

Evaluation of Contaminant Removal from Domestic Wastewater Using Microalgae Cultivated in Photobioreactors (PBR) Supplied with CO₂ and Compressed Air

Lalo Monzón Martínez¹ 

¹ Universidad Tecnológica del Perú, Perú, c27210@utp.edu.pe

Abstract– This study aimed to evaluate the removal of contaminants (COD, nitrogen, and phosphorus) through the use of microalgae cultivated in photobioreactors (PBR). The research was conducted using four pilot-scale PBRs inoculated with a microalgal concentrate (*Scenedesmus almeriensis*) at a concentration of 1 g/L. The PBRs were supplied with CO₂ and compressed air to determine whether CO₂ influences microalgal growth by enhancing nutrient assimilation. The quality of domestic wastewater was assessed through parameters such as pH, temperature, total suspended solids (TSS), chemical oxygen demand (COD), total organic carbon (TOC), total nitrogen, and total phosphorus. The experimental setup for the four PBRs was as follows: PBR 1: 100% wastewater, microalgal inoculum, compressed air, and CO₂; PBR 2: 70% wastewater, 30% dilution water, microalgal inoculum, compressed air, and CO₂; PBR 3: 70% wastewater, 30% dilution water, microalgal inoculum, and compressed air and PBR 4: 100% wastewater, microalgal inoculum, and compressed air. The results demonstrated that nutrient removal efficiency in all four PBRs was optimal, exceeding 90% for total nitrogen and total phosphorus. The highest removal rates were observed in PBR 1, achieving 92% nitrogen and 96% phosphorus removal. In conclusion, microalgae exhibit significant phycoremediation activity, presenting an eco-friendly technology with great potential for further research due to the vast diversity of microalgal species.

Keywords-- Microalgae, cultivation, biomass, nutrients, wastewater

EVALUACIÓN DE LA REMOCIÓN DE CONTAMINANTES DE AGUAS RESIDUALES FECALES UTILIZANDO MICROALGAS CULTIVADAS EN FOTOBIOREACTORES (FBR) ALIMENTADOS CON CO₂ Y AIRE COMPRIMIDO

Lalo Monzón Martínez¹ 

¹ Universidad Tecnológica del Perú, Perú, c27210@utp.edu.pe

Resumen– La presente investigación tuvo como objetivo evaluar la depuración de contaminantes (DQO, N y P) mediante el uso de Microalgas cultivadas en FBR. En la investigación se trabajó con 4 Fotobioreactores (FBR) de escala piloto, en los cuales se inoculó un concentrado de microalgas (*Scenedesmus Almeriensis*) de concentración de 1g/L. Dichos FBR se les suministró CO₂ y Aire Comprimido para determinar si CO₂ influye en el crecimiento microalgal mediante el aprovechamiento la asimilación de nutrientes. Se determinó la calidad de agua residual doméstica determinando parámetros como pH, temperatura, SST, DQO, TOC, Nitrógeno total y fósforo total. Posteriormente, se determinó la configuración en los 4 FBR's: FBR 1: Agua residual 100%, Inóculo de microalga, Aire comprimido y CO₂; FBR 2: Agua residual 70%, Agua de dilución 30%, Inóculo de microalga, Aire comprimido y CO₂; FBR 3: Agua residual 70%, Agua de dilución 30%, Inóculo de microalga y Aire comprimido y FBR 4: Agua residual 100%, Inóculo de microalga y Aire comprimido. Los resultados mostraron que la remoción de nutrientes en los 4 FBR's fue óptima superando el 90% en los parámetros de Nitrógeno Total y Fósforo Total, obteniendo la mayor depuración en el FBR 1 con 92% y 96% respectivamente. Finalmente, se puede concluir que las microalgas poseen actividad ficoremediadora siendo una tecnología ecoamigable con potencial de ser investigado por la gran diversidad de especies.

Palabras clave– Microalgas, cultivo, biomasa, nutrientes, aguas residuales

I. INTRODUCCIÓN

En el Perú, de acuerdo al informe de Fiscalización Ambiental en Aguas Residuales del Organismo de Evaluación y fiscalización Ambiental (OEFA) [1], indica que de las 50 EPS de saneamiento que brindan el servicio de alcantarillado, sólo brinda cobertura al 69.65% de la población urbana, donde la población no cubierta vierte directamente al mar, ríos, lagos, quebradas o las emplean para el riego de cultivos. Esto genera

problemas ambientales como la contaminación de los cuerpos de agua y la generación de malos olores que causan conflictos con la población. Es por ello que la contaminación de los cuerpos de agua naturales se ven afectados por la inadecuada disposición de aguas residuales sin tratamiento alguno [1].

Cabe mencionar que, en el Perú, se han vertido aguas residuales domésticas sin tratamiento alguno, en el año 2016 aproximadamente 300 millones de metros cúbicos, donde solo en la ciudad de Arequipa se vertieron aproximadamente 32 millones de metros cúbicos, siendo esto una gran problemática para los recursos hídricos del país [2].

Es por ello que la contaminación de los cuerpos de agua (ríos, lagos, lagunas) se debe a la eutrofización, la cual es causada por la liberación de compuestos orgánicos e inorgánicos al medio con concentraciones de nitrógeno y fósforo que pueden alcanzar hasta 3 veces o más de lo normal, provienen de las aguas no tratadas liberadas a los cuerpos de agua [3].

Las microalgas son organismos unicelulares, eucariotas fotosintéticos que tienen la capacidad de transformar la energía luminosa en energía química, dichas microalgas utilizan la luz como energía y CO₂ como fuente de carbono. Estas características les confieren un rol importante como productores primarios de la red trófica, capaces de generar biomasa orgánica a partir del CO₂ y luz [4].

En este contexto, los cultivos de microalgas adquieren un gran protagonismo, al ser considerados eco-amigables, ya que reciclan eficientemente contaminantes desde medios líquidos (nutrientes) y gaseosos (CO₂) incorporándolos a su metabolismo para generación de biomasa [5,6], por lo que se propone utilizar dichas microalgas para el tratamiento de las aguas residuales provenientes de servicios higiénicos para prevenir la contaminación mediante el aprovechamiento de nitrógeno y fósforo.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Microalgas

Scenedesmus almeriensis fue la especie predominante de microalga que se utilizó, la cual fue obtenida de fotobiorreactores (FBR) a escala piloto pertenecientes al viñedo Miguel Torres S.A. De dichos reactores se recolectaron 1.5 L, se determinó el peso seco de dichas muestras obteniendo 1.02 g L^{-1} , para luego ser centrifugados a 4000 rpm, para concentrar la microalga y eliminar el medio sintético en exceso. Finalmente se obtuvo un volumen de 36 ml de microalga concentrada.

B. Medio de Cultivo

El medio de cultivo sintético enriquecido que se utiliza para el crecimiento de la microalga en los FBR a escala piloto contiene la siguiente composición: $0.5 \text{ g L}^{-1} \text{ NaHCO}_3$, $0.1 \text{ g L}^{-1} \text{ KH}_2\text{PO}_4$, $0.6 \text{ g L}^{-1} \text{ MgSO}_4$, $1 \text{ g L}^{-1} \text{ KNO}_3$, $0.2 \text{ g L}^{-1} \text{ CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.04 g L^{-1} macronutrientes, todos los compuestos usados tienen grado analítico. Estos compuestos son provistos por AGRI nova Science, S.A.

El CO_2 utilizado proviene de bombonas de 20 kg de CO_2 provista por Carburos Metálicos (Grupo Air Products) y el aire de compresores de aire.

C. Agua residual fecal

Se recolectaron 40 L de agua residual fecal proveniente de los tanques sedimentadores de la EDAR de viñedos Miguel Torres S.A., a la cual llegan los efluentes de los baños de las instalaciones y agua proveniente de laboratorios. Se utilizó una bomba sumergible para extraer el agua residual evitando los sólidos gruesos. Se realizaron pruebas analíticas como pH, Sólidos Suspendidos Totales (SST), Demanda Química de Oxígeno (DQO), Carbono Orgánico Total (TOC), Nitrógeno total y fósforo total (Tabla 1).

D. Agua de pozo

Se recolectó agua de pozo para realizar la dilución (70%) correspondiente en el FBR 2 y FBR3. Dicha agua se recolectó directamente de una toma de agua ubicada en el invernadero de viñedos Miguel Torres S.A. Se utilizó una manguera con un medidor de caudal para proporcionar un volumen preciso.

Se realizaron pruebas analíticas como pH, Sólidos Suspendidos Totales (SST), Demanda Química de Oxígeno (DQO), Carbono Orgánico Total (TOC), Nitrógeno total y fósforo total (Tabla I).

E. Fotobiorreactores semiabiertos

Se montaron 4 fotobiorreactores (FBR1, FBR2, FBR3 y FBR4) semiabiertos de poliacrilato con un volumen útil de 9 L con posibilidad de inyección de aire y CO_2 , donde la concentración inicial de biomasa de microalga fue de 0.26 g L^{-1} para cada FBR semiabierto.

A continuación, se describe la configuración de cada FBR semieabierto:

FBR 1: Agua residual 100% + Inóculo de microalga 0.2% del volumen total + Aire comprimido + CO_2

Parámetro	Unidad	Agua de pozo	Agua residual fecal	Agua Residual Diluida 70%
pH		7.2	6.8	6.8
T	$^{\circ}\text{C}$	18.2	22.3	23.5
SST	mg L^{-1}	1.0	107.5	92.5
DQO	$\text{mg O}_2\text{L}^{-1}$	5.0	403	314
TOC	mg C L^{-1}	0.0	108.4	81.5
N total	mg N L^{-1}	38.2	53.2	55.6
P total	mg P L^{-1}	0.01	8.14	6.0

- FBR 2: Agua residual 70%+Agua de pozo 30%+Inóculo de microalga 0.2% del volumen total+Aire comprimido + CO_2
- FBR 3: Agua residual 70% + Agua de pozo 30% + Inóculo de microalga 0.2% del volumen total + Aire comprimido
- FBR 4: Agua residual 100% + Inóculo de microalga + Aire comprimido 0.2% del volumen total

Los FBR 1 y FBR 2 fueron alimentados con CO_2 proveniente de una bombona localizada en el invernadero de Miguel Torres S.A., siendo la tasa de flujo de 2 L h^{-1} , activándose el mecanismo automático por 15 min de flujo continuo, donde terminando el tiempo, se activaría nuevamente al inicio de cada hora. Esto en el periodo de 8 a 17 horas de cada día. Los FBR 3 y FBR 4 no tienen la inyección de CO_2 .



Fig. 1 Fotobiorreactores semiabiertos alimentados con agua residual fecal

F. Métodos analíticos

-Densidad óptica (DO): se mide la DO de las muestras a una longitud de onda de 680 mediante un espectrofotómetro (Lambda XLS-PerkElmer), para determinar la curva de crecimiento de las microalgas.

TABLA I
CARACTERIZACIÓN DE AGUAS

-Sólidos en suspensión totales (SST): se filtran las muestras con filtros de microfibras de vidrio sin ligantes de diámetro 55mm 1,2 micras (Whatman Int. Ltd.), y se secan a 105 °C durante 24 horas [25].

-Demanda Química de Oxígeno: se utilizan kits analíticos de DQO (método fotométrico 5.0 - 80.0 mg/l Spectroquant®) [25], este análisis lo realizó el personal de laboratorio de microbiología de la empresa Miguel Torres S.A.

-Carbono Orgánico total (TOC): El parámetro TOC fue determinado en un equipo semiautomático usando una oxidación catalítica a alta temperatura (Shimadzu TOC 4100).

-Nitrógeno total (Ntotal): Se utiliza el kit analítico de Nitrógeno total (Método fotométrico, DMP 0.5 - 15.0 mg L- N Spectroquant®, 100613) y para la medición se utilizó un espectrofotómetro (Spectroquant Nova 60).

-Fósforo Total (Ptotal): Se utiliza el kit analítico de Fósforo total (método fotométrico, PMB 0.05 - 5.00 mg L- PO₄-P 0.2 - 15.3 mg L-PO₄³⁻ 0.11 - 11.46 mg L- P₂O₅ Spectroquant®, 114543) y para la medición se utilizó un espectrofotómetro (Spectroquant Nova 60).

-pH y temperatura: se miden en un pHmetro con sensor de temperatura (pH metro SensION TM) el cual es calibrado antes de su uso mediante el uso de patrones de calibración en los 3 rangos de pH 4, 7 y 11.

Las suspensiones de microalgas provenientes de los FBR's semiabiertos fueron analizadas cada 3 días, siendo los parámetros analizados temperatura, pH y Sólidos Suspendidos Totales (SST).

Los parámetros de Demanda Química de Oxígeno (DQO), Carbono Orgánico Total (TOC), Nitrógeno total (Ntotal) y Fósforo total (Ptotal) se determinaron en el día 0, día 7 y día 14. Los análisis de TOC, Ntotal y Ptotal fueron realizados en las instalaciones de la EDAR de Miguel Torres S.A. .

Los parámetros de DOQ, TOC, Ntotal, Ptotal y SST son expresados en mg L-1

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Crecimiento de las microalgas en los FBR's semiabiertos

Los 4 fotobioreactores fueron inoculados con el concentrado de microalgas tal como se explicó en materiales y métodos. Se hizo el seguimiento de su crecimiento mediante densidad óptica (DO) a una longitud de onda de 680 nm. Obteniendo la curva de crecimiento de las microalgas [29] (Figura 2).

Se observa en la Figura 2 el crecimiento microalgal en las diferentes fases de crecimiento, las cuales son la fase de latencia, exponencial, estacionaria y declive. El proceso duró 14 días. El FBR 1 y FBR 2 presentan un comportamiento similar durante su crecimiento, ambos alcanzan más rápido la fase estacionaria en comparación a los otros FBR's, siendo el crecimiento ligeramente superior en el FBR 2, debido a que al estar diluido con agua de pozo, la competencia por el alimento y disponibilidad de nutrientes es favorable para las microalgas, debido a que hay menos microorganismos en el medio.

Además, en ambos FBR's al ser alimentado con CO₂, el crecimiento mixotrófico [30] se ve favorecido, por lo que acelera el crecimiento de las microalgas y la eliminación de nutrientes. Una vez agotados el alimento y nutrientes la fase de declive es mayor que en el FBR 1. (Figura 2).

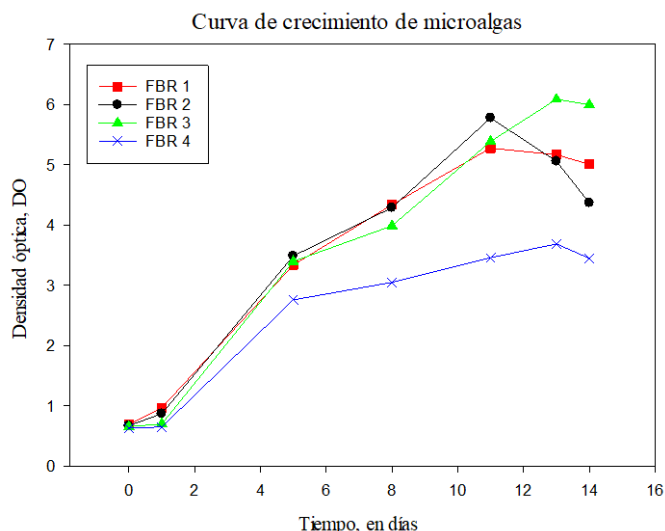


Fig. 2: Curva de crecimiento microalgas en los FBR 1, 2, 3 y 4

El FBR 3 es el que presenta mayor crecimiento de microalgas de todos los FBR's debido a la dilución aplicada en este FBR, ocurre lo mismo que en el FBR 2, existe menos competencia por el alimento y al no tener una fuente de carbono adicional, como en el FBR 1 y el FBR 2, el crecimiento es más lento alargando la fase exponencial, siendo esta la razón de por qué los FBR 1 y FBR 2 tienen una fase exponencial más rápida. (Figura 2). El FBR 4 es el que tiene menor crecimiento microalgal, esto se debe a que tanto la fuente de carbono y nutrientes se agotaron más rápido en comparación a los demás FBR's semiabiertos, además al no estar diluido como el FBR 2 y FBR3, ocasiona una competencia de alimentos con los microorganismos aerobios presentes en el agua residual, dichos microorganismos al igual que las microalgas utilizan dichos compuestos para su crecimiento y replicación. (Figura 2). El FBR 4 es el que tiene menor crecimiento microalgal esto se debe a que tanto la fuente de carbono y nutrientes se agotaron más rápido en comparación a los demás FBR's semiabiertos, además al no estar diluido como el FBR 2 y FBR3, ocasiona una competencia de alimentos con los microorganismos aerobios presentes en el agua residual, dichos microorganismos al igual que las microalgas utilizan dichos compuestos para su crecimiento y replicación.

Reducción materia orgánica y eliminación de nutrientes

Durante el crecimiento se tomaron muestras en los días 0, 7 y 14 para determinar la calidad del agua y la eliminación de nutrientes. Obteniendo los resultados que se muestran en las

Tablas 2 y 3. Se observa en la Tabla 3 que hay una disminución importante en todos los parámetros. En cuanto a los SST, el FBR 3 obtuvo el mayor porcentaje de eliminación con 73%. Respecto a la DQO y el TOC el FBR4 obtuvo un 66% y 72% de eliminación respectivamente. En cuanto a la eliminación de nutrientes todos los FBR obtuvieron resultados significativos de eliminación de materia orgánica superando el 90% de eliminación, exceptuando el FBR 1 en eliminación de N total (86%)

TABLA II

ANÁLISIS DE CALIDAD DE AGUA PROVENIENTE DE LOS FBR 1 2 3 & 4

	Parámetros (mg L ⁻¹)	FBR 1	FBR 2	FBR 3	FBR 4
Dia 0	SST	107.5	92.5	92.5	107.5
	DQO	403.0	314.0	314.0	403.0
	TOC	108.4	81.5	81.5	108.4
	N total	55.8	53.2	53.2	55.8
	P total	8.1	6.0	6.0	8.1
Dia 7	SST	45.0	25.0	20.0	20.0
	DQO	208.9	165.0	158.1	197.5
	TOC	52.0	36.9	44.7	31.6
	N total	8.2	5.8	7.4	7.0
	P total	0.9	0.5	0.8	0.6
Dia 14	SST	50.0	20.0	25.0	35.0
	DQO	184.0	133.0	110.0	139.0
	TOC	42.7	26.1	34.1	29.8
	N total	7.8	4.2	4.8	5.8
	P total	0.5	0.3	0.3	0.4

En las Figuras 3, 4, 5 y 6 se muestran la eliminación de DQO, TOC, Nitrógeno total y Fósforo total durante los 14 días de experimentación. En la Figura 3 y 4 la eliminación de materia orgánica no es tan efectiva como la eliminación de nutrientes (Figura 5 y 6), esto debido a varios factores. Uno de ellos, es que las microalgas secretan materia orgánica extracelular luego que el nitrógeno ha sido consumido significativamente [31,32]. Esto ocasiona que la materia orgánica en el medio acuoso se incremente, ocasionando que la eficiencia de eliminación de materia orgánica disminuya. Además, la limitación de nitrógeno es ocasionada por el consumo de carbono de las microalgas para su crecimiento. Es decir, existen dos formas de crecimiento de microalgas por consumo de carbón. Primero, el crecimiento heterotrófico (consumo de carbón orgánico), el cual se da durante la noche y el crecimiento mixotrófico (consumo de carbón orgánico y carbón inorgánico (CO₂)), el

cual se da durante el día [30]. En este último, las microalgas obtienen energía adicional por la asimilación de carbón por fotones de luz, lo que permite a las microalgas consumir más rápido los nutrientes [33,34].

TABLA III

PORCENTAJE DE ELIMINACIÓN DE PARÁMETROS DE CALIDAD DEL AGUA

Parámetros	FBR 1	FBR 2	FBR 3	FBR 4
SST	53%	78%	73%	67%
DQO	54%	58%	65%	66%
TOC	61%	68%	58%	72%
N total	86%	92%	91%	90%
P total	94%	96%	94%	95%

En la Figura 3 y 4, los FBR 1 y 2 al ser alimentados con CO₂ se ve favorecido el crecimiento mixotrófico lo que ocasiona que el consumo de nutrientes sea elevado pero a su vez provoca el incremento de materia orgánica por la segregación de sustancias orgánicas extracelulares. El FBR 4 es el que tuvo mejores resultados en cuanto a la eliminación de DQO y TOC, 66% y 72% respectivamente, debido a que existe un mejor balance de disponibilidad de nutrientes, al no estar diluido con agua de pozo y alimentado con CO₂ como el FBR 2 y el FBR 3, las microalgas no crecen tan rápido, lo que ocasiona que los microorganismos aeróbicos crezcan adecuadamente y ayuden al proceso de depuración, esto se confirma debido a que el FBR 4 es el que tuvo menor crecimiento de microalgas (Figura 2). Cabe mencionar que las microalgas proporcionan oxígeno a las bacterias aeróbicas, las cuales lo utilizan para estabilizar la materia orgánica [6].

En las figuras 5 y 6 muestran la eliminación de nutrientes, donde se observa que en todos los FBR's semiabierto la eliminación es efectiva, esto se debe a que las microalgas requieren gran cantidad de nitrógeno y fósforo para la síntesis de proteínas, nucleótidos, ácido nucleico y síntesis de fosfolípidos para su crecimiento [9,35]. Siendo el nitrógeno el nutriente más importante para las microalgas [36,37]. Cuando existe un déficit de nitrógeno la regulación del contenido lipídico se ve alterada, ocasionando un incremento en la acumulación de lípidos, lo que reduce el crecimiento de las microalgas [38,39,40].

En cuanto al fósforo es importante en procesos celulares como la formación de ácidos nucleicos y transferencia de energía. Si bien es cierto el contenido de fósforo en las microalgas es menor al 1% su deficiencia limita el crecimiento [36,37].

El suministro de CO₂ en el FBR 2 y FBR 3 tiene una ligera influencia en cuanto a la eliminación de nutrientes, debido a que satura el medio con CO₂ lo que favorece el crecimiento mixotrófico de las microalgas, lo que activa el consumo

acelerado de nutrientes [30]. Se puede observar que la eliminación de nutrientes se da en gran medida en el día 7 en todos los FBR's semiabierto, demostrando que el consumo de nutrientes por las microalgas es elevada. Cabe mencionar que no todo el nitrógeno y fósforo son asimilados completamente por las microalgas, debido a que existe también procesos abióticos (conversión de amonio a amoníaco o precipitación de fósforo), dichos procesos ocurren cuando el pH se encuentra por encima de 9 [41].

Se observa que la eliminación de materia orgánica y nutrientes se da en gran medida en el día 7, indicando que las microalgas en su fase exponencial tienen la máxima capacidad ficoremediadora importante, haciéndola apta para su implementación en sistemas que requieran eliminación de nutrientes.

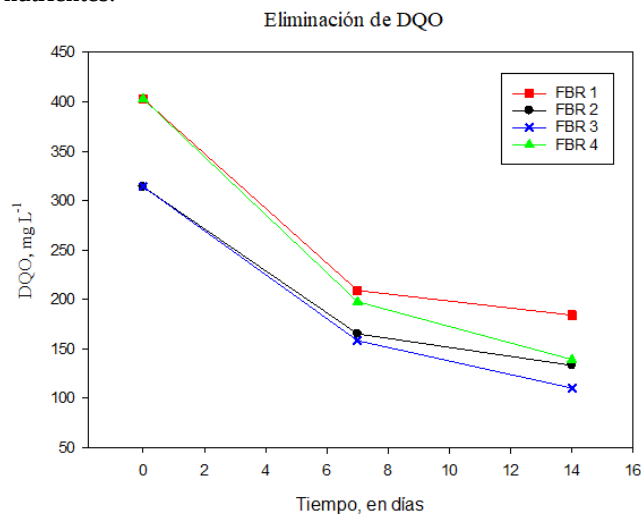


Fig. 3 Eliminación de DQO en los diferentes FBR durante un periodo de 14 días

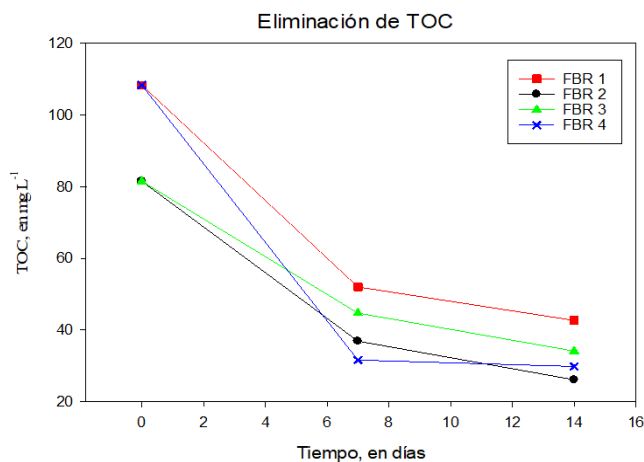


Fig. 4 Eliminación de TOC en los diferentes FBR durante un periodo de 14 días

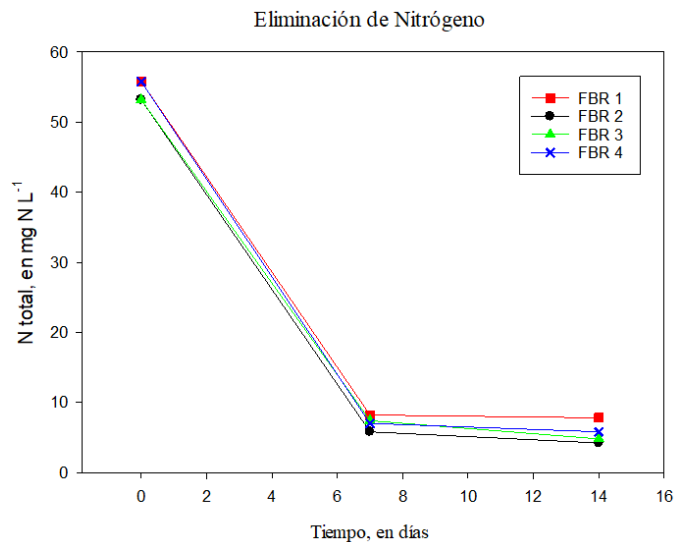


Fig. 5 Eliminación de N total en los diferentes FBR durante un periodo de 14 días

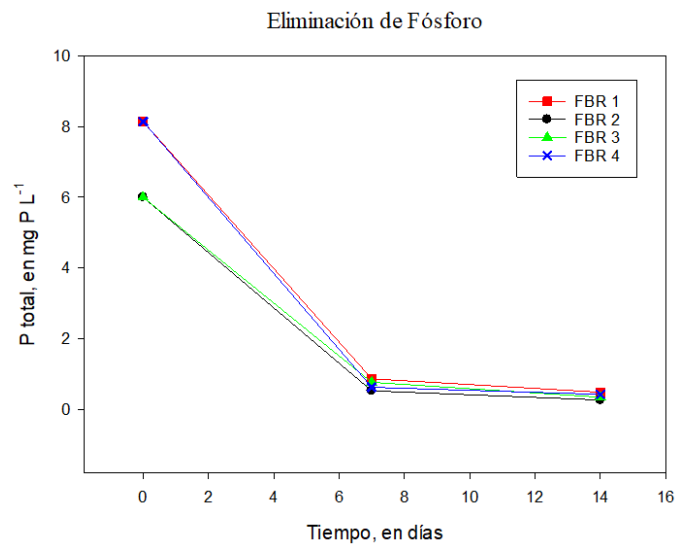


Fig. 6: Eliminación de P total en los diferentes FBR durante un periodo de 14 días. ALGUNOS ERRORES COMUNES

CONCLUSIÓN

La investigación demostró que el uso de microalgas cultivadas en fotobiorreactores (PBR) es una tecnología efectiva para la depuración de aguas residuales, alcanzando más del 90% de remoción en los parámetros de nitrógeno total y fósforo total. Se observó que la adición de CO_2 en los PBRs favoreció la asimilación de nutrientes, promoviendo un mayor crecimiento de la biomasa microalgal y mejorando la eficiencia en la remoción de contaminantes. Entre las distintas configuraciones evaluadas, el PBR 1 (100% agua residual con microalgas, aire comprimido y CO_2) presentó la mayor eficiencia de remoción,

alcanzando 92% de nitrógeno y 96% de fósforo, lo que sugiere que un mayor contenido de agua residual junto con el suministro de CO₂ optimiza el proceso de depuración. La utilización de microalgas como agentes ficoremediadores representa una alternativa ecológica y sustentable para el tratamiento de aguas residuales, con el beneficio adicional de generar biomasa aprovechable para otros fines, como biofertilizantes o biocombustibles.

AGRADECIMIENTO/RECONOCIMIENTO

En esta sección puede agradecer a las personas e instituciones que contribuyeron con el desarrollo del Se agradece al soporte técnico proporcionado por los técnicos de Miguel Torres, soporte logístico proporcionado por Inédit Innovació SLy la orientación por parte de los tutores Paqui Blanquez Cano y Teresa Vicent de la Universidad Autónoma de Barcelona (UAB)

REFERENCIAS

- [1] OEFA. (2014). Fiscalización Ambiental en Aguas Residuales. Lima.
- [2] SINIA. (2016). Indicador: Descargas de aguas residuales domésticas sin tratamiento. Obtenido de Sistema Nacional de Información Ambiental.
- [3] Lavoie A & J de la Noüe. 1985. Hyperconcentrated cultures of *Scenedesmus obliquus*: A new approach of wastewater biological tertiary treatment? *Water Research* 19(11): 1437- 1442.
- [4] Abalde, J. y Herrero, C. 2004. Microalgas en acuicultura: calidad nutricional. *ALGAS* 32 Diciembre de 2004. 40pp: p 16-18.
- [5] Olguín EJ. 2003. Phycoremediation: key issues for costeffective nutrient removal processes. *Biotechnology Advances* 22: 81-91.
- [6] Markou G & D Georgakakis. 2011. Cultivation of filamentous cyanobacteria (blue-green algae) in agro-industrial wastes and wastewaters: A review. *Applied Energy* 88: 3389-3401.
- [7] Lee, Yuan-Kun & Shen, Hui. 2004. Basic culturing techniques. In *Handbook of microalgal culture: Biotechnology and Applied Phycology*. (Ed. Amos Richmond) Blackwell Publishing Ltd. 40-56.
- [8] Travieso, L., Benítez, F., Sánchez, E., Borja, R., Martín, A., Colmenarejo, M.F., 2006. Batch mixed culture of *Chlorella vulgaris* using settled and diluted piggery waste. *Ecol. Eng.* 8, 158-165. doi:10.1016/j.ecoleng.2006.06.001.
- [9] Rawat I, R Ranjith-Kumar, T Mutanda & F Bux. 2011. Dual role of microalgae: Phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production. *Applied Energy* 88: 3411-3424.
- [10] Riaño, B., Molinuevo, B., García-González, M.C., 2011. Treatment of fish processing wastewater with microalgae-containing microbiota. *Bioresour. Technol.* 102, 10829-10833. doi:10.1016/j.biortech.2011.09.022
- [11] Grobbelaar JU. 2004. Algal nutrition: mineral nutrition. In: Richmond A (ed). *Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phycology*, pp. 97-115. Blackwell Science, Iowa.
- [12] Martínez L. 2008. Eliminación de CO₂ con microalgas autóctonas. Tesis Doctoral, Instituto de Recursos Naturales, Universidad de León, León, 226 pp.
- [13] Park J, R Craggs & A Shilton. 2011a. Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. *Bioresour. Technol.* 102: 35-42.
- [14] Ho S-H, C-Y Chen & J-S Chang. 2012. Effect of light intensity and nitrogen starvation on CO₂ fixation and lipid/carbohydrate production of an indigenous microalga *Scenedesmus obliquus* CNW-N. *Bioresour. Technol.* 113: 244-252.
- [15] Ho S-H, S-W Huang, C-Y Chen, T Hasunuma, A Kondo & J-S Chang. 2013. Characterization and optimization of carbohydrate production from an indigenous microalga *Chlorella vulgaris* FSP-E. *Bioresour. Technol.* 135: 157-165.
- [16] E. Molina Grima, E.H. Belarbi, F.G. Acien Fernández, A. Robles Medina, Y. Chisti, Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics, *Biotechnol. Adv.* 20 (2003) 491-515.
- [17] D. Vandamme, I. Foubert, K. Muylaert, Flocculation as a low-cost method for harvesting microalgae for bulk biomass production, *Trends Biotechnol.* 31 (2013) 233-239.
- [18] Mendoza H, A de la Jara & E Portillo. 2011. Planta piloto de cultivo de microalgas: Desarrollo potencial de nuevas actividades económicas asociadas a la biotecnología en Canarias, 60 pp. Instituto Tecnológico de Canarias, Santa Cruz de Tenerife.
- [19] Knuckey, R.M., Brown, M.R., Robert, R., Frampton, D.M.F., 2006. Production of microalgal concentrates by flocculation and their assessment as aquaculture feeds. *Aquac. Eng.* 35, 300-313.
- [20] Damall, D.W., Greene, B., Henzl, M.T., Hosea, J.M., McPherson, R.A., Sneddon, J., Alexander, M.D., 1986. Selective recovery of gold and other metal ions from an algal biomass. *Environ. Sci. Technol.* 20, 206-208.
- [21] Mehta, S.K., Gaur, J.P., 2005. Use of algae for removing heavy metal ions from wastewater: progress and prospects. *Crit. Rev. Biotechnol.* 25, 113-152.
- [22] C. Hu, H. Liu, J. Qu, D. Wang, and J. Rut, "Coagulation behavior of aluminum salts in eutrophic water: significance of Al13 species and pH control," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 40, no. 1, pp. 325-31, 2006.
- [23] Nollert, L.M.L., 2000. *Handbook of Water analysis*. Ghent.
- [24] APHA, AWWA, WPCF, 1999. *Standard methods for the examination of water and wastewater*, 20th ed. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, Washington, DC.
- [25] Shelef, G., Sukenik, A., 1984. Microalgae harvesting and processing: a literature review. doi:http://dx.doi.org/10.2172/6204677
- [26] Olaizola, M., 2003. Commercial development of microalgal biotechnology: From the test tube to the marketplace. *Biomol. Eng.* 20, 459-466. doi:10.1016/S1389-0344(03)00076-5
- [27] Jiang, J., Lloyd, B., 2002. Progress in the development and use of ferrate (VI) salt as an oxidant and coagulant for water and wastewater treatment. *Water Res.* 36, 1397-1408.
- [28] Abdel-Shafy, H.I., Abo-El-Wafa, O., Azzam, M.A., 1987. Chemical treatment of industrial effluent, in: *Heavy Metals in the Environment*. New Orleans, p. 452.
- [29] Lee, Yuan-Kun & Shen, Hui. 2004. Basic culturing techniques. In *Handbook of microalgal culture: Biotechnology and Applied Phycology*. (Ed. Amos Richmond) Blackwell Publishing Ltd. 40-56
- [30] Travieso, L., Benítez, F., Sánchez, E., Borja, R., Martín, A., Colmenarejo, M.F., 2006. Batch mixed culture of *Chlorella vulgaris* using settled and diluted piggery waste. *Ecol. Eng.* 8, 158-165. doi:10.1016/j.ecoleng.2006.06.001
- [31] Farooq, W., Lee, Y., Ryu, B., Kim, B., Kim, H., Choi, Y., Yang, J., 2013. Two-stage cultivation of two *Chlorella* sp. strains by simultaneous treatment of brewery wastewater and maximizing lipid productivity. *Bioresour. Technol.* 132, 230-238.
- [32] He, P.J., Mao, B., Lü, F., Shao, L.M., Lee, D.J., Chang, J.S., 2013. The combined effect of bacteria and *Chlorella vulgaris* on the treatment of municipal wastewaters. *Bioresour. Technol.* 146, 562-568.
- [33] Cerón García, M.C., Sánchez Mirón, A., Fernández Sevilla, J.M., Molina Grima, E., García Camacho, F., 2005. Mixotrophic growth of the microalga *Phaeodactylum tricornutum*
- [34] Yan, R., Zhu, D., Zhang, Z., Zeng, Q., Chu, J., 2012. Carbon metabolism and energy conversion of *Synechococcus* sp. PCC 7942 under mixotrophic conditions : comparison with photoautotrophic condition. *J. Appl. Phycol.* 24, 657-668. doi:10.1007/s10811-011-9683-2
- [35] Riaño, B., Molinuevo, B., García-González, M.C., 2011. Treatment of fish processing wastewater with microalgae-containing microbiota. *Bioresour. Technol.* 102, 10829-10833. doi:10.1016/j.biortech.2011.09.022
- [36] Grobbelaar JU. 2004. Algal nutrition: mineral nutrition. In: Richmond A (ed). *Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phycology*, pp. 97-115. Blackwell Science, Iowa.
- [37] Martínez L. 2008. Eliminación de CO₂ con microalgas autóctonas. Tesis Doctoral, Instituto de Recursos Naturales, Universidad de León, León, 226 pp.

- [38]Park J, R Craggs & A Shilton. 2011a. Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. *Bioresource Technology* 102: 35-42.
- [39]Ho S-H, C-Y Chen & J-S Chang. 2012. Effect of light intensity and nitrogen starvation on CO₂ fixation and lipid/carbohydrate production of an indigenous microalga *Scenedesmus obliquus* CNW-N. *Bioresource Technology* 113: 244-252.
- [40]Ho S-H, S-W Huang, C-Y Chen, T Hasunuma, A Kondo & J-S Chang. 2013. Characterization and optimization of carbohydrate production from an indigenous microalga *Chlorella vulgaris* FSP-E. *Bioresource Technology* 135: 157-165.
- [41]Larsdotter, K., Jansen, J. la C., Dalhammar, G., 2007. Biologically mediated phosphorus precipitation in wastewater treatment with microalgae. *Environ. Technol.* 28, 953–960. doi:10.1080/09593332808618855