gorospe, K. D., Bergman, K., Eshel, G., Golden, C. D., Halpern, B. S., Hornborg, S., Jonell, M., Metian, M., Mifflin, K., Newton, R., Tyedmers, P., Zhang, W., Ziegler, F., & Troell, M. (2021). Environmental performance of blue foods. *Nature*, 597(7876), 360–365. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03889-2>
- Gogoi, M., Mukherjee, I., & Ray Chaudhuri, S. (2021). Characterization of ammonia remover *Bacillus albus* (ASSF01) in terms of biofilm-forming ability with application in

- aquaculture effluent treatment. *Environmental Science and Pollution Research*.
<https://doi.org/10.1007/s11356-021-16021-8>
- Gorito, A. M., Lado Ribeiro, A. R., Pereira, M. F. R., Almeida, C. M. R., & Silva, A. M. T. (2022). Advanced oxidation technologies and constructed wetlands in aquaculture farms: What do we know so far about micropollutant removal? *Environmental Research*, 204, 111955. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111955>
- Gouveia, L., Graça, S., Sousa, C., Ambrosano, L., Ribeiro, B., Botrel, E. P., Neto, P. C., Ferreira, A. F., & Silva, C. M. (2016). Microalgae biomass production using wastewater: Treatment and costs: Scale-up considerations. *Algal Research*, 16, 167–176.
<https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.03.010>
- Grady Jr, C. L., Daigger, G. T., Love, N. G., & Filipe, C. D. (2011). *Biological wastewater treatment*. CRC press.
- Guiza-Franco, L., Orozco-Rojas, L. G., Sánchez-Galvis, E. M., García-Martínez, J. B., Barajas-Ferreira, C., Zuorro, A., & Barajas-Solano, A. F. (2018). Production of *Chlorella vulgaris* biomass on UV-treated wastewater as an alternative for environmental sustainability on high-mountain fisheries. *Chemical Engineering Transactions*, 64.
<https://doi.org/10.3303/CET1864087>
- Guldhe, A., Ansari, F. A., Singh, P., & Bux, F. (2017). Heterotrophic cultivation of microalgae using aquaculture wastewater: A biorefinery concept for biomass production and nutrient remediation. *Ecological Engineering*, 99, 47–53.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.11.013>
- Güven, H., Dereli, R. K., Özgün, H., Ersahin, M. E., & Öztürk, I. (2019). Towards sustainable and energy efficient municipal wastewater treatment by up-concentration of organics. *Progress in Energy and Combustion Science*, 70, 145–168.
<https://doi.org/10.1016/j.pecs.2018.10.002>
- Guzmán, J. L., Acién, F. G., & Berenguel, M. (2020). Modelado y control de la producción de microalgas en fotobiorreactores industriales. *Revista Iberoamericana de Automática e Informática Industrial*, 18(1 SE-Tutoriales), 1–18. <https://doi.org/10.4995/riai.2020.13604>
- Halfhide, T., Åkerström, A., Lekang, O. I., Gislerød, H. R., & Ergas, S. J. (2014). Production of algal biomass, chlorophyll, starch and lipids using aquaculture wastewater under axenic and non-axenic conditions. *Algal Research*, 6, 152–159.
<https://doi.org/10.1016/j.algal.2014.10.009>

- Han, P., Lu, Q., Fan, L., & Zhou, W. (2019). A Review on the Use of Microalgae for Sustainable Aquaculture. In *Applied Sciences* (Vol. 9, Issue 11). <https://doi.org/10.3390/app9112377>
- Han, W., Mao, Y., Wei, Y., Shang, P., & Zhou, X. (2020). Bioremediation of Aquaculture Wastewater with Algal-Bacterial Biofilm Combined with the Production of Selenium Rich Biofertilizer. In *Water* (Vol. 12, Issue 7). <https://doi.org/10.3390/w12072071>
- Hao, X., Wang, X., Liu, R., Li, S., van Loosdrecht, M. C. M., & Jiang, H. (2019). Environmental impacts of resource recovery from wastewater treatment plants. *Water Research*, 160, 268–277. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.05.068>
- Hawrot-Paw, M., Koniuszy, A., Gałczyńska, M., Zając, G., & Szyszlak-Bargłowicz, J. (2020). Production of Microalgal Biomass Using Aquaculture Wastewater as Growth Medium. In *Water* (Vol. 12, Issue 1). <https://doi.org/10.3390/w12010106>
- Herrera, A., D'Imporzano, G., Acien Fernandez, F. G., & Adani, F. (2021). Sustainable production of microalgae in raceways: Nutrients and water management as key factors influencing environmental impacts. *Journal of Cleaner Production*, 287, 125005. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.125005>
- Hesni, M. A., Hedayati, A., Qadermarzi, A., Pouladi, M., Zangiabadi, S., & Naqshbandi, N. (2020). Using *Chlorella vulgaris* and iron oxide nanoparticles in a designed bioreactor for aquaculture effluents purification. *Aquacultural Engineering*, 90, 102069. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2020.102069>
- Hill, P. S., Tripathi, A. K., & Schauble, E. A. (2014). Theoretical constraints on the effects of pH, salinity, and temperature on clumped isotope signatures of dissolved inorganic carbon species and precipitating carbonate minerals. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 125, 610–652. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2013.06.018>
- Ho, S.-H., Huang, S.-W., Chen, C.-Y., Hasunuma, T., Kondo, A., & Chang, J.-S. (2013). Characterization and optimization of carbohydrate production from an indigenous microalga *Chlorella vulgaris* FSP-E. *Bioresource Technology*, 135, 157–165. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.100>
- Hossain, N., Zaini, J., & Indra Mahlia, T. M. (2019). Life cycle assessment, energy balance and sensitivity analysis of bioethanol production from microalgae in a tropical country. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 115, 109371. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.109371>

- Hu, J., Nagarajan, D., Zhang, Q., Chang, J.-S., & Lee, D.-J. (2018). Heterotrophic cultivation of microalgae for pigment production: A review. *Biotechnology Advances*, 36(1), 54–67. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2017.09.009>
- Hu, X., Meneses, Y. E., Stratton, J., & Wang, B. (2019). Acclimation of consortium of microalgae help removal of organic pollutants from meat processing wastewater. *Journal of Cleaner Production*, 214, 95–102. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.12.255>
- Huang, Y., Sun, Y., Liao, Q., Fu, Q., Xia, A., & Zhu, X. (2016). Improvement on light penetrability and microalgae biomass production by periodically pre-harvesting *Chlorella vulgaris* cells with culture medium recycling. *Bioresource Technology*, 216, 669–676. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.06.011>
- Huijbregts, M. A. J., Steinmann, Z. J. N., Elshout, P. M. F., Stam, G., Verones, F., Vieira, M., Zijp, M., Hollander, A., & van Zelm, R. (2017). ReCiPe2016: a harmonised life cycle impact assessment method at midpoint and endpoint level. *The International Journal of Life Cycle Assessment*, 22(2), 138–147. <https://doi.org/10.1007/s11367-016-1246-y>
- Hynstova, V., Sterbova, D., Klejdus, B., Hedbavny, J., Huska, D., & Adam, V. (2018). Separation, identification and quantification of carotenoids and chlorophylls in dietary supplements containing *Chlorella vulgaris* and *Spirulina platensis* using High Performance Thin Layer Chromatography. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 148, 108–118. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.09.018>
- Iasimone, F., Panico, A., De Felice, V., Fantasma, F., Iorizzi, M., & Pirozzi, F. (2018). Effect of light intensity and nutrients supply on microalgae cultivated in urban wastewater: Biomass production, lipids accumulation and settleability characteristics. *Journal of Environmental Management*, 223, 1078–1085. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.07.024>
- International Organization for Standardization. (2006). *Environmental management: life cycle assessment; Principles and Framework*. ISO.
- ISO, E. (2006). 14044: *Environmental Management, Life Cycle Assessment, Requirements and Guidelines*, DIN Deutsches Institut für Normung e. V.
- Jerónimo, D., Lillebø, A. I., Maciel, E., Domingues, M. R. M., Cremades, J., & Calado, R. (2021). Unravelling the fatty acid profiles of different polychaete species cultured under integrated multi-trophic aquaculture (IMTA). *Scientific Reports*, 11(1), 10812. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-90185-8>

- Kamyab, H., Friedler, F., Klemes, J. J., Chelliapan, S., & Rezania, S. (2018). Bioenergy Production and Nutrients Removal by Green Microalgae with Cultivation from Agro-Wastewater Palm Oil Mill Effluent (POME) - A Review . Chemical Engineering Transactions, 70, 2197-2202 SE-Research Articles. <https://doi.org/10.3303/CET1870367>
- Kong, W. B., Yang, H., Cao, Y. T., Song, H., Hua, S. F., & Xia, C. G. (2013). Effect of glycerol and glucose on the enhancement of biomass, lipid and soluble carbohydrate production by *Chlorella vulgaris* in mixotrophic culture. Food Technology and Biotechnology, 51(1), 62–69.
- Kumar, A. K., Sharma, S., Shah, E., Parikh, B. S., Patel, A., Dixit, G., Gupta, S., & Divecha, J. M. (2019). Cultivation of *Ascochloris* sp. ADW007-enriched microalga in raw dairy wastewater for enhanced biomass and lipid productivity. International Journal of Environmental Science and Technology, 16(2), 943–954. <https://doi.org/10.1007/s13762-018-1712-0>
- Lananan, F., Abdul Hamid, S. H., Din, W. N. S., Ali, N., Khaton, H., Jusoh, A., & Endut, A. (2014). Symbiotic bioremediation of aquaculture wastewater in reducing ammonia and phosphorus utilizing Effective Microorganism (EM-1) and microalgae (*Chlorella* sp.). International Biodeterioration & Biodegradation, 95, 127–134. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2014.06.013>
- Lauric, T., Camilo, M., E., C. J., L., C. W. W., J., G. N. A., A., J.-H. F., David, M., Rashid, S. U., & Joachim, C. (2022). Escaping the perfect storm of simultaneous climate change impacts on agriculture and marine fisheries. Science Advances, 5(11), eaaw9976. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aaw9976>
- Lawson T.B. (1995) Recirculating Aquaculture Systems. In: Fundamentals of Aquacultural Engineering. Springer, Boston, MA. https://bibliotecavirtual.uis.edu.co:2236/10.1007/978-1-4615-7047-9_10
- Leng, L., Li, J., Wen, Z., & Zhou, W. (2018). Use of microalgae to recycle nutrients in aqueous phase derived from hydrothermal liquefaction process. Bioresource Technology, 256, 529–542. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.01.121>
- Lerat, Y., Cornish, M. L., & Critchley, A. T. (2018). Applications of Algal Biomass in Global Food and Feed Markets: From Traditional Usage to the Potential for Functional Products. In Blue Biotechnology (pp. 143–189). <https://doi.org/10.1002/9783527801718.ch5>

- Letelier-Gordo, C. O., & Fernandes, P. M. (2021). Coagulation of phosphorous and organic matter from marine, land-based recirculating aquaculture system effluents. *Aquacultural Engineering*, 92, 102144. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2020.102144>
- Li, G., Zhang, J., Li, H., Hu, R., Yao, X., Liu, Y., Zhou, Y., & Lyu, T. (2021). Towards high-quality biodiesel production from microalgae using original and anaerobically-digested livestock wastewater. *Chemosphere*, 273, 128578. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128578>
- Li, M., Callier, M. D., Blancheton, J.-P., Galès, A., Nahon, S., Triplet, S., Geoffroy, T., Menniti, C., Fouilland, E., & Roque d'orbcastel, E. (2019). Bioremediation of fishpond effluent and production of microalgae for an oyster farm in an innovative recirculating integrated multi-trophic aquaculture system. *Aquaculture*, 504, 314–325. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.02.013>
- Li, S., Li, X., & Ho, S.-H. (2022). Microalgae as a solution of third world energy crisis for biofuels production from wastewater toward carbon neutrality: An updated review. *Chemosphere*, 291, 132863. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132863>
- Li, S., Show, P. L., Ngo, H. H., & Ho, S.-H. (2022). Algae-mediated antibiotic wastewater treatment: A critical review. *Environmental Science and Ecotechnology*, 9, 100145. <https://doi.org/10.1016/j.esec.2022.100145>
- Li, X., Marella, T. K., Tao, L., Peng, L., Song, C., Dai, L., Tiwari, A., & Li, G. (2017). A novel growth method for diatom algae in aquaculture waste water for natural food development and nutrient removal. *Water Science and Technology*, 75(12), 2777–2783. <https://doi.org/10.2166/wst.2017.156>
- Limonta, M., Krajnc, N. L., Vidic, U., & Zumalacárregui, L. (2013). Simulation for the recovery of plasmid for a DNA vaccine. *Biochemical Engineering Journal*, 80, 14–18. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2013.09.006>
- Lin, G., Li, K., Liang, S., Li, Y., Su, Y., & Wang, X. (2020). Compound eutrophication index: An integrated approach for assessing ecological risk and identifying the critical element controlling harmful algal blooms in coastal seas. *Marine Pollution Bulletin*, 150, 110585. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.110585>
- Liu, W., Du, X., Tan, H., Xie, J., Luo, G., & Sun, D. (2021). Performance of a recirculating aquaculture system using biofloc biofilters with convertible water-treatment efficiencies.

- Science of The Total Environment, 754, 141918.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141918>
- Liu, Y., Lv, J., Feng, J., Liu, Q., Nan, F., & Xie, S. (2019). Treatment of real aquaculture wastewater from a fishery utilizing phytoremediation with microalgae. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 94(3), 900–910. <https://doi.org/10.1002/jctb.5837>
- Lu, L., Wang, J., Yang, G., Zhu, B., & Pan, K. (2017). Biomass and nutrient productivities of *Tetraselmis chuii* under mixotrophic culture conditions with various C:N ratios. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 35(2), 303–312. <https://doi.org/10.1007/s00343-016-5299-3>
- Lu, W., Asraful Alam, M., Liu, S., Xu, J., & Parra Saldivar, R. (2020). Critical processes and variables in microalgae biomass production coupled with bioremediation of nutrients and CO₂ from livestock farms: A review. *Science of The Total Environment*, 716, 135247. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135247>
- Lu, W., Liu, S., Lin, Z., & Lin, M. (2021). Enhanced Microalgae Growth for Biodiesel Production and Nutrients Removal in Raw Swine Wastewater by Carbon Sources Supplementation. *Waste and Biomass Valorization*, 12(4), 1991–1999. <https://doi.org/10.1007/s12649-020-01135-w>
- Lugo, L. A., Thorarinsdottir, R. I., Bjornsson, S., Palsson, O. P., Skulason, H., Johannsson, S., & Brynjolfsson, S. (2020). Remediation of Aquaculture Wastewater Using the Microalga *Chlorella sorokiniana*. In *Water* (Vol. 12, Issue 11). <https://doi.org/10.3390/w12113144>
- Ma, R., Zhang, Z., Tang, Z., Ho, S.-H., Shi, X., Liu, L., Xie, Y., & Chen, J. (2021). Enhancement of co-production of lutein and protein in *Chlorella sorokiniana* FZU60 using different bioprocess operation strategies. *Bioresources and Bioprocessing*, 8(1), 82. <https://doi.org/10.1186/s40643-021-00436-9>
- MacLeod, M. J., Hasan, M. R., Robb, D. H. F., & Mamun-Ur-Rashid, M. (2020). Quantifying greenhouse gas emissions from global aquaculture. *Scientific Reports*, 10(1), 11679. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68231-8>
- Magalhães, I. B., Ferreira, J., Castro, J. de S., Assis, L. R. de, & Calijuri, M. L. (2022). Agro-industrial wastewater-grown microalgae: A techno-environmental assessment of open and closed systems. *Science of The Total Environment*, 834, 155282. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155282>

- Maiolo, S., Cristiano, S., Gonella, F., & Pastres, R. (2021). Ecological sustainability of aquafeed: An energy assessment of novel or underexploited ingredients. *Journal of Cleaner Production*, 294, 126266. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.126266>
- Maiolo, S., Parisi, G., Biondi, N., Lunelli, F., Tibaldi, E., & Pastres, R. (2020). Fishmeal partial substitution within aquafeed formulations: life cycle assessment of four alternative protein sources. *The International Journal of Life Cycle Assessment*, 25(8), 1455–1471. <https://doi.org/10.1007/s11367-020-01759-z>
- Malibari, R., Sayegh, F., Elazzazy, A. M., Baeshen, M. N., Dourou, M., & Aggelis, G. (2018). Reuse of shrimp farm wastewater as growth medium for marine microalgae isolated from Red Sea – Jeddah. *Journal of Cleaner Production*, 198, 160–169. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.07.037>
- Marangon, B. B., Calijuri, M. L., Castro, J. de S., & Assemany, P. P. (2021). A life cycle assessment of energy recovery using briquette from wastewater grown microalgae biomass. *Journal of Environmental Management*, 285, 112171. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112171>
- Markou, G., Wang, L., Ye, J., & Unc, A. (2018). Using agro-industrial wastes for the cultivation of microalgae and duckweeds: Contamination risks and biomass safety concerns. *Biotechnology Advances*, 36(4), 1238–1254. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.04.003>
- Martins, C. I. M., Eding, E. H., Verdegem, M. C. J., Heinsbroek, L. T. N., Schneider, O., Blancheton, J. P., d'Orbcastel, E. R., & Verreth, J. A. J. (2010). New developments in recirculating aquaculture systems in Europe: A perspective on environmental sustainability. *Aquacultural Engineering*, 43(3), 83–93. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2010.09.002>
- McKuin, B. L., Kapuscinski, A. R., Sarker, P. K., Cheek, N., Colwell, A., Schoffstall, B., & Greenwood, C. (2022). Comparative life cycle assessment of heterotrophic microalgae *Schizochytrium* and fish oil in sustainable aquaculture feeds. *Elementa: Science of the Anthropocene*, 10(1), 00098. <https://doi.org/10.1525/elementa.2021.00098>
- Michels, M. H. A., Vaskoska, M., Vermuë, M. H., & Wijffels, R. H. (2014). Growth of *Tetraselmis suecica* in a tubular photobioreactor on wastewater from a fish farm. *Water Research*, 65, 290–296. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.07.017>
- Milhazes-Cunha, H., & Otero, A. (2017). Valorisation of aquaculture effluents with microalgae: The Integrated Multi-Trophic Aquaculture concept. *Algal Research*, 24, 416–424. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.12.011>

- Mishra, S. K., Suh, W. I., Farooq, W., Moon, M., Shrivastav, A., Park, M. S., & Yang, J.-W. (2014). Rapid quantification of microalgal lipids in aqueous medium by a simple colorimetric method. *Bioresource Technology*, 155, 330–333. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.12.077>
- Mohd Nasir, A. S., Mohamed, B., & Li, L. Y. (2023). Comparative life cycle assessment of co-pyrolysing sewage sludge and wastewater-grown microalgae for biofuel production. *Resources, Conservation and Recycling*, 190, 106780. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2022.106780>
- Mohsenpour, S. F., Hennige, S., Willoughby, N., Adeloye, A., & Gutierrez, T. (2021). Integrating micro-algae into wastewater treatment: A review. *Science of The Total Environment*, 752, 142168. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142168>
- Monod, J. (1949). The growth of bacterial cultures. *Annual review of microbiology*, 3(1), 371-394.
- Montanaro, D., Lavecchia, R., Petrucci, E., & Zuurro, A. (2017). UV-assisted electrochemical degradation of coumarin on boron-doped diamond electrodes. *Chemical Engineering Journal*, 323, 512–519. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.04.129>
- Mook, W. T., Chakrabarti, M. H., Aroua, M. K., Khan, G. M. A., Ali, B. S., Islam, M. S., & Abu Hassan, M. A. (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>
- Morales, M., Bonnefond, H., & Bernard, O. (2020). Rotating algal biofilm versus planktonic cultivation: LCA perspective. *Journal of Cleaner Production*, 257, 120547. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.120547>
- Morando-Grijalva, C. A., Vázquez-Larios, A. L., Alcántara-Hernández, R. J., Ortega-Clemente, L. A., & Robledo-Narváez, P. N. (2020). Isolation of a freshwater microalgae and its application for the treatment of wastewater and obtaining fatty acids from tilapia cultivation. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(23), 28575–28584. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08308-z>
- Moshood, T. D., Nawanir, G., Ahmad, M. H., Lee, K. L., & Hussain, S. (2022). SUSTAINABLE BUSINESS MODEL INNOVATION AND PERSPECTIVE OF USING MICROALGAE TO PRODUCE BIOFUEL: A SYSTEMATIC LITERATURE REVIEW. *Journal of*

- Sustainability Science and Management, 17(3), 291–312.
<https://doi.org/10.46754/jssm.2022.03.022>
- Mota, M. F. S., Souza, M. F., Bon, E. P. S., Rodrigues, M. A., & Freitas, S. P. (2018). Colorimetric protein determination in microalgae (Chlorophyta): association of milling and SDS treatment for total protein extraction. *Journal of Phycology*, 54(4), 577–580.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jpy.12754>
- Mtaki, K., Kyewalyanga, M. S., & Mtolera, M. S. P. (2021). Supplementing wastewater with NPK fertilizer as a cheap source of nutrients in cultivating live food (*Chlorella vulgaris*). *Annals of Microbiology*, 71(1), 7. <https://doi.org/10.1186/s13213-020-01618-0>
- Mu, D., Min, M., Krohn, B., Mullins, K. A., Ruan, R., & Hill, J. (2014). Life Cycle Environmental Impacts of Wastewater-Based Algal Biofuels. *Environmental Science & Technology*, 48(19), 11696–11704. <https://doi.org/10.1021/es5027689>
- Näsholm, T., Kielland, K., & Ganeteg, U. (2009). Uptake of organic nitrogen by plants. *New Phytologist*, 182(1), 31–48. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02751.x>
- Nasir, N. M., Bakar, N. S. A., Lananan, F., Abdul Hamid, S. H., Lam, S. S., & Jusoh, A. (2015). Treatment of African catfish, *Clarias gariepinus* wastewater utilizing phytoremediation of microalgae, *Chlorella* sp. with *Aspergillus niger* bio-harvesting. *Bioresource Technology*, 190, 492–498. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.03.023>
- Naylor, R. L., Hardy, R. W., Buschmann, A. H., Bush, S. R., Cao, L., Klinger, D. H., Little, D. C., Lubchenco, J., Shumway, S. E., & Troell, M. (2021). A 20-year retrospective review of global aquaculture. *Nature*, 591(7851), 551–563. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03308-6>
- Neilson, A. H., & Lewin, R. A. (1974). The uptake and utilization of organic carbon by algae: an essay in comparative biochemistry. *Phycologia*, 13(3), 227–264.
<https://doi.org/10.2216/i0031-8884-13-3-227.1>
- Nigam, H., Jain, R., Malik, A., & Singh, V. (2022). Comparative Life-Cycle assessment of microalgal biomass production in conventional growth media versus newly developed nanoemulsion media. *Bioresource Technology*, 352, 127069.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127069>
- Nirmal, L. A., Vishal, R., Bhakthochidan, S. A., Roshini, V. B., & Jacob, S. (2022). Cell leakage minimization by immobilization modulation of *Chlorella sorokiniana* NCIM 5561 and

- phosphate removal from wastewater. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 19(4), 3015–3030. <https://doi.org/10.1007/s13762-021-03260-y>
- Nishshanka, G. K. S. H., Liyanaarachchi, V. C., Premaratne, M., Nimarshana, P. H. v, Ariyadasa, T. U., & Kornaros, M. (2021). Wastewater-based microalgal biorefineries for the production of astaxanthin and co-products: Current status, challenges and future perspectives. *Bioresource Technology*, 342, 126018. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126018>
- Olguín, E. J. (2003). Phycoremediation: key issues for cost-effective nutrient removal processes. *Biotechnology Advances*, 22(1), 81–91. [https://doi.org/10.1016/S0734-9750\(03\)00130-7](https://doi.org/10.1016/S0734-9750(03)00130-7)
- Oostlander, P. C., van Houcke, J., Wijffels, R. H., & Barbosa, M. J. (2020). Microalgae production cost in aquaculture hatcheries. *Aquaculture*, 525, 735310. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735310>
- Oscanoa Huaynate, A. I., Ynga Huamán, G. A., Chang Ávila, I. L., & Aguilar Samanamud, C. P. (2015). Impacto del CO₂ sobre la densidad celular en seis cepas de microalgas marinas. *Revista ION*, 28(2), 23-32. <https://doi.org/10.18273/revion.v28n2-2015002>
- Osundeko, O., Ansolia, P., Gupta, S. K., Bag, P., & Bajhaiya, A. K. (2019). Promises and Challenges of Growing Microalgae in Wastewater. In R. P. Singh, A. S. Kolok, & S. L. Bartelt-Hunt (Eds.), *Water Conservation, Recycling and Reuse: Issues and Challenges* (pp. 29–53). Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-13-3179-4_2
- Otondo, A., Kokabian, B., Stuart-Dahl, S., & Gude, V. G. (2018). Energetic evaluation of wastewater treatment using microalgae, *Chlorella vulgaris*. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 6(2), 3213–3222. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.04.064>
- Pandey, A., Srivastava, S., & Kumar, S. (2022). *Scenedesmus* sp. ASK22 cultivation using simulated dairy wastewater for nutrient sequestration and biofuel production: insight into fuel properties and their blends. *Biomass Conversion and Biorefinery*. <https://doi.org/10.1007/s13399-022-02596-w>
- Park, J. B. K., Craggs, R. J., & Shilton, A. N. (2011). Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. *Bioresource Technology*, 102(1), 35–42. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.158>

- Paul, B., Bhattacharya, S. S., & Gogoi, N. (2021). Primacy of ecological engineering tools for combating eutrophication: An ecohydrological assessment pathway. *Science of The Total Environment*, 762, 143171. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143171>
- Pegallapati, A. K., & Frank, E. D. (2016). Energy use and greenhouse gas emissions from an algae fractionation process for producing renewable diesel. *Algal Research*, 18, 235–240. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.06.019>
- Peng, Y.-Y., Gao, F., Yang, H.-L., Wu, H.-W.-J., Li, C., Lu, M.-M., & Yang, Z.-Y. (2020). Simultaneous removal of nutrient and sulfonamides from marine aquaculture wastewater by concentrated and attached cultivation of *Chlorella vulgaris* in an algal biofilm membrane photobioreactor (BF-MPBR). *Science of The Total Environment*, 725, 138524. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138524>
- Pérez-López, P., de Vree, J. H., Feijoo, G., Bosma, R., Barbosa, M. J., Moreira, M. T., Wijffels, R. H., van Boxtel, A. J. B., & Kleinegris, D. M. M. (2017). Comparative life cycle assessment of real pilot reactors for microalgae cultivation in different seasons. *Applied Energy*, 205, 1151–1164. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2017.08.102>
- Peter, A. P., Khoo, K. S., Chew, K. W., Ling, T. C., Ho, S.-H., Chang, J.-S., & Show, P. L. (2021). Microalgae for biofuels, wastewater treatment and environmental monitoring. *Environmental Chemistry Letters*, 19(4), 2891–2904. <https://doi.org/10.1007/s10311-021-01219-6>
- Peter, A. P., Tan, X., Lim, J. Y., Chew, K. W., Koyande, A. K., & Show, P. L. (2022). Environmental analysis of *Chlorella vulgaris* cultivation in large scale closed system under waste nutrient source. *Chemical Engineering Journal*, 433, 134254. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.134254>
- Petrides, D., Carmichael, D., Siletti, C., & Koulouris, A. (2014). Biopharmaceutical Process Optimization with Simulation and Scheduling Tools. In *Bioengineering* (Vol. 1, Issue 4). <https://doi.org/10.3390/bioengineering1040154>
- Poddar, N., Sen, R., & Martin, G. J. O. (2018). Glycerol and nitrate utilisation by marine microalgae *Nannochloropsis salina* and *Chlorella* sp. and associated bacteria during mixotrophic and heterotrophic growth. *Algal Research*, 33, 298–309. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.06.002>
- Prandini, J. M., da Silva, M. L. B., Mezzari, M. P., Pirolli, M., Michelon, W., & Soares, H. M. (2016). Enhancement of nutrient removal from swine wastewater digestate coupled to

- biogas purification by microalgae *Scenedesmus* spp. *Bioresource Technology*, 202, 67–75.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.11.082>
- Praveen, P., Guo, Y., Kang, H., Lefebvre, C., & Loh, K.-C. (2018). Enhancing microalgae cultivation in anaerobic digestate through nitrification. *Chemical Engineering Journal*, 354, 905–912. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.08.099>
- Preena, P. G., Rejish Kumar, V. J., & Singh, I. S. B. (2021). Nitrification and denitrification in recirculating aquaculture systems: the processes and players. *Reviews in Aquaculture*, 13(4), 2053–2075. <https://doi.org/10.1111/raq.12558>
- Qu, W., Zhang, C., Zhang, Y., & Ho, S.-H. (2019). Optimizing real swine wastewater treatment with maximum carbohydrate production by a newly isolated indigenous microalga *Parachlorella kessleri* QWY28. *Bioresource Technology*, 289, 121702.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121702>
- Quintero-Dallos, V., García-Martínez, J. B., Contreras-Ropero, J. E., Barajas-Solano, A. F., Barajas-Ferrerira, C., Lavecchia, R., & Zuorro, A. (2019). Vinasse as a Sustainable Medium for the Production of *Chlorella vulgaris* UTEX 1803. *Water*, 11.
<https://doi.org/10.3390/w11081526>
- Raghuvanshi, S., Bhakar, V., Chava, R., & Sangwan, K. S. (2018). Comparative Study Using Life Cycle Approach for the Biodiesel Production from Microalgae Grown in Wastewater and Fresh Water. *Procedia CIRP*, 69, 568–572. <https://doi.org/10.1016/j.procir.2017.11.030>
- Rajalakshmi, A. M., Silambarasan, T., & Dhandapani, R. (2021). Small scale photo bioreactor treatment of tannery wastewater, heavy metal biosorption and CO₂ sequestration using microalga *Chlorella* sp.: a biodegradation approach. *Applied Water Science*, 11(7), 108.
<https://doi.org/10.1007/s13201-021-01438-w>
- Rambabu, K., Banat, F., Pham, Q. M., Ho, S.-H., Ren, N.-Q., & Show, P. L. (2020). Biological remediation of acid mine drainage: Review of past trends and current outlook. *Environmental Science and Ecotechnology*, 2, 100024.
<https://doi.org/10.1016/j.ese.2020.100024>
- Rangel-Basto, Y. A., García-Ochoa, I. E., Suarez-Gelvez, J. H., Zuorro, A., Barajas-Solano, A. F., & Urbina-Suarez, N. A. (2018). The effect of temperature and enzyme concentration in the transesterification process of synthetic microalgae oil. *Chemical Engineering Transactions*, 64, 331–336. <https://doi.org/10.3303/CET1864056>

- Rani, A., Saini, K. C., Bast, F., Mehariya, S., Bhatia, S. K., Lavecchia, R., & Zuorro, A. (2021). Microorganisms: A potential source of bioactive molecules for antioxidant applications. *Molecules*, 26. <https://doi.org/10.3390/molecules26041142>
- Rasoul-Amini, S., Montazeri-Najafabady, N., Shaker, S., Safari, A., Kazemi, A., Mousavi, P., Mobasher, M. A., & Ghasemi, Y. (2014). Removal of nitrogen and phosphorus from wastewater using microalgae free cells in bath culture system. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 3(2), 126–131. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2013.09.003>
- Reddy, K., Renuka, N., Kumari, S., & Bux, F. (2021). Algae-mediated processes for the treatment of antiretroviral drugs in wastewater: Prospects and challenges. *Chemosphere*, 280, 130674. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130674>
- Rodríguez, P. D., Arce Bastias, F., & Arena, A. P. (2019). Modeling and environmental evaluation of a system linking a fishmeal facility with a microalgae plant within a circular economy context. *Sustainable Production and Consumption*, 20, 356–364. <https://doi.org/10.1016/j.spc.2019.08.007>
- Rosenzweig, C., N Tubiello, F., Sandalow, D., Benoit, P., & N Hayek, M. (2021). Finding and fixing food system emissions: the double helix of science and policy. *Environmental Research Letters*, 16(6), 61002. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/ac0134>
- Rossi, S., Pizzera, A., Bellucci, M., Marazzi, F., Mezzanotte, V., Parati, K., & Ficara, E. (2022). Piggery wastewater treatment with algae-bacteria consortia: Pilot-scale validation and techno-economic evaluation at farm level. *Bioresource Technology*, 351, 127051. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127051>
- Ruiz, J., Olivieri, G., De Vree, J., Bosma, R., Willems, P., Reith, J. H., Eppink, M. H. M., Kleinegris, D. M. M., Wijffels, R. H., & Barbosa, M. J. (2016). Towards industrial products from microalgae. *Energy and Environmental Science*, 9(10), 3036–3043. <https://doi.org/10.1039/c6ee01493c>
- Sahu, A. K., Siljudalen, J., Trydal, T., & Rusten, B. (2013). Utilisation of wastewater nutrients for microalgae growth for anaerobic co-digestion. *Journal of Environmental Management*, 122, 113–120. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2013.02.038>
- Sakarika, M., Koutra, E., Tsafrakidou, P., Terpou, A., & Kornaros, M. (2020). Chapter 20 - Microalgae-based Remediation of Wastewaters (A. B. T.-M. C. for B. P. Yousuf (ed.); pp. 317–335). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817536-1.00020-5>

- Sanchez, D., Houde, M., Douville, M., De Silva, A. O., Spencer, C., & Verreault, J. (2015). Transcriptional and cellular responses of the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* to perfluoroalkyl phosphonic acids. *Aquatic Toxicology*, 160, 31–38. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2014.12.002>
- Sanchez-Galvis, E. M., Cardenas-Gutierrez, I. Y., Contreras-Ropero, J. E., García-Martínez, J. B., Barajas-Solano, A. F., & Zuurro, A. (2020). An Innovative Low-Cost Equipment for Electro-Concentration of Microalgal Biomass. *Applied Sciences*, 10. <https://doi.org/10.3390/app10144841>
- Sarasini, F., Tirillò, J., Zuurro, A., Maffei, G., Lavecchia, R., Puglia, D., Dominici, F., Luzi, F., Valente, T., & Torre, L. (2018). Recycling coffee silverskin in sustainable composites based on a poly(butylene adipate-co-terephthalate)/poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) matrix. *Industrial Crops and Products*, 118, 311–320. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.03.070>
- Schade, S., & Meier, T. (2020). Distinct microalgae species for food—part 1: a methodological (top-down) approach for the life cycle assessment of microalgae cultivation in tubular photobioreactors. *Journal of Applied Phycology*, 32(5), 2977–2995. <https://doi.org/10.1007/s10811-020-02177-2>
- Schmidt, G., Espinos, F., Ruiz, F., Segarra, M., Mañanos, E., Muñoz, J. L., ... & Ojeda, J. (2011). Diversification in Aquaculture: A tool for sustainability. Madrid: Spanish Ministry of Environmental, Rural and Marine Affairs, Publications Centre.
- Schmidt, S., Raven, J. A., & Paungfoo-Lonhienne, C. (2013). The mixotrophic nature of photosynthetic plants. *Functional Plant Biology*, 40(5), 425–438. <https://doi.org/10.1071/FP13061>
- Schneider, R. de C. de S., de Moura Lima, M., Hoeltz, M., de Farias Neves, F., John, D. K., & de Azevedo, A. (2018). Life cycle assessment of microalgae production in a raceway pond with alternative culture media. *Algal Research*, 32, 280–292. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.04.012>
- Sfez, S., Van Den Hende, S., Taelman, S. E., De Meester, S., & Dewulf, J. (2015). Environmental sustainability assessment of a microalgae raceway pond treating aquaculture wastewater: From up-scaling to system integration. *Bioresource Technology*, 190, 321–331. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.04.088>

- Shen, H., Wang, Z., Zhou, A., Chen, J., Hu, M., Dong, X., & Xia, Q. (2015). Adsorption of phosphate onto amine functionalized nano-sized magnetic polymer adsorbents: mechanism and magnetic effects. *RSC Advances*, 5(28), 22080–22090. <https://doi.org/10.1039/C4RA14630A>
- Sills, D. L., van Doren, L. G., Beal, C., & Raynor, E. (2020). The effect of functional unit and co-product handling methods on life cycle assessment of an algal biorefinery. *Algal Research*, 46, 101770. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101770>
- Silva, N. F. P., Gonçalves, A. L., Moreira, F. C., Silva, T. F. C. V., Martins, F. G., Alvim-Ferraz, M. C. M., Boaventura, R. A. R., Vilar, V. J. P., & Pires, J. C. M. (2015). Towards sustainable microalgal biomass production by phycoremediation of a synthetic wastewater: A kinetic study. *Algal Research*, 11, 350–358. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.07.014>
- Solimeno, A., Parker, L., Lundquist, T., & García, J. (2017). Integral microalgae-bacteria model (BIO_ALGAE): Application to wastewater high rate algal ponds. *Science of The Total Environment*, 601–602, 646–657. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.05.215>
- Solovchenko, A., Verschoor, A. M., Jablonowski, N. D., & Nedbal, L. (2016). Phosphorus from wastewater to crops: An alternative path involving microalgae. *Biotechnology Advances*, 34(5), 550–564. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2016.01.002>
- Song, G., Zhao, X., Lv, L., Yuan, Q., Ma, Y., Bayer, L. B., Zhang, D., & Fullana-i-Palmer, P. (2022). Scenario analysis on optimal farmed-fish-species composition in China: A theoretical methodology to benefit wild-fishery stock, water conservation, economic and protein outputs under the context of climate change. *Science of The Total Environment*, 806, 150600. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150600>
- Spiliotopoulou, A., Rojas-Tirado, P. A., Chhetri, R. K., Kaarsholm, K. M. S., Martin, R., Pedersen, P. B., Pedersen, L-F., & Andersen, H. R. (2017). Optimum ozonation of freshwater pilot recirculating aquaculture system - Water quality. In A. J. T. Dalsgaard (Ed.), 4th NordicRAS Workshop on Recirculating Aquaculture Systems. Aalborg, Denmark, 12-13 October 2017: Book of Abstracts (pp. 48). Technical University of Denmark, National Institute for Aquatic Resources. DTU Aqua Report No. 321-17
- Spiliotopoulou, A., Rojas-Tirado, P., Chhetri, R. K., Kaarsholm, K. M. S., Martin, R., Pedersen, P. B., Pedersen, L-F., & Andersen, H. R. (2018). Ozonation control and effects of ozone on water quality in recirculating aquaculture systems. *Water Research*, 133, 289–298. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.01.032>

- Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E., & Isambert, A. (2006). Commercial applications of microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 101(2), 87–96.
<https://doi.org/10.1263/jbb.101.87>
- Su, Y. (2021). Revisiting carbon, nitrogen, and phosphorus metabolisms in microalgae for wastewater treatment. *Science of The Total Environment*, 762, 144590.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144590>
- Sun, J., Yang, L., Xiao, S., Chu, H., Jiang, S., Yu, Z., Zhou, X., & Zhang, Y. (2022). A promising microalgal wastewater cyclic cultivation technology: Dynamic simulations, economic viability, and environmental suitability. *Water Research*, 217, 118411.
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2022.118411>
- Sutherland, D. L., & Ralph, P. J. (2021). Differing growth responses in four related microalgal genera grown under autotrophic, mixotrophic and heterotrophic conditions. *Journal of Applied Phycology*, 33(6), 3539–3553. <https://doi.org/10.1007/s10811-021-02593-y>
- Tao, R., Kinnunen, V., Praveenkumar, R., Lakaniemi, A.-M., & Rintala, J. A. (2017). Comparison of *Scenedesmus acuminatus* and *Chlorella vulgaris* cultivation in liquid digestates from anaerobic digestion of pulp and paper industry and municipal wastewater treatment sludge. *Journal of Applied Phycology*, 29(6), 2845–2856.
<https://doi.org/10.1007/s10811-017-1175-6>
- Tejido-Nuñez, Y., Aymerich, E., Sancho, L., & Refardt, D. (2019). Treatment of aquaculture effluent with *Chlorella vulgaris* and *Tetradismus obliquus*: The effect of pretreatment on microalgae growth and nutrient removal efficiency. *Ecological Engineering*, 136, 1–9.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2019.05.021>
- Thielemann, A. K., Smetana, S., & Pleissner, D. (2021). Cultivation of the heterotrophic microalga *Galdieria sulphuraria* on food waste: A Life Cycle Assessment. *Bioresource Technology*, 340, 125637. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125637>
- Ubando, A. T., Anderson S. Ng, E., Chen, W.-H., Culaba, A. B., & Kwon, E. E. (2022). Life cycle assessment of microalgal biorefinery: A state-of-the-art review. *Bioresource Technology*, 360, 127615. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127615>
- UN (2015). Agua para un mundo sostenible. Datos y cifras. Informe de las Naciones Unidas sobre los recursos hídricos en el mundo. Word Water Assessment Programme, pp. 1-12.

- Urbina-Suarez, N. A., Barajas-Solano, A. F., Garcia-Martinez, J. B., Lopez-Barrera, G. L., & González-Delgado, A. D. (2022). Prospects for using wastewater from a farm for algae cultivation: The case of Eastern Colombia. *Journal of Water and Land Development*, No 52, 172–179. <http://journals.pan.pl/dlibra/publication/edition/122643>
- Van Den Hende, S., Beelen, V., Bore, G., Boon, N., & Vervaeren, H. (2014). Up-scaling aquaculture wastewater treatment by microalgal bacterial flocs: From lab reactors to an outdoor raceway pond. *Bioresource Technology*, 159, 342–354. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.02.113>
- Vargas-Estrada, L., Longoria, A., Okoye, P. U., & Sebastian, P. J. (2021). Energy and nutrients recovery from wastewater cultivated microalgae: Assessment of the impact of wastewater dilution on biogas yield. *Bioresource Technology*, 341, 125755. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125755>
- Verdegem, M. C. J., & Bosma, R. H. (2009). Water withdrawal for brackish and inland aquaculture, and options to produce more fish in ponds with present water use. *Water Policy*, 11(S1), 52–68. <https://doi.org/10.2166/wp.2009.003>
- Verma, R., & Srivastava, A. (2018). Carbon dioxide sequestration and its enhanced utilization by photoautotroph microalgae. *Environmental Development*, 27, 95–106. <https://doi.org/10.1016/j.envdev.2018.07.004>
- Viegas, C., Gouveia, L., & Gonçalves, M. (2021). Aquaculture wastewater treatment through microalgal. Biomass potential applications on animal feed, agriculture, and energy. *Journal of Environmental Management*, 286, 112187. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112187>
- Villar-Navarro, E., Garrido-Pérez, C., & Perales, J. A. (2021). Recycling “waste” nutrients back into RAS and FTS marine aquaculture facilities from the perspective of the circular economy. *Science of The Total Environment*, 762, 143057. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143057>
- Walsh, M. J., Gerber Van Doren, L., Shete, N., Prakash, A., & Salim, U. (2018). Financial tradeoffs of energy and food uses of algal biomass under stochastic conditions. *Applied Energy*, 210, 591–603. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2017.08.060>

- Wan, J., Gu, J., Zhao, Q., & Liu, Y. (2016). COD capture: a feasible option towards energy self-sufficient domestic wastewater treatment. *Scientific Reports*, 6(1), 25054.
<https://doi.org/10.1038/srep25054>
- Wang, C., Jiang, C., Gao, T., Peng, X., Ma, S., Sun, Q., Xia, B., Xie, X., Bai, Z., Xu, S., & Zhuang, X. (2022). Improvement of fish production and water quality in a recirculating aquaculture pond enhanced with bacteria-microalgae association. *Aquaculture*, 547, 737420.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737420>
- Wang, J., Wang, X., Yu, Z., Huang, S., Yao, D., Xiao, J., Chen, W., Wang, Z., & Zan, F. (2022). Using algae bacteria consortia to effectively treat coking wastewater: Performance, microbial community, and mechanism. *Journal of Cleaner Production*, 334, 130269.
<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.130269>
- Wang, T., Yabar, H., & Higano, Y. (2013). Perspective assessment of algae-based biofuel production using recycled nutrient sources: The case of Japan. *Bioresource Technology*, 128, 688–696. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.102>
- Water, U. N. (2015). *Wastewater management-A UN-water analytical brief*. New York.
- Wernet, G., Bauer, C., Steubing, B., Reinhard, J., Moreno-Ruiz, E., & Weidema, B. (2016). The ecoinvent database version 3 (part I): overview and methodology. *The International Journal of Life Cycle Assessment*, 21(9), 1218–1230. <https://doi.org/10.1007/s11367-016-1087-8>
- Whitton, R., Ometto, F., Pidou, M., Jarvis, P., Villa, R., & Jefferson, B. (2015). Microalgae for municipal wastewater nutrient remediation: mechanisms, reactors and outlook for tertiary treatment. *Environmental Technology Reviews*, 4(1), 133–148.
<https://doi.org/10.1080/21622515.2015.1105308>
- Wicker, R., & Bhatnagar, A. (2020). Application of Nordic microalgal-bacterial consortia for nutrient removal from wastewater. *Chemical Engineering Journal*, 398, 125567.
<https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.125567>
- Wu, X., Wu, H., Zhang, A., Sekou, K., Li, Z., & Ye, J. (2022). Influence of polystyrene microplastics on levofloxacin removal by microalgae from freshwater aquaculture wastewater. *Journal of Environmental Management*, 301, 113865.
<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113865>

- Wuang, S. C., Khin, M. C., Chua, P. Q. D., & Luo, Y. D. (2016). Use of *Spirulina* biomass produced from treatment of aquaculture wastewater as agricultural fertilizers. *Algal Research*, 15, 59–64. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.02.009>
- Yadav, G., Dubey, B. K., & Sen, R. (2020). A comparative life cycle assessment of microalgae production by CO₂ sequestration from flue gas in outdoor raceway ponds under batch and semi-continuous regime. *Journal of Cleaner Production*, 258, 120703. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.120703>
- Yellapu, S. K., Klai, N., Kaur, R., Tyagi, R. D., & Surampalli, R. Y. (2019). Oleaginous yeast biomass flocculation using bioflocculant produced in wastewater sludge and transesterification using petroleum diesel as a co-solvent. *Renewable Energy*, 131, 217–228. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2018.06.066>
- Yin, F.-W., Zhang, Y.-T., Jiang, J.-Y., Guo, D.-S., Gao, S., & Gao, Z. (2019). Efficient docosahexaenoic acid production by *Schizochytrium* sp. via a two-phase pH control strategy using ammonia and citric acid as pH regulators. *Process Biochemistry*, 77, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2018.11.013>
- Yue, K., & Shen, Y. (2021). An overview of disruptive technologies for aquaculture. *Aquaculture and Fisheries*. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2021.04.009>
- Zhao, X., Meng, X., Liu, Y., Bai, S., Li, B., Li, H., Hou, N., & Li, C. (2022). Single-cell sorting of microalgae and identification of optimal conditions by using response surface methodology coupled with life-cycle approaches. *Science of The Total Environment*, 832, 155061. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155061>
- Zhu, B., Wei, D., & Pohnert, G. (2022). The thermoacidophilic red alga *Galdieria sulphuraria* is a highly efficient cell factory for ammonium recovery from ultrahigh-NH₄⁺ industrial effluent with co-production of high-protein biomass by photo-fermentation. *Chemical Engineering Journal*, 438, 135598. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.135598>
- Zhu, L., Li, S., Hu, T., Nugroho, Y. K., Yin, Z., Hu, D., Chu, R., Mo, F., Liu, C., & Hiltunen, E. (2019). Effects of nitrogen source heterogeneity on nutrient removal and biodiesel production of mono- and mix-cultured microalgae. *Energy Conversion and Management*, 201, 112144. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2019.112144>
- Zuorro, A. (2015). Optimization of polyphenol recovery from espresso coffee residues using factorial design and response surface methodology. *Separation and Purification Technology*, 152, 64–69. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2015.08.016>

Zuorro, A. (2021). Water Activity Prediction in Sugar and Polyol Systems Using Theoretical Molecular Descriptors. *International Journal of Molecular Sciences*, 22.

<https://doi.org/10.3390/ijms222011044>

Zuorro, A., García-Martínez, J. B., & Barajas-Solano, A. F. (2021). The Application of Catalytic Processes on the Production of Algae-Based Biofuels: A Review. *Catalysts*, 11.

<https://doi.org/10.3390/catal11010022>

Zuorro, A., Iannone, A., Natali, S., & Lavecchia, R. (2019). Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Bilberry and Red Currant Waste Extracts. *Processes* 7-

<https://doi.org/10.3390/pr7040193>

Zuorro, A., Leal-Jerez, A. G., Morales-Rivas, L. K., Mogollón-Londoño, S. O., Sanchez-Galvis, E. M., García-Martínez, J. B., & Barajas-Solano, A. F. (2021). Enhancement of Phycobiliprotein Accumulation in Thermotolerant *Oscillatoria* sp. through Media Optimization. *ACS Omega*, 6(16), 10527–10536.

<https://doi.org/10.1021/acsomega.0c04665>

Zuorro, A., Malavasi, V., Cao, G., & Lavecchia, R. (2019). Use of cell wall degrading enzymes to improve the recovery of lipids from *Chlorella sorokiniana*. *Chemical Engineering Journal*, 377, 120325. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.11.023>