



Tratamiento de agua residual sintética a partir de sistemas
microalga-bacteria bajo influencia de tres longitudes de
onda partiendo de un inóculo de lodos activados

JOSE MIGUEL BERMUDEZ PIEDRAHITA
NATALIA GIRALDO TORRES

Universidad Católica de Manizales
Facultad de Ingeniería y Arquitectura
Ingeniería Ambiental
Manizales, Colombia
2020

**Tratamiento de agua residual sintética a partir de sistemas
microalga-bacteria bajo influencia de tres longitudes de onda
partiendo de un inóculo de lodos activados**

**JOSE MIGUEL BERMÚDEZ PIEDRAHITA
NATALIA GIRALDO TORRES**

Tesis o trabajo de investigación presentada(o) como requisito parcial para optar al título
de:

Ingenieros Ambientales

Directora:

MARIA FERNANDA ORTIZ REVELO

Ingeniera Química

Especialista en Ingeniería Sanitaria y Ambiental

Directora del Programa de Ingeniería Ambiental

Universidad Católica de Manizales

Tutor:

JUAN SEBASTIAN ARCILA HENAO

Ingeniero Químico, PhD Ingeniería Ambiental

Docente-Investigador Universidad Católica de Manizales

Línea de Investigación:

Asistencia de Investigación

Grupo de Investigación:

TECNOLOGÍAS AVANZADAS EN SANEAMIENTO AMBIENTAL

**Universidad Católica de Manizales
Facultad de Ingeniería y Arquitectura
Manizales, Colombia**

2020

Dedicatoria:

Quiero dedicarle este trabajo principalmente a Dios porque sin él nada sería posible. También a mis padres y a mi hermano que siempre me han brindado su acompañamiento, apoyo, impulso, amor y todo lo necesario para llegar a donde estoy ahora como persona y profesionalmente.

*Gracias infinitas amores de mi vida.
Natalia Giraldo Torres.*

A mi ascendencia que infundió en mí, las bases morales para ser quien soy y a las personas que han participado y se harán partícipes de mí.

Jose Miguel Bermúdez Piedrahita.

Agradecimientos

Primordialmente queremos darle nuestros más sinceros agradecimientos al docente y tutor Juan Sebastián Arcila Henao por brindarnos todo el apoyo necesario y además aportarnos el acompañamiento, también queremos agradecerle a Daniela Céspedes por su infinito apoyo y tiempo dedicado.

De igual manera agradecemos a la Universidad Católica de Manizales por brindarnos todos los instrumentos necesarios para nuestra formación profesional y la ejecución de este proyecto, demostrando la universalidad del conocimiento.

Contenido

Lista de Ilustraciones	4
Lista de Figuras	4
Lista de Tablas	5
Lista de Ecuaciones	5
Resumen	6
Palabras clave	8
Participación de eventos	8
Abreviaciones.....	9
Unidades.....	10
Simbología	10
Capítulo I.....	12
1.4.3 Características Fisicoquímicas	22
1.4.5 EPS (Exopolisacáridos).....	25
1.4.6 Nutrientes	26
1.4.7 Remoción de Materia Orgánica.....	27
1.4.8 Longitud de onda y fotoperiodos	28
1.5 Hipótesis.....	29
1.6 Objetivos	30
1.6.1 Objetivo general	30
1.6.2 Objetivos específicos.....	30
2. Capítulo II	31
METODOLOGÍA	31
2.1 Inóculo.....	31
2.2 Procedimientos analíticos.....	32
2.3 Diseño del experimento.....	36
2.4 Métodos analíticos.....	37
3. Capítulo III	39
3.1 Resultados y discusión	39
3.1.1. Materia orgánica y nutrientes	39

3.1.2 Productividad del sistema.....	44
3.1.3. Producción de EPS	46
3.1.3.1 Proteínas	46
3.1.3.2 Carbohidratos	49
3.1.5. Características Bioquímicas	56
3.1.5.1 Proteínas	56
3.1.5.2 Carbohidratos	58
3.1.5.3 Lípidos.....	61
4. Capítulo IV	64
4.1 Conclusiones	64
4.2 Recomendaciones.....	65
Referencias	66

Lista de Ilustraciones

Ilustración 1. Extraído de: Esquema de las variables involucradas en la interacción microalga-bacteria para el tratamiento de agua residual y el potencial biotecnológico de la biomasa recuperada. (Arcila, 2017).....	20
Ilustración 2. Adaptación de Muñoz (2006), “Algal–bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: A review”, Título de ilustración: “Interacciones positivas y negativas entre microalga y bacteria”.	22

Lista de Figuras

Figura 1. Producción del sistema Microalga-bacteria a un TRH=7d bajo diferentes condiciones nutricionales (-N; N/P Óptimo y -P) a diversas longitudes de onda.	44
Figura 2. Producción del sistema microalga-bacteria a un TRH=15d, a diferentes condiciones Nutricionales (-N y -P) y de Luz.....	45
Figura 3.% Aumento o disminución de EPS Proteínas a un TRH=7d.....	46
Figura 4.% Aumento o disminución de EPS Proteínas a un TRH=15d (8h Azul-4h Verde y 4h Azul-8h Verde).....	47
Figura 5. % Aumento o Disminución de EPS Proteínas a un TRH=15d (12h Azul y 12h Verde).	48

Figura 6.% Aumento o Disminución de Carbohidratos EPS a TRH=7d	49
Figura 7.% Aumento o disminución de Carbohidratos EPS a TRH=15d	51
Figura 8.Velocidad de Sedimentación (-P).	53
Figura 9.Velocidad de sedimentación (-N).	54
Figura 10.Velocidad de sedimentación (N/P)	55
Figura 11.% Aumento o disminución de Proteínas del Sistema a TRH=7d.	56
Figura 12.% Aumento o disminución de Proteínas en el sistema a TRH=15d.	57
Figura 13.% Aumento o Disminución de Carbohidratos en el sistema a TRH=7d.	58
Figura 14.% Aumento o disminución de Carbohidratos del sistema a TRH=15d.	60
Figura 15.% Aumento o disminución de lípidos a TRH=7d.....	61
Figura 16.% Aumento o disminución de Lípidos del sistema a TRH=15d.....	62

Lista de Tablas

Tabla 1. Valores promedio de los parámetros del afluente y efluente del proceso HRAP empleando AR urbana. Adaptación de: “Long term diurnal variations in contaminant removal in high rate ponds treating urban wastewater”. (García, 2006).....	21
Tabla 2.Técnicas para la recolección de Biomasa en Sistemas de Tratamiento de Agua Residual.	24
Tabla 3. Componentes del agua residual sintética. Autoría propia.	32
Tabla 4. Procedimientos analíticos. Autoría propia.	35
Tabla 5. Condiciones de Operación. Autoría propia.	37
Tabla 6. Materia orgánica y nutrientes, condiciones iniciales; TRH= 7d; y % Remoción. Autoría propia.....	40
Tabla 7.Tabla de fotoperiodos y tiempos de retención hidráulico. Autoría propia.....	43

Lista de Ecuaciones

Ecuación 1. % Remoción	40
------------------------------	----

Resumen

Actualmente muchos de los sistemas que son utilizados para el tratamiento de agua residual y la remoción de materia orgánica son de altos costos y requieren un alto consumo de energía, debido a esto se ha comenzado a hablar de los sistemas microalgales, según Young (2017) son sistemas basados en lagunas mixtas de poca profundidad, cuyo objetivo es maximizar el tratamiento de agua residual mediante la creación de condiciones óptimas para el crecimiento de algas y la alta producción de oxígeno, procesos claves que eliminan el nitrógeno y los desechos orgánicos en los sistemas llamados lagunas algales de alta tasa (HRAP).

La unión de metabolismos heterótrofos y fotoautótrofos ha sido empleada con el fin de reducir la cantidad de materia orgánica presente en el agua residual. Las microalgas requieren diferentes factores para su crecimiento, dentro de estos se encuentran los parámetros fisicoquímicos tales como luz, temperatura, salinidad, pH, CO₂ y fotoperiodo (Tzovanis et al., 2003) y nutritivos como macro nutrientes, que son utilizados para sintetizar compuestos orgánicos y los micronutrientes usados como catalizadores (Becker, 2004), además de irradiancia, longitud de onda de luz y tiempo de retención hidráulico (TRH).

Se realizó un estudio de tratamiento de agua residual sintética a partir de sistemas microalga-bacteria bajo la influencia de tres longitudes de onda partiendo de un inóculo de lodos activados, el principal objetivo del mismo fue: analizar el comportamiento del sistema con respecto a diferentes longitudes de onda y condiciones nutricionales. Fueron analizados los parámetros de remoción de materia orgánica y nutrientes para cada condición nutricional y de fotoperiodo a diferentes tiempos de retención hidráulico. Con el fin de evaluar el comportamiento del sistema,

se evaluó la producción de biomasa, sustancias poliméricas extracelulares (EPS), sedimentabilidad y características bioquímicas (carbohidratos, lípidos y proteínas) del sistema microalga-bacteria.

El inóculo microalgal de los sistemas dispuestos en batch fue extraído del embalse cameguadua ubicado en el municipio de Chinchiná, Caldas, Colombia (N 4°59'24,585" W72°36'240"), el cual fue aclimatado en tres reactores cada uno con capacidad de 2,5 L en un sistema de Prueba de Jarras y un volumen de trabajo de 2 L. El agua a tratar estaba compuesta por agua residual proveniente de la Universidad Católica de Manizales y medio Syntho en una relación 1:9 (v/v). Los tiempos de retención hidráulicos del sistema se determinaron a 7 y 15 días, las condiciones Nutricionales fueron -N, N/P Óptimo y -P y las de Luz 12h Verde; 8h Verde-4h Azul; 8h Azul- 4h Verde; y 12h Azul, todas bajo la misma irradiancia de las lámparas LED ($150 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 * \text{s}^{-1})$) y fotoperiodos de 12 h Luz-12h Oscuridad.

En base a aquello evidenciado en este estudio se concluyó que: a un TRH=7d, el fotoperiodo mixto compuesto de las longitudes de onda azul y verde en configuración 8h azul:4h verde presenta la mayor sedimentabilidad del sistema (0.38cm/h), representa la máxima generación de lípidos del sistema (43.65%) y remueve ortofosfatos (100%) a condiciones nutricionales de escaso fósforo (-P), lo que considerando el potencial biotecnológico de la biomasa y más específicamente los lípidos del sistema para producción de biocombustibles, resulta de gran interés; a un TRH=7d, la condición de luz 8h azul:4h verde representa la mayor remoción de fosfatos (100%) y nitrógeno amoniacal (53%) en las condiciones nutricionales -P y -N respectivamente; Las condiciones nutricionales del sistema pueden significar la prelación de una ruta metabólica sobre otra, es decir, cuando el sistema se encuentra bajo en niveles de nitrógeno (-N) y Fósforo (-P) es cuando mayor cantidad de lípidos (43.56% a 8h azul:4h verde, -P y TRH=7d) y carbohidratos (241.53% a 12h azul, -N y TRH=7d) son producidos en el sistema microalga-bacteria; las condiciones óptimas de N/P son aquellas a las

cuales se logra una mayor remoción de DQO en el sistema (72% a 8h verde: 4h azul), valor mayor que aquellos alcanzados cuando el sistema se encontraba a condiciones de TRH=15d (65% a 12h verde y -P); y En cuanto a la producción de EPS, lípidos y proteínas en el sistema, se evidencia que, cuando el TRH=15d, se producen mayor cantidad de estos componentes cuando el sistema tiene una baja relación de N/P, es decir, cuando se denomina la condición nutricional -N, de igual manera, a este tiempo de retención hidráulico, las variables del sistema se desvían en varios casos de la teoría, razón por la cual, dependiendo del compuesto a generar, se debe emplear una condición de luz en específico. ej. Para producir Lípidos, se recomienda el someter al sistema a condiciones de Luz de 12h Azul-12h oscuridad y -N.

Palabras clave

Microalga-bacteria, HRAP, tratamiento de agua residual, tratamiento biológico, longitud de onda, condiciones nutricionales, fotoperiodo.

Participación de eventos

INNOVUS- EFECTO DE LA LONGITUD DE ONDA Y NUTRIENTES SOBRE EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES SINTÉTICA EMPLEANDO SISTEMAS MICROALGA-BACTERIA

RREDSI- RED DEPARTAMENTAL DE SEMILLEROS DE INVESTIGACIÓN: DE LA CUAL SE OBTUVO RECONOCIMIENTO A MEJOR PONENCIA EN LA LÍNEA DE INGENIERÍA Y TECNOLOGÍA EN MODALIDAD PÓSTER.

Abreviaciones

AR Agua Residual

CH_4 Metano

CO_2 Dióxido de Carbono

DBO Demanda Bioquímica de Oxígeno

DQO Demanda Química de Oxígeno

HRAP Laguna algal de alta tasa

N Nitrógeno

$N-NH_4^+$ Nitrógeno Amoniacal

$N-NO_3$ Nitratos

NTK Nitrógeno Total de Kjeldahl

O_2 Oxígeno Molecular

P Fósforo

pH Potencial de Hidrógeno

PT Fósforo Total

$P-PO_4^{3-}$ Fosfatos

SSV Sólidos Suspendidos Volátiles

SST Sólidos Suspendidos Totales

TRH Tiempo de Retención Hidráulica

Unidades

- Concentración:
 - ❖ Nitrógeno Amoniacal:
mg N- NH_4^+ /L

 - ❖ Nitratos
mg N- NO_3 /L

 - ❖ Nitrógeno Total de Kjeldahl
mg NTK/L

 - ❖ DQO
mg DQO/L

 - ❖ Fosfatos:
mg P- PO_4^{3-} /L

 - ❖ Sólidos Suspendidos Volátiles:
mg SSV/L

 - ❖ Sólidos Suspendidos Totales:
mg SST/L

- Volumen
 - ❖ μ L
 - ❖ mL
 - ❖ L

- Sedimentabilidad
 - Velocidad de sedimentación
cm/h

- Tiempo
 - d
 - h

Simbología

θ (Teta): Representa el TRH del sistema

λ (lambda): Longitud de Onda

Capítulo I

1.1 Introducción

Desde un enfoque holístico, el patrimonio hídrico, del cual depende toda actividad y forma de vida, cuenta con múltiples fuentes de contaminación con diferentes significancias que deterioran la calidad del mismo, afectando social, económica y ecológicamente una región e inclusive, este impacto ambiental tiene una gran escala, que trasciende de local a escala global.

El deterioro en la calidad del agua es un impacto ambiental que se puede asociar al aspecto de generación de vertimientos de agua residual, los cuales según Ación (2016), varían en términos de composición principalmente en función de la ubicación y las actividades predominantes en el área y sus alrededores (agricultura, industria, etc.).

El concepto de "anillo microbiano" cambió notablemente el rol que tienen los microorganismos en los ecosistemas acuáticos. Este concepto plantea la importancia de la interacción bacteria-microalga como componentes básicos del ecosistema, proponiendo que las bacterias no solo son recicladoras de la materia orgánica, sino que además tienen la capacidad de absorber nutrientes desde el océano y hacer circular estas fuentes de carbono mediante diversas interacciones ecológicas con los otros componentes del plancton. (Azam, 1983)

Una vez mencionado esto, uno de los organismos con los que las bacterias interactúan de forma directa son las microalgas, de las cuales, con base en diversos estudios que han sido realizados, se ha concluido que esta relación genera un estímulo y una inhibición del crecimiento tanto en algas como en bacterias, siendo necesarias entre sí para su existencia y desarrollo, debido a que las bacterias pueden optimizar el crecimiento microalgal y las microalgas alimentar las bacterias sin

verse afectadas, al contrario facilitan la continuidad del flujo carbónico en el ambiente acuático. (Sieburth, 1959)

Debido a la efectividad de este sistema para remover materia orgánica y nutrientes, el hecho de implementarlo en un esquema de tratamiento de agua residual sintética, a diferentes limitaciones nutricionales, toma importancia, buscando que este mutualismo mineraliza la fracción orgánica y emplee los nutrientes para su crecimiento o desarrollo. Las microalgas generan oxígeno de manera fotosintética, lo que significa que la luz, emitida a partir de una fuente de energía natural como el sol, o artificial como fuentes de luz a diferentes longitudes de onda, es un factor limitante del proceso, y según revisión bibliográfica, aspectos como remoción de nutrientes, generación de biomasa y productividad del sistema, fueron mayores en aquellas λ asociadas a los colores azul y rojo del espectro de luz visible. El oxígeno generado por las microalgas es utilizado por las bacterias en su actividad metabólica de respiración celular empleando la materia orgánica y produciendo biogás, cuyo componente utilizado por las microalgas en su actividad fotosintética para reproducirse y producir biomasa es el Dióxido de carbono.

Enunciando una de las múltiples ventajas del sistema microalga bacteria y aquella que lo hace un sistema viable para comunidades de bajos recursos, es el no requerimiento de inyección de oxígeno, necesario en múltiples sistemas convencionales de tratamiento de agua residual, lo cual se traduce en reducciones deducibles de costos energéticos.

1.2 Planteamiento del problema

Debido a la necesidad en la sustentabilidad de los procesos de tratamiento de aguas residuales y la inminente crisis energética presente en la actualidad, se ha hecho necesario estudiar tecnologías para el tratamiento de aguas residuales con altas remociones de carga orgánica y nutrientes, que a su vez generan biomasa con alto contenido energético para ser empleado en la producción de biocombustibles.

Sistemas aerobios como los lodos activados son comúnmente utilizados para el tratamiento biológico de aguas residuales, donde el lodo obtenido del tratamiento biológico es empleado para la digestión y producción de biogás. Sin embargo, el alto consumo de energía debido a la inyección de oxígeno, incrementa el costo operativo del proceso limitando la sustentabilidad de este sistema biológico.

En consonancia implementación de tecnologías de tratamiento de aguas residuales sustentables, los sistemas microalga-bacteria han sido consideradas como una alternativa promisoría para el tratamiento de aguas residuales, debido a su capacidad de remoción de carga orgánica y alta eficiencia de remoción de nutrientes (Muñoz and Guieysse, 2006). Adicionalmente, el potencial del sistema microalga –bacteria, asociados a la producción de oxígeno por parte de las microalgas, hacen que los equipos de inyección de oxígeno (como sopladores o difusores) sean excluido del tratamiento aerobio, disminuyendo los costos de operación, a la vez que aumentando la eficiencia energética del proceso de tratamiento de aguas residuales.

Aparte de las ventajas operativas de los sistemas microalga-bacteria sobre los tratamientos biológicos de aguas residuales, los altos contenidos de macromoléculas acumuladas por las microalgas (carbohidratos, proteínas y lípidos) han convertido a la biomasa microalga-bacteria en

un sustrato con alto potencial de aplicación en el sector energético, específicamente en la producción de biocombustibles gaseosos, siendo la acumulación de lípidos un factor clave para la maximización de la productividad de metano en el sistema anaerobio.

A pesar de la proyección e inserción de estos sistemas en el mercado global de tratamiento de aguas residuales, factores como la estabilidad de los sistemas microalga-bacteria aún siguen evidenciando limitantes en su implementación. Variables como la productividad, sedimentabilidad y contenido energético de la biomasa microalgal han presentado una alta sensibilidad frente a cambios en las condiciones ambientales (irradiación solar y temperatura) y operativas (tiempo de retención hidráulica, carga orgánica) del sistema (Arcila y Buitrón 2016, 2017; Kim et al., 2014). No obstante, los estudios de dichas variables hasta el momento no evidencian una claridad sobre el entendimiento de los mecanismos que afectan la estabilidad de los sistemas microalga-bacteria, por lo cual su investigación se convierte en un nicho de alta trascendencia que permitan llegar a la obtención de procesos sustentables para el tratamiento de aguas residuales con generación de productos de valor agregado.

Basado en el contexto mencionado anteriormente, esta investigación se enfoca en: Analizar la influencia de factores limitantes como la longitud de onda a la cual esté expuesta y la relación de nutrientes sobre el crecimiento y remoción de nutrientes del sistema microalga bacteria

1.3 Justificación

El tratamiento de aguas residuales dentro de un contexto sustentable, ha llevado al establecimiento de estrategias donde el desecho es considerado materia prima para la generación de productos de valor agregado. La implementación de sistemas microalga-bacteria ha sido establecida como una tecnología emergente para el tratamiento de aguas residuales, siendo además su biomasa una fuente

con alto impacto energético, particularmente en la producción de biocombustibles gaseosos como metano e hidrógeno.

La producción de electricidad y calor en el mundo a partir de residuos municipales, industriales y de la agroindustria durante los años 2005 y 2015 ha aumentado en más del 100 %, ocupando un 1.5 % de la producción de total de energía alrededor del mundo (IEA), siendo los países pertenecientes a la organización para la cooperación y el desarrollo económico (OCDE) los más interesados en diversificar su fuente de energía a partir de desechos. En el caso colombiano, el documento revelado por la agencia nacional de energía (IEA) hasta el 2015, muestra que el uso de los desechos para producción de energía es menor al 1%.

No obstante, las políticas actuales del ministerio de minas y energía, así como el ministerio del medio ambiente y desarrollo sostenible convergen en impulsar el uso de fuentes de energía renovables a partir de biomasa. En este contexto, los sistemas microalga-bacteria se muestran como una tecnología susceptible a ser aplicada en nuestro país, debido a sus características asociadas al tratamiento del agua residual y generación de energía.

En la actualidad, uno de los principales procesos para la valorización de la biomasa microalgal está relacionado con la obtención de biogás a partir de la digestión anaerobia. Este proceso presenta ventajas como la reducción de gases efecto invernadero, control de contaminantes en el agua, así como la estabilización de residuos sólidos. Empresas multinacionales como Aqualia (España) han apostado por la implementación de estos sistemas de microalga-bacteria para el tratamiento de aguas residuales domésticas en zonas rurales con baja población, observando resultados satisfactorios en cuanto al tratamiento de agua residual y producción de metano, que posteriormente es usado como biocombustible para automóviles.

Este tipo de antecedentes, posiciona el sistema microalga-bacteria como una alternativa tecnológica, cuyo bajo costo de operación y mantenimiento permite su aplicación en sectores rurales de Colombia con escasos recursos económicos, brindándole a la población de estas zonas del país la posibilidad de tener condiciones adecuadas de saneamiento basado en unas tecnologías energéticamente sustentables.

Adicionalmente, el enfoque mundial actual sobre la producción de biocombustibles de tercera generación, convierte a los sistemas microalga-bacteria para el tratamiento de aguas residuales y producción de energía en un frente de interés investigativo mundial y nacional, enmarcado dentro de las políticas de producción de energías limpias.

El sistema microalga-bacteria genera biomasa con alto potencial energético y tecnológico, que es generada en razón del consumo de materia orgánica, nutrientes, y los factores de estrés o limitantes del proceso, que son: la irradiancia, la longitud de onda a la cual esté expuesta, el TRH y la relación de nutrientes. Por otra parte, estudios han sido realizados, como aquel de Kim (2013), que evidenció el incremento en la tasa de producción microalgal y remoción de los nutrientes N y P en aquellos reactores expuestos a la combinación (por fotoperiodos) de longitudes de onda.

Bajo condiciones naturales, el hecho de variar la intensidad de la luz inhibe el crecimiento del cultivo microalgal debido a la insuficiente energía lumínica durante épocas de lluvia o por irradiación excesiva en periodos soleados, lo que genera fotoinhibición (Yan, 2013). Según Termini et. al (2011), El sistema microalgal requiere de las condiciones óptimas de iluminación para alcanzar la máxima remoción de nutrientes. Una vez enunciado lo anterior, un medio dispuesto en condiciones artificiales puede restringir la interacción con variables naturales que pueden resultar en fotoinhibición y así, asegurar la máxima remoción de nutrientes.

Dependiendo de la longitud de onda, la relación de nutrientes y la intensidad lumínica a las que se encuentre expuesto el sistema microalgal, la eficiencia de remoción de nutrientes se verá significativamente afectada, esta fue una de las conclusiones a las que llegó Yan (2013), al momento de estudiar los efectos de varias longitudes de onda e intensidades lumínicas sobre el tratamiento de agua residual sintética a diferentes condiciones de nutrientes. De igual manera, la producción de agregados algales como los EPS debe tomarse en consideración, pues al tener un gran potencial biotecnológico, el hecho de optimizar el proceso en base a las condiciones óptimas de iluminación y longitud de onda toma importancia.

1.4 Referente teórico

1.4.1 Actualidad de los tratamientos de agua residual

En la actualidad, los tratamientos convencionales de agua residual tienen la finalidad de remover la demanda bioquímica de oxígeno (DBO), sólidos suspendidos, nutrientes en el agua residual (nitritos, nitratos, nitrógeno amoniacal, fosfatos y fósforo), bacterias coliformes y la toxicidad de la misma por medio del proceso de oxidación de la materia a dióxido de carbono (CO₂) y agua empleando el oxígeno disuelto (DO) como agente oxidante (Raouf, 2012). Una vez enunciado esto, a mayor concentración de DBO, menor de OD, que es finalmente aquel que emplean los organismos acuáticos de la fuente hídrica receptora del vertimiento, generando un ambiente anaerobio.

Uno de los esquemas de tratamiento de agua residual consiste en la utilización de lodos activados, los cuales, según Arcila y Buitrón (2016), son sistemas que, debido a la alta demanda de energía para la inyección de oxígeno, resultan de elevado costo y, en relación con la gran cantidad de lodos generados a disponer, generan un alto impacto ambiental debido a la generación

de Gases de Efecto Invernadero, en adición a las extensiones de suelo empleadas para la disposición final del mismo. Para contextualizar, un sistema de lodos activados consiste en una masa floculenta de microorganismos, materia orgánica descompuesta y materiales inorgánicos (Romero, J.A, 2004), cuyo fin es adsorber aquellos materiales en suspensión coloidal o los sólidos suspendidos en el agua residual.

1.4.2 Sistemas Microalgales

Determinada la desventaja de emplear los sistemas de tratamiento de agua residual de lodos activados, se procede a enunciar las lagunas algales de alta tasa o HRAP, bajo sus siglas en inglés, las cuales, son un tratamiento de agua residual de carácter aerobio que, Arcila y Buitrón (2017) determinan como conjunciones de microalga-bacteria cuya actividad fototrófica característica de las algas, genera el oxígeno necesario para la actividad heterotrófica de las bacterias, estas son las que consumen los contaminantes en el agua residual y así, se constituye un mutualismo para el crecimiento de la biomasa en el sistema (Ver figura 1).

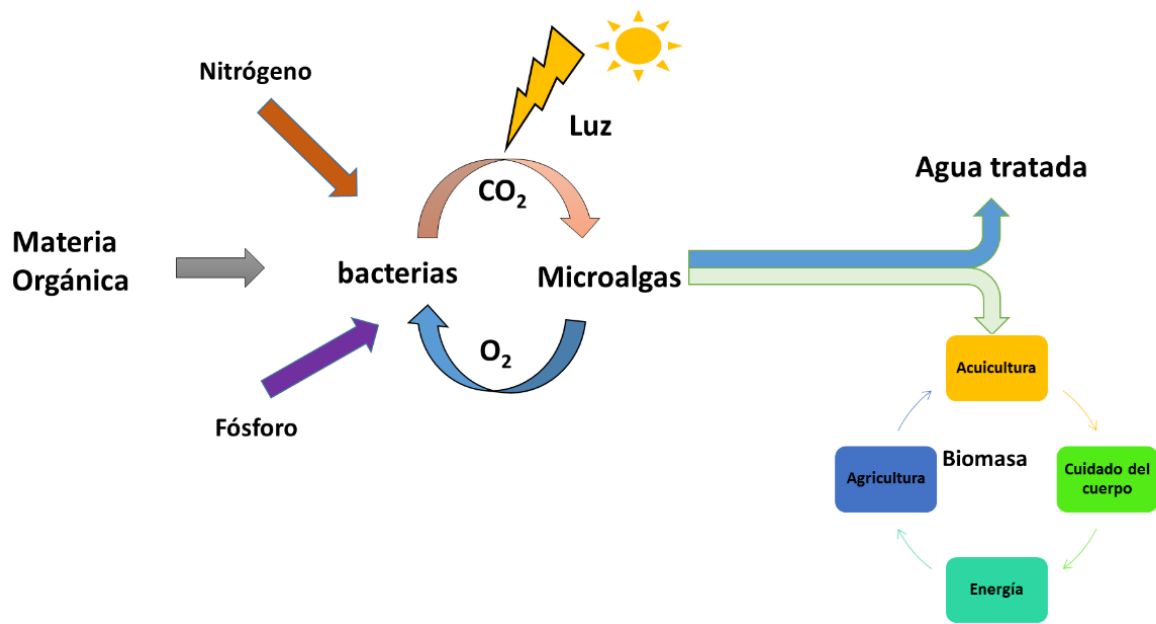


Ilustración 1. Extraído de: Esquema de las variables involucradas en la interacción microalga-bacteria para el tratamiento de agua residual y el potencial biotecnológico de la biomasa recuperada. (Arcila, 2017)

La composición del agua residual puede variar según su ubicación, ya que las actividades que se realicen en las zonas aledañas, sea agricultura, industria u otra actividad, pueden variar su composición. Esta misma agua residual obtenida de las diferentes fuentes puede ser altamente aprovechada para el uso diario o el mismo consumo humano, esto puede ser obtenido mediante un tratamiento empleando sistemas de microalga bacteria. (Acién et. al, 2016)

El sistema microalga-bacteria ha sido convencionalmente utilizado para tratar aguas residuales, en especial para la remoción de nutrientes como lo son el nitrógeno y el fósforo (Arcila & Buitrón, 2016), este ha sido empleado para el tratamiento de aguas residuales provenientes de diversas actividades, como aquellas establecidas por Godos (2009) en porquerizas y por actividades agroindustriales (Godos, 2010), que presentan altas concentraciones de nitrógeno, fósforo y materia orgánica. Es conocida otra aplicación del sistema microalgal en el tratamiento de agua residual urbana, García (2006) reporta las características de efluente en el proceso HRAP, **estas se encuentran consolidadas en la tabla 1 del presente documento.**

Parámetro	Unidades	Afluente	Efluente A	Efluente B
SST	mg/L	49±17	68±53	54±43
DQO	mg/L	260±62	170±80	160±66
NT	mg N/L	51.2±14.2	14±6.9	22.2±11.9
PT	mg P/L	8.5±1.9	4.8±1.9	5.8±1.8

Tabla 1. Valores promedio de los parámetros del afluente y efluente del proceso HRAP empleando AR urbana. Adaptación de: “Long term diurnal variations in contaminant removal in high rate ponds treating urban wastewater”. (García, 2006)

El crecimiento del sistema microalga-bacteria no se limita únicamente a la interacción de CO_2/O_2 (Muñoz, 2006) debido a su proceso de simbiosis, sino a la relación estímulo-inhibición de la que habla Sieburth (1959) y a la generación de agregados microalgales extracelulares y la retribución de los promotores de crecimiento por parte de las bacterias evidenciada por Fukami et al (1997). Esto puede evidenciarse en la *Ilustración 2*.

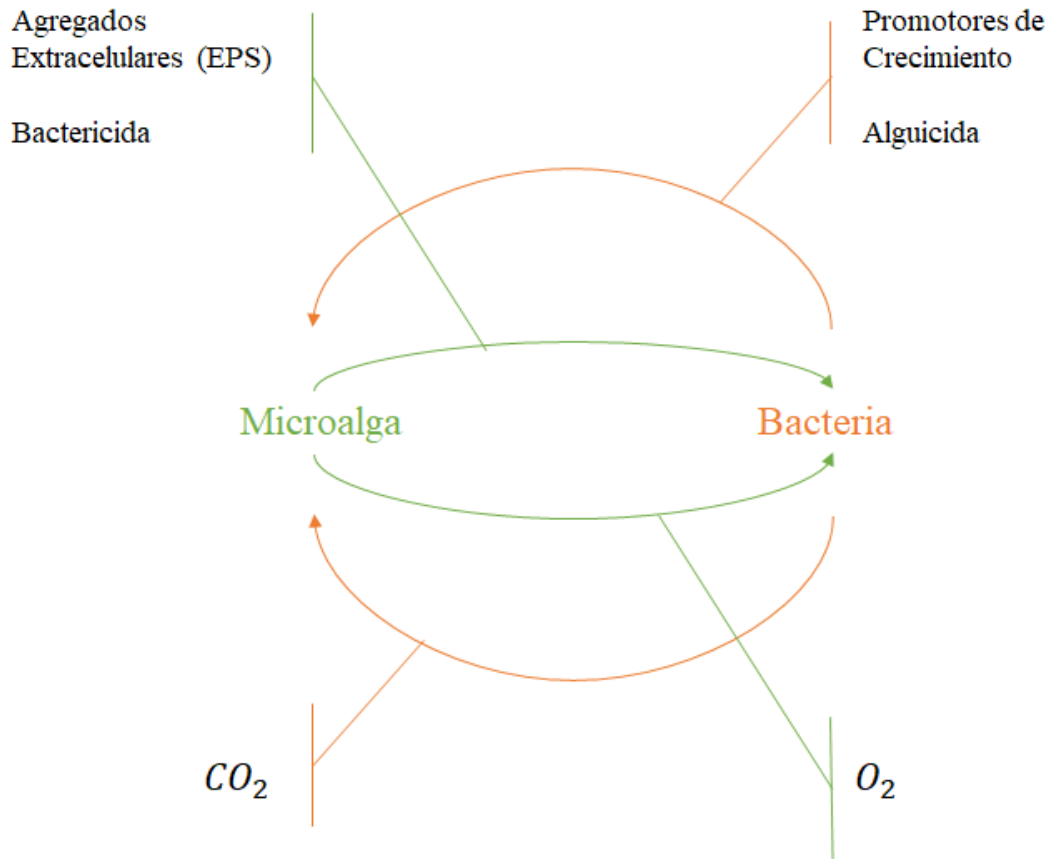


Ilustración 2. Adaptación de Muñoz (2006), “Algal–bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: A review”, Título de ilustración: “Interacciones positivas y negativas entre microalga y bacteria”.

1.4.3 Características Físicoquímicas

La fotosíntesis produce altas concentraciones de OD y altos niveles de pH, que fluctúan diurnamente, específicamente refiriéndose a los periodos de irradiación solar (Craggs, 2004), los SST del sistema aumentan debido al crecimiento en suspensión de la biomasa algal y el DQO disminuye en términos del TRH del Sistema. Sin embargo, Yan (2012) evidencia que a diferentes relaciones C/N y longitudes de onda, no hubo variaciones significativas en el pH del sistema, cuyo resultado fue evidenciado en otros experimentos como aquel elaborado por Su et al (2011) empleando *Chlorella pyrenoidosa* empleada para el tratamiento de AR proveniente del procesamiento de Grano de Soya.

1.4.4 Sedimentabilidad del sistema Microalga -Bacteria

Se entiende por sedimentación la remoción generada por el efecto gravitacional de las partículas que se encuentran suspendidas en el agua. El proceso de remoción de partículas en suspensión puede alcanzarse mediante sedimentación o filtración, incluso en conjunto pueden ser complementarios, ya que la sedimentación remueve todas las partículas de mayor tamaño, es decir, más densas, mientras la filtración remueve todas esas partículas pequeñas o de una densidad similar a la del agua o las que por otras circunstancias pudieron quedar re suspendidas anteriormente. (Arboleda, 2000).

En un sistema de tratamiento de agua residual microalga-bacteria se realiza sedimentación, la cual es una técnica que se encuentra entre las más comunes de recolección de biomasa, entre las cuales se hallan: filtración, floculación, centrifugación (González, 2012), entre otras, cuya implementación radica en la evaluación de costos operativos y energéticos que cada sistema conlleve.

Técnica	Eficiencia	Desventaja
Sedimentación Gravitacional	-	Consumo de tiempo La composición de la célula puede variar
Centrifugación	++	Alto consumo energético La composición de la célula puede variar

Filtración	+	Lavado o reemplazo periódico de la membrana
Electrocoagulación- Floculación	++	Reemplazo periódico del electrodo Consumo moderado de energía La composición de la célula puede variar
Floculación química	++	Costo de floculante Potencial toxicidad si el agua es reciclada o usada para el procesamiento de la biomasa

Tabla 2. Técnicas para la recolección de Biomasa en Sistemas de Tratamiento de Agua Residual.

Las técnicas de recolección dependen en gran medida de la especie, características y finalidad de la biomasa cosechada. Por ejemplo, los floculantes pueden no ser deseables cuando la biomasa de algas se va a utilizar como alimento humano o animal debido a su potencial toxicidad. (Borowitzka 1992).

Según Nguyen et. al (2018), la recuperación de las microalgas requiere de un esfuerzo intenso para separar la biomasa de un medio de cultivo con gran volumen tanto en reactores tipo HRAP, como en fotobiorreactores. Además, debido al tamaño (de 2 a 30µm y de 2 a 20µm), autores como Fon Sing et. al (2011) y el mismo Nguyen et. al (2018), enuncian la alta estabilidad coloidal en suspensión líquida, que hace al proceso de sedimentación, uno poco factible.

Al momento de evaluar el costo de recuperación de biomasa por el método de sedimentación, autores difieren en este aspecto. Greenwell et. al (2009) y Van Den Hende et. al (2011) enuncian

que el costo de la recuperación de biomasa por sedimentación puede alcanzar costos en el orden de 20-30% de la producción algal, y cuando es necesaria la post producción, se alcanzan costos cercanos al 60% del costo total. Sin embargo, varios estudios como aquel elaborado por Milledge y Heaven (2013) definen esta técnica de recuperación (sedimentación), como una estrategia económica en términos de costo-efectividad.

Además de los métodos evidenciados en la **tabla 2.**, Lee et. al (2013) propone la biofloculación, que es un proceso de floculación en un sistema microalgal asistido por otros microorganismos, para este estudio, Lee prueba que la bacteria juega un rol clave en el crecimiento del tamaño del floc y esto resulta en la sedimentación de las microalgas. Se ha reportado que las bacterias y las sustancias poliméricas extracelulares (EPS), tienen cierta importancia en el proceso de biofloculación y, por lo tanto, sedimentación de las microalgas (Kim et. al, 2011)

1.4.5 EPS (Exopolisacáridos)

Las Sustancias Poliméricas Extracelulares o EPS (bajo sus siglas en inglés) son, según Xiao & Zheng (2016), aquellos materiales o excretas que mantienen las estructuras de los fotogranulos Microalgales unidas, y se componen de un complejo de biopolímeros de elevado peso molecular, su composición radica en polisacáridos, proteínas, ADN, lípidos y trazas de materiales o moléculas. Los Exopolisacáridos representan un cambio significativo en las propiedades fisicoquímicas de los agregados algales, la fuente anteriormente mencionada (Zheng) enuncia variables como la carga superficial, viscosidad, floculación, estructura y propiedades de sedimentabilidad como aquellas que se ven particularmente afectadas por acción de estas sustancias.

Las condiciones ambientales en el hábitat están sujetas a grandes fluctuaciones, que generan condiciones de estrés en el sistema microalgal, específicamente a elevadas condiciones de luz (Arad, 2004). Según Friedman, Duvinsky y Arad (1991), La producción de EPS en el sistema

microalgal aumenta cuando el flujo de fotones lo hace también y al unísono, el número de células se mantiene casi constante. A esta última condición se le denomina fase estacionaria, en la cual, con base en el estudio realizado por Ramus (1972) sobre producción de polisacáridos extracelulares por el alga roja unicelular *Porphyridium aerugineum*, el incremento de EPS en el sistema es producido (43.4% de producción de Polisacáridos).

Estudios como aquel elaborado por Han et al (2013) para la microalga *Nostoc flagelliforme*, del cual se obtuvo producción de EPS para diferentes longitudes de onda, representan el comportamiento del sistema bajo diferentes condiciones de luz. Este autor evidenció producción de EPS bajo las condiciones de longitud de onda: blanca (31.4%), roja (44.4%), amarilla (29.7%), verde (34.2%), azul (47.4%) y púrpura (42.4%) a un TRH de 15d de cultivo.

En términos de acumulación de lípidos, algunos estudios demuestran que los LED a longitudes de onda verde, inducen a la acumulación de lípidos en las microalgas (Ra et. al, 2016), El autor de la anterior afirmación realizó un estudio con la microalga *Picochlorum atomus* empleando diferentes LED a condiciones de longitud de onda diversas, evidenciando los porcentajes de acumulación de lípidos en el sistema. las λ empleadas por Ra et. al (2015) fueron roja (48.3%), verde (50.3%) y azul (35.0%).

1.4.6 Nutrientes

El nitrógeno en el agua residual a tratar resulta ser, según Pérez (2014), uno de los nutrientes más importantes para las microalgas, el cual es incorporado en el sistema como nitratos (N-NO_3) o como nitrógeno amoniacal (N-NH_4^+) y es un factor limitante en el proceso para regular la concentración de los lípidos de las microalgas, que bajo condiciones normales o típicas son del 20%, pero cuando el N se convierte en el factor limitante del proceso, aumenta la acumulación de los mismos en más del doble de la cantidad porcentual anteriormente enunciada.

Los nutrientes son aquel factor limitante del proceso del que depende la evolución del sistema. El P, fundamental en los procesos celulares, si bien sólo representa el <1% de las microalgas, su deficiencia limita el crecimiento del sistema, pues es el responsable de la formación de los ácidos nucleicos y transferencia de energía en el cultivo, el mismo suele encontrarse en el medio como Fosfatos (PO_4^{3-}). (Pérez, 2014)

Las relaciones nutricionales tienen gran relevancia en el tratamiento de aguas residuales por medios biológicos, pues, así como fue enunciado por Romero (2004), los microorganismos requieren recibir los elementos necesarios para formar el protoplasma o el material necesario para su subsistencia en el medio. Como fue mencionado con anterioridad, los nutrientes representan un factor crítico en la evolución del sistema, de estos se denominan las condiciones de estrés para el sistema microalga bacteria, pues en base al cambio en estas relaciones nutricionales, las variables de salida del sistema resultan mayores o menores, este comportamiento es evidenciado por Sutherland (2014) que obtuvo remociones de hasta 75% de N-NH_4^+ cuando la relación de nutrientes es elevada y de 74% de N-NH_4^+ cuando la misma es baja.

1.4.7 Remoción de Materia Orgánica

Las algas pueden ser usadas en el tratamiento de AR para múltiples propósitos, algunos de ellos son para la remoción de bacterias coliformes, la reducción de la DQO y DBO, remoción de nutrientes como N y/o P y remoción de metales pesados (Raouf, 2012). Según esta misma fuente, la cantidad de DQO del sistema puede significar la muerte de la biodiversidad acuática de la fuente receptora del vertimiento y anaerobiosis.

La materia orgánica soluble y en suspensión en el AR es mineralizada por los microorganismos heterótrofos, que emplean el OD, generado por medio de la actividad fotosintética de los organismos fotótrofos en el medio. La oxidación de la materia orgánica

empleando un sistema microalga-bacteria se evidencia en la eficiencia de remoción del DQO en el sistema, pues el mismo es un indicador de presencia de compuestos orgánicos en el medio (Salgueiro, 2016). La eficiencia de remoción de la demanda química de oxígeno es evidenciada en la información obtenida por Salgueiro (2016), empleando un cultivo de *Chlorella vulgaris* para el tratamiento de AR sintética, cuyo resultado fue una remoción del 71%, que se acerca a otros resultados como aquel hallado por Colak & Kaya (1988) del 67,2% de remoción de COD o DQO.

1.4.8 Longitud de onda y fotoperiodos

El crecimiento fotoautotrófico de las microalgas en el cultivo requiere CO_2 , nutrientes como nitrógeno y fósforo, y una fuente de luz (Schulze et. al, 2014), esta última en las microalgas mixotróficas y fotoautótrofas es empleada en el proceso de fotosíntesis, que se genera por fuentes naturales o artificiales de luz. Aunque la luz solar representa una fuente económica en términos de efectividad-costo para la producción microalgal, las fuentes artificiales de luz son económicamente factibles cuando la biomasa generada es empleada como materia prima en productos de alto valor, como comida o en suplementos nutricionales (Blanken. et al., 2013).

Carvalho (2011) enuncia que los factores clave para el éxito de cualquier producto agrícola o industrial es la productividad y calidad de la biomasa, estos factores resultan de las condiciones de iluminación artificial, que provee mejor regulación de la densidad del flujo de fotones activos fotosintéticamente (PPFD), fotoperiodos y la longitud de onda, condiciones a las cuales se verá expuesto el sistema microalga-bacteria.

El fotoperiodo (tiempo de exposición a la luz y oscuridad) tiene efecto sobre los ciclos de vida y actividades metabólicas de las microalgas tanto en cultivo como en la naturaleza (Humprey, 1979), este régimen de variaciones, según Tzovenis (1997) impone cambios en el contenido celular de proteínas, carbohidratos y lípidos. Estudios, como aquel elaborado por Wahidin, Idris y Shaleh

(2013) evidencian la más alta producción algal cuando el fotoperiodo es de 12:12 o 12h luz-12h oscuridad y la más baja en la característica de fotoperiodo 24:0 de luz/oscuridad, evidenciando que la importancia del fotoperiodo radica en el control de la fotoinhibición del sistema por exceso de energía lumínica.

La longitud de onda es un parámetro de suma relevancia en el tratamiento de AR empleando un sistema microalgal. Generalmente, el cultivo microalgal emplea luz a longitudes de onda desde 400 a 700nm para su actividad fotosintética, Richmond (2013) enuncia que la longitud de onda absorbida por las microalgas difiere dependiendo de la especie, ejemplo de ello son las algas verdes, que absorben, por medio del proceso de la fotosíntesis a través de la clorofila, aquellas longitudes de onda en el rango de 450-475 nm y 630-675 nm, y los carotenoides absorben la energía de la luz de 400-500 nm. Varios autores, como Chen et. al (2011), Cheirsilp y Torpee (2012), Wang et. al (2007) y Das et. al (2011) reportaron en sus estudios que la luz roja (600–700 nm) y azul (400–500 nm) estimulan el crecimiento de las microalgas, las tasas de crecimiento y el contenido de lípidos del sistema, difiriendo en la intensidad de la luz.

1.5 Hipótesis

La eficiencia del tratamiento de aguas residuales en los sistemas microalga bacteria varía en función de las limitaciones de nutrientes y la longitud de onda a la que esté expuesto.

1.6 Objetivos

1.6.1 Objetivo general

Evaluar la influencia de tres longitudes de onda sobre la evolución de un sistema microalgal-bacteria, partiendo de un inóculo de lodos activados empleando agua residual sintética.

1.6.2 Objetivos específicos

- Analizar los parámetros de remoción de materia orgánica y nutrientes para cada longitud de onda y nutrientes
- Evaluar la producción de EPS y sedimentabilidad del sistema de lodos activados para cada longitud de onda.
- Evaluar las características bioquímicas del sistema de lodos activados a diferentes longitudes de ondas

2. Capítulo II

METODOLOGÍA

2.1 Inóculo

Para establecer un cultivo microalga Bacteria se inocularon tres reactores cada uno con capacidad de 2,5 L en un sistema de Prueba de Jarras y un volumen de trabajo de 2 L con microalgas obtenidas en el Embalse Cameguadua ubicado en el municipio de Chinchiná, Caldas, Colombia (N 4°59'24,585" W72°36'240"), se aclimataron en un volumen de 6 L de agua residual compuesta por agua residual proveniente de la Universidad Católica de Manizales y medio Syntho (Nopens et al., 2001) en una relación 1:9 (v/v).

La composición del Agua Residual Sintética fue la siguiente:

Compuesto	Concentración (mg/L)
CH ₄ N ₂ O	91,7 mg/L
NH ₄ Cl	12,75 mg/L
C ₂ H ₃ NaO ₂	79,37 mg/L
Peptona	17,4 mg/L
KH ₂ PO ₄	23,4 mg/L
NaH ₂ PO ₄	23,72 mg/L
MgCl	14 mg/L

FeSO ₄ .7H ₂ O	5,8 mg/L
Almidón	122 mg/L
Leche en polvo	116 mg/L
Levadura	52,24 mg/L
Aceite de oliva	29,02 mg/L
Pb(NO ₃) ₂	0,1 mg/L
CuSO ₄	0,57 mg/L
MnSO ₄ .H ₂ O	0,108 mg/L
ZnCl ₂	0,208 mg/L
Ni(SO ₄).6H ₂ O	0,336 mg/L
Cr	10 ml

Tabla 3. Componentes del agua residual sintética. Autoría propia.

2.2 Procedimientos analíticos

Variable	Método
DQO	Colorimétrico Digestión Solution for COD Cat. 2125915 HACH,

<p>N-NH₄⁺</p>	<p>Colorimétrico AmVer amoníaco de alto Gama Test' N Tube Reactivo Conjunto Cat. 2606945-LM HACH</p>
<p>Nitritos y Nitratos</p>	<p>Colorimétricos Test 1-67 NANOCOLOR Nitrite y Test 1- 65 NANOCOLOR Nitrat respectivamente.</p>
<p>P-PO₄³⁻</p>	<p>Colorimétrico Test 1-78 NANOCOLOR ortho- Phosphate MACHEREY- NAGEL.</p>
<p>Densidad Óptica</p>	<p>UV-VIS Spectrophotometer Pharo 300 Spectroquant</p>

pH	pHmetro Thermo Scientific Orion 3 Star
Oxígeno disuelto	Oxímetro HI 98193 HANNA
Temperatura	Oxímetro HI 98193 HANNA
EPS (Sustancias Poliméricas Extracelulares) o Exopolisacáridos, carbohidratos, proteínas y lípidos	Todos los parámetros solubles se filtraron a través de membranas de tamaño de poro de 24 mm (filtros de microfibras de vidrio GC-50 ADVANTEC) y membranas de tamaño de poro de 0,45 µm (filtros de nitrato de celulosa Sartorius Biolab Products).
Velocidad de Sedimentación	Se midió al final de cada TRH. La velocidad de sedimentación se calculó basándose en la

	<p>ecuación (1) y el porcentaje de remoción se calculó basándose en la ecuación (2).</p> $Vs = h_{llave}/t_{medición}$ <p>(1)</p> <p>Aquí, h_{llave} es la altura de la llave donde se toma la muestra para medición de densidad óptica dada en metros, y el tiempo es el establecido para la toma de cada muestra en horas.</p>
TSS y VSS	Métodos estándar APHA

Tabla 4. Procedimientos analíticos. Autoría propia.

2.3 Diseño del experimento

El diseño experimental del Sistema microalgal- bacteria constó de reactores en Batch o lote en planchas de agitación automatizadas por medio de programación, las cuales tenían periodos de reposo correspondientes a la etapa de sedimentación del sistema. De igual manera, las planchas de agitación dispuestas contaban con lámparas led bajo una irradiancia de $150 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 * \text{s})$ y fotoperiodos de 12 horas, los cuales, dependiendo de la plancha, se tenían distribuidos en prelación de color verde o azul y también en fotoperiodos completamente constituidos por un color de luz, como se puede evidenciar en la **Tabla de condiciones de operación**. En cada plancha se dispuso el duplicado de las condiciones de Nutrientes.

Las condiciones de operación fueron:

TRH (Θ) <d>	Fotoperiodo de exposición a λ Verde (h)	Fotoperiodo de exposición a λ Azul (h)	Relación N/P (mgNTK/mgPO ₄ ³⁻)
15	12	0	Baja
15	12	0	Alta
7	8	4	Óptimo
7	8	4	Baja
7	8	4	Alta

15	8	4	Baja
15	8	4	Alta
7	4	8	Baja
7	4	8	Alta
7	4	8	Óptimo
15	4	8	Baja
15	4	8	Alta
15	0	12	Baja
15	0	12	Alta

Tabla 5. Condiciones de Operación. Autoría propia.

2.4 Métodos analíticos

Para el análisis experimental de la remoción de nutrientes, materia orgánica y el crecimiento de la biomasa, se medirán los siguientes parámetros: sólidos suspendidos totales (SST), sólidos suspendidos volátiles (SSV), demanda química de oxígeno (DQO), nitrógeno amoniacal ($N-NH_4^+$), Nitrógeno orgánico, fosfatos ($P-PO_4^{3-}$), clorofila, Exopolisacáridos (Proteínas y carbohidratos) al inicio y final del ciclo. Todas las pruebas se realizarán basados en los métodos estándar. El método de Exopolisacáridos fue realizado con base en el método de temperatura reportado por Arcila y Buitrón, (2017).

Cinética de remoción de DQO, nutrientes y crecimiento

En esta etapa se realizó un seguimiento cinético diario por el periodo de reacción, durante este tiempo, se tomaron muestras de DQO(soluble), DQO(total), $N-NH_4^+$, N-orgánico y SSV, clorofila, hasta que el 80 % de la DQO sea removida (tiempo de duración de cada ciclo).

3. Capítulo III

3.1 Resultados y discusión

3.1.1. Materia orgánica y nutrientes

Parámetros	Oscuridad (12h)		Fotoperiodo de Luz (8h Verde-4h Azul)		Oscuridad (12h)		Fotoperiodo de Luz (8h Azul-4h Verde)	
	θ=0d	θ=7d	%Remoción		θ=0d	θ=7d	%Remoción	
-N	N-NH ₄ ⁺	18±3	10±8	44	17±3	8±6	53	
	DQO	124±32	60±21	52	124±32	55±18	56	
	P-PO ₄ ³⁻	11	10±1	9	11	9±1	18	
	N-NO ₃	0	0	*	0	0±1	*	
	NT	27±13	12±3	56	27±13	13±9	52	
	SSV	185±18	287±6	-55	185±18	290±61	-57	
N/P Óptimo	N-NH ₄ ⁺	27±5	30±11	-11	27±5	27±7	0	
	DQO	221±38	62±19	72	221±38	76±11	66	
	P-PO ₄ ³⁻	13±4	7±2	46	13±4	7±2	46	
	N-NO ₃	0	2±1	*	0	8±1	*	

	NT	57±2	38±12	33	57±2	30±6	47
	SSV	193±28	373±64	-93	193±28	327±81	-69
-P	N-NH ₄ ⁺	28±6	38±14	-36	36±12	30±7	17
	DQO	174±40	66±18	62	174±40	66±17	62
	P-PO ₄ ³⁻	6±1	1±1	83	6±1	0	100
	N-NO ₃	0	4±2	*	0	8±6	*
	NT	54±2	35±2	35	54±2	29±2	46
	SSV	211±18	357±84	-69	211±18	360±104	-71

Tabla 6. Materia orgánica y nutrientes, condiciones iniciales; TRH= 7d; y % Remoción. Autoría propia

En la tabla se evidencian valores negativos, los cuales, representan la producción de una variable en relación con la cantidad inicial, la **ecuación 1** fue aquella empleada para calcular el % de remoción de la variable correspondiente.

Ecuación 1. % Remoción

$$\% \text{ Remoción} = 100 - \frac{\text{Cantidad Inicial de Variable} - \text{Cantidad Final de Variable}}{\text{Cantidad Inicial de Variable}} * 100$$

Para el TRH (Θ) de 7 días, la mayor remoción de DQO fue en aquella condición de nutrientes óptimas y las condiciones de fotoperiodos de luz de 8 horas verde, 4 horas azul y 12 horas de oscuridad (72% de remoción de materia orgánica), seguida de la misma condición de nutrientes a fotoperiodos de luz de 12 h oscuridad, 8 h azul y 4h verde (66% de remoción de DQO). La condición de luz 8h verde-4h azul, en comparación con el valor hallado por Salgueiro (2016) (71%

de remoción de materia orgánica), demuestra que la remoción de DQO del AR sintética por parte del sistema microalga-bacteria ronda estos valores.

Las condiciones asociadas a la mayor remoción de $N-NH_4^+$, son aquellas encontradas cuando el N en el sistema es escaso, y más específicamente en las condiciones de Luz de 8h Azul- 4h Verde- 12h Oscuridad (53%). En cuanto a remoción de $P-PO_4^{3-}$, el sistema presenta el mayor valor cuando el P en el sistema escasea y las condiciones de luz son de 8h Azul-4h Verde-12h Oscuridad (100%), este dato de remoción de fósforo en el sistema, comparado con aquel obtenido por Kim (2013) de 90% empleando luz azul, evidencia que el hecho de emplear condiciones de fotoperiodos con longitudes de ondas mixtas y condiciones nutricionales bajas en fósforo, resulta más eficiente que en fotoperiodos compuestos por una longitud de onda para la remoción de $P-PO_4^{3-}$.

En términos de nutrientes, dependiendo del nutriente que se requiera remover, la cantidad del mismo debe ser mucho menor que sus contrapartes. ej. Sí se evalúa el $P-PO_4^{3-}$, este debe estar en menor proporción que la de $N-NH_4^+$ del sistema, teniendo una mayor relación N/P. La longitud de onda prevaleciente es un valor que también representa una remoción significativa, a un $\Theta=7d$, se alcanzan mayores valores de remoción de parámetros como $N-NH_4^+$ (53% en condición nutricional -N) y $P-PO_4^{3-}$ (100% en condición nutricional -P). cuando es mayor el periodo de exposición a la λ Azul.

Referente al proceso de Nitrificación, este puede ser evidenciado en la generación de Nitratos ($N-NO_3$), el cual se ve reflejado en las relaciones de nutrientes N/P óptimo y -P, evidenciando que este mecanismo de transformación de Nitrógeno se presenta siempre que el sistema cuente con Nitrógeno en exceso o suficiente, Produciendo: 2 y 8 $mgN-NO_3/L$ en condiciones de N/P óptimo a las condiciones de luz 8h verde-4h azul y 8h azul-4h verde, respectivamente; 4 y 8 $mgN-NO_3/L$

en condiciones -P a las condiciones de luz 8h verde-4h azul y 8h azul- 4h verde, respectivamente; y en condiciones de escasez, hay una generación mínima o nula de Nitratos, lo que significa que el sistema Microalga -bacteria sigue los mecanismos de Asimilación y Amonificación en base a la cantidad de Nitrógeno en el cultivo.

		Fotoperiodo de Luz (12h Verde)			Fotoperiodo de Luz (8h Verde-4h Azul)			Fotoperiodo de Luz (8h Azul-4h Verde)			Fotoperiodo de Luz (12h Azul)		
		$\theta=0$ d	$\theta=15$ d	%Remoción	$\theta=0$ d	$\theta=15$ d	%Remoción	$\theta=0$ d	$\theta=15$ d	%Remoción	$\theta=0$ d	$\theta=15$ d	%Remoción
-N	N-NH ₄ ⁺	15	5±1	67	18±3	6±1	67	17±3	6	65	15	6	60
	DQO	143	82±3	43	124±32	56±1	55	124±32	50±1	60	143	63±1	56
	P-PO ₄ ³⁻	12	4±1	67	11	6	45	11	7±1	36	12	7	42
	N-NO ₃	0	0	*	0	0	*	0	0	*	0	0	*
	NT	27±13	10±4	63	27±13	7±1	74	27±13	9±4	67	27±13	13±5	52
	SSV	200	500	-150	185±18	655±7	-254	185±18	445±7	-141	200	430±42	-115
-P	N-NH ₄ ⁺	33	27±3	18	28±6	17±4	39	36±12	26	28	33	31	6
	DQO	197	69±4	65	174±40	63±1	64	174±40	83±1	52	197	83	58
	P-PO ₄ ³⁻	4	1	75	6±1	1	83	6	0	100	4	1	75

	N-NO ₃	0	10±2	*	0	2	*	0	9	*	0	12±1	*
	NT	54±2	18±4	67	54±2	19±1	65	54±2	22±3	59	54±2	16±5	70
	SSV	210	365±7	-74	211±17	480±14	-127	211±17	340±14	-61	210	220±14	-5

Tabla 7. Tabla de fotoperiodos y tiempos de retención hidráulico. Autoría propia.

Los resultados obtenidos para el TRH de 15 días evidencian: la variable remoción de DQO fue mayor en las condiciones -P a las que estaba expuesto el sistema, evidenciando la mayor remoción de materia orgánica en la condición de Luz 12 h Verde- 12h Oscuridad (65%), seguido de la condición 8h verde- 4h Azul-12h Oscuridad (64%), valores que se asemejan a aquellos hallados por Colak y Kaya (1988) (67.2% de remoción de DQO).

La mayor remoción de N-NH₄⁺ en el sistema fue evidenciada en aquellas condiciones -N del cultivo, obteniendo el valor máximo a las condiciones de luz 12h Verde y 8h verde-4h azul (67%), valor que, contrastando con la literatura, se acerca al valor enunciado por Sutherland (2014) para relación baja de nutrientes (74%), cabe recalcar que en el estudio de Sutherland no se evalúa la influencia de la longitud de onda frente a este parámetro.

Considerando el fósforo en el sistema, la mayor remoción de P-PO₄³⁻ se alcanzó en aquellas condiciones nutricionales donde el fósforo se encontraba bajo en relación con el nitrógeno (-P), bajo esta restricción, el P-PO₄³⁻ alcanzó remociones de hasta el 100% (para la condición de luz 8h Azul-4h Verde- 12h Oscuridad), contrastando este valor de remoción con el 90% obtenido por Kim (2013), se evidencia que sin discriminar el TRH del sistema, cuando la condición de fotoperiodo es mixta (8h azul-4h verde) y la condición nutricional es baja en fósforo (-P), se obtiene una mayor remoción de fósforo en el AR. En términos de Nitrificación, el contenido de nitratos en el sistema, igual que con el TRH=7d, solo se generó en condiciones con exceso de Nitrógeno.

3.1.2 Productividad del sistema

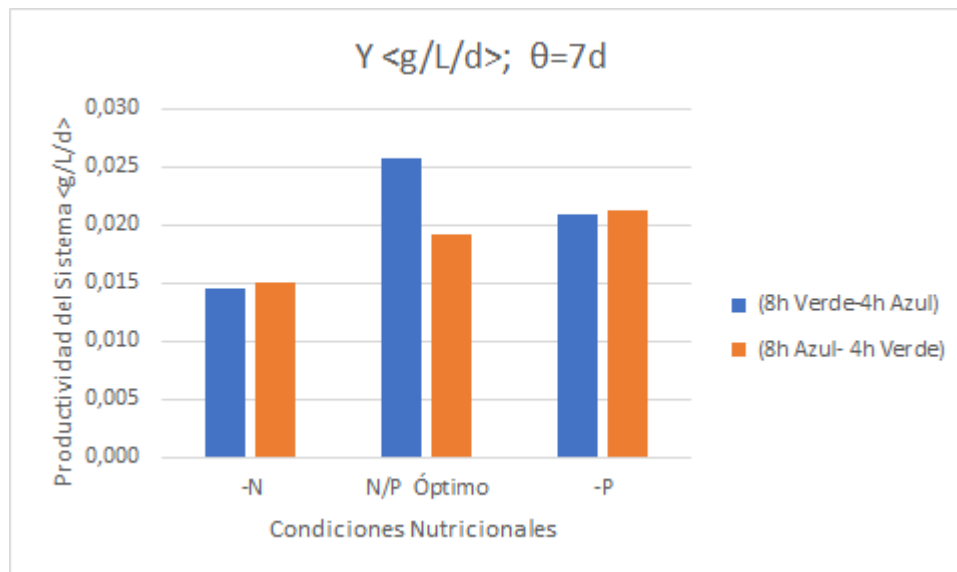


Figura 1. Producción del sistema Microalga-bacteria a un TRH=7d bajo diferentes condiciones nutricionales (-N; N/P Óptimo y -P) a diversas longitudes de onda.

Con un tiempo de retención hidráulico de 7 días y a una irradiancia de $150 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 * \text{s})$, la producción (Y) del sistema microbiológico es mayor cuando se expone a las condiciones óptimas de Nitrógeno y Fósforo y a las de luz 8h Verde- 4h Azul-12h Oscuridad (0.025g/L/d), representando un 93% de aumento en los SSV según la **tabla 9**. del presente documento.

Si bien, se evidencia un mayor crecimiento cuando se trata de la Longitud de Onda Asociada al color Verde comparándola con la Azul, la combinación de longitud de onda estimula el crecimiento del sistema Algal en términos de biomasa, sin embargo, la mejor configuración es donde predomina la longitud de onda Verde. Refiriéndose a las relaciones de nutrientes, se evidencia que en cuanto a las condiciones limitantes del proceso (-N y -P), el estrés en la relación de bajo Fósforo y Alto Nitrógeno generó una mayor productividad en el sistema Microalga-Bacteria.

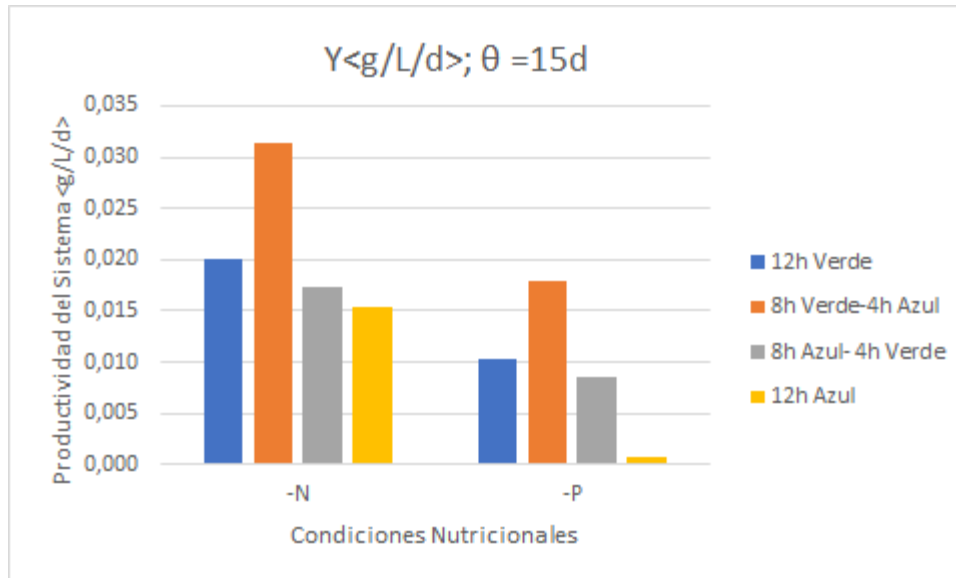


Figura 2. Producción del sistema microalga-bacteria a un TRH=15d, a diferentes condiciones Nutricionales (-N y -P) y de Luz

Con un tiempo de retención hidráulico de 15d, se puede evidenciar que las condiciones Nutricionales del sistema, condicionan el crecimiento de Biomasa, Cuando se trata de una relación Baja N/P (-N), El crecimiento es mayor independiente de la longitud de onda a la cual se encuentre expuesto, sin embargo la longitud de onda que representa mayor productividad del sistema microalga bacteria es aquella compuesta de Fotoperiodos de 8h Verde-4h Azul-12h Oscuridad (0.031g/L/d), que representa un aumento del 254% de la cantidad inicial de SSV, se evidencia el mismo comportamiento independiente de la Limitación Nutricional. Razón por la cual, la condición óptima para el crecimiento de biomasa a una irradiancia dada ($150 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 * \text{s})$) y TRH=15d es aquella mencionada con anterioridad. Comparando el resultado de la producción de biomasa reportada por Yan et. al (2013) de 135.37% de tasa de crecimiento, se comprueba que la combinación de longitudes de onda afecta la evolución del sistema en términos de tasa de crecimiento, pues se obtuvo una producción de biomasa de 1.87 veces la reportada por la anterior fuente, esta última fue empleando la longitud de onda roja, esta información es de gran relevancia dado el potencial biotecnológico de la biomasa microalgal.

3.1.3. Producción de EPS

3.1.3.1 Proteínas

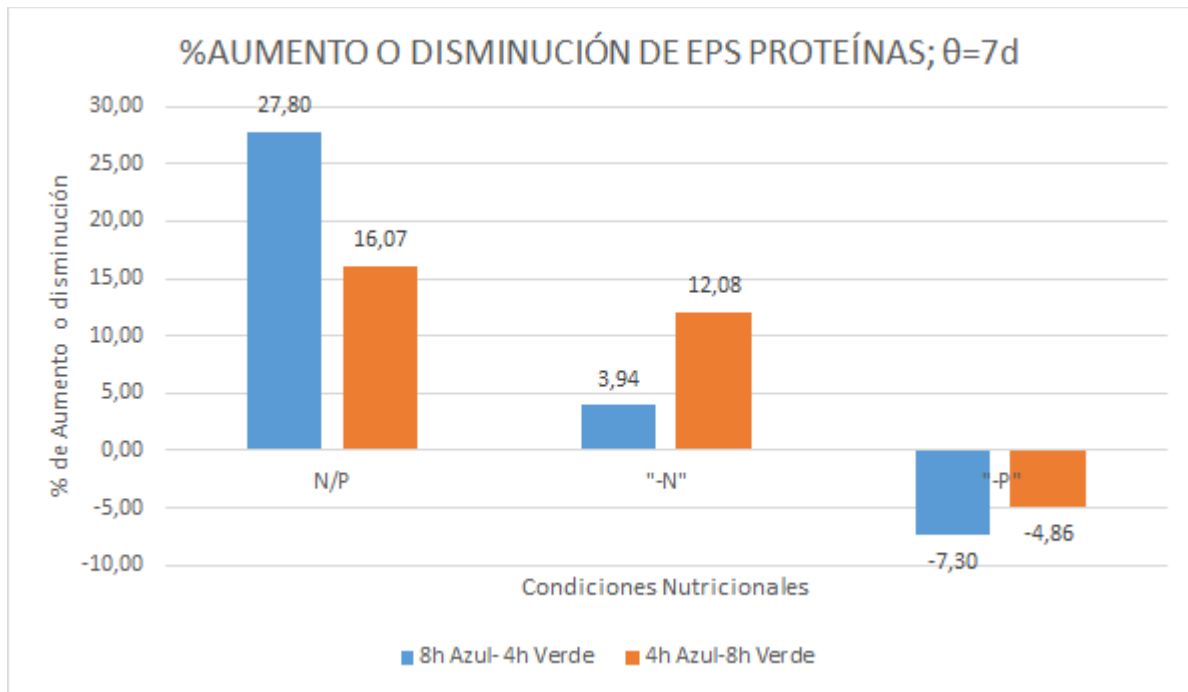


Figura 3.%Aumento o disminución de EPS Proteínas a un TRH=7d.

Los EPS en el Sistema Microalga-Bacteria cuando el TRH=7d evidencian Aumento cuando se tratan de condiciones con Fósforo Propicias, el valor de aumento más alto fue alcanzado a las condiciones Nutricionales de N/P óptimo y cuando la luz se componía de las longitudes de Onda Azul y verde en fotoperiodos de 8h Azul- 4h Verde-12h Oscuridad, lo cual, relacionado con la información de remoción de nutrientes cuando $\Theta=7d$, evidencia que bajo esta condición de Luz, se consumen mayor cantidad de Nutrientes y se generan mayor cantidad de Proteínas constituyentes de los EPS. En relación con la cantidad de proteínas de los EPS, Nguyen et. al (2020), enuncia que el contenido de proteínas obtenido en su experimento titulado: "Utilización de microalgas para la autorregulación en la producción de sustancias poliméricas extracelulares" fue

de 25.6mg/L, que, comparado con el 16.7mg/L obtenido en nuestro experimento bajo las condiciones de mayor aumento, resulta 1.53 veces mayor, si bien no es una diferencia significativa, la razón de esto radica en las condiciones propias de cada experimento, pues en aquel ejecutado por Nguyen et. al, se empleó la condición de luz roja, longitud de onda que no fue evaluada en nuestro proyecto.

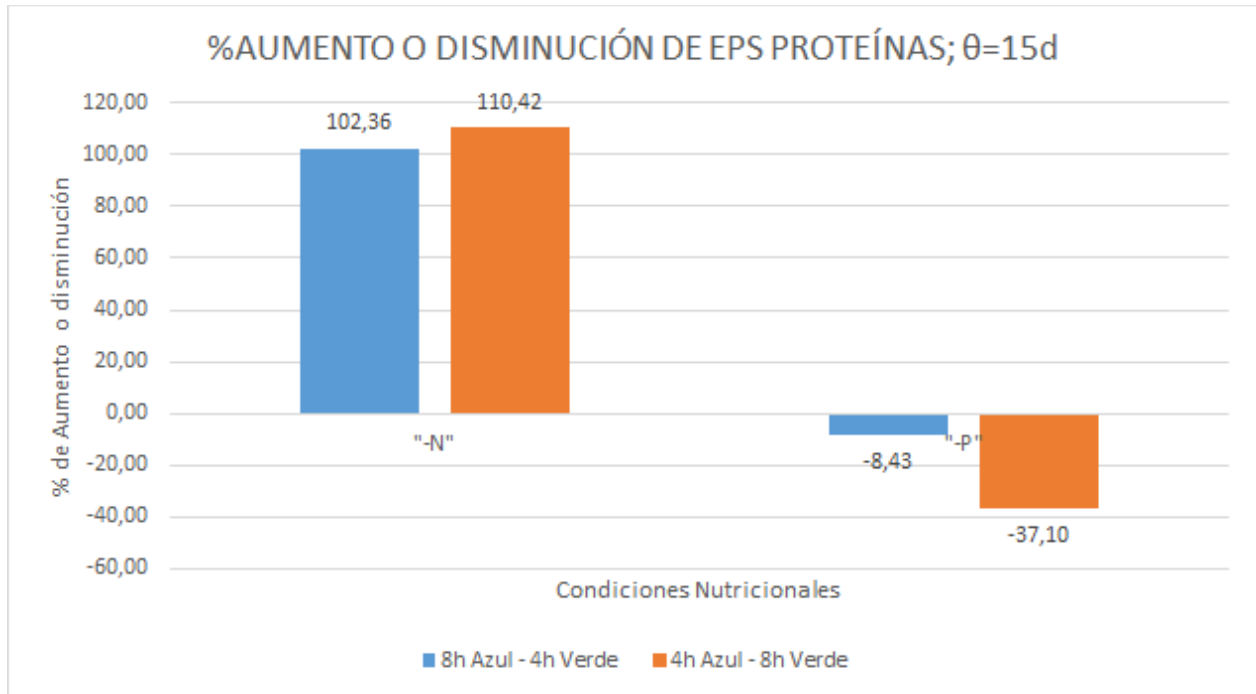


Figura 4. %Aumento o disminución de EPS Proteínas a un TRH=15d (8h Azul-4h Verde y 4h Azul-8h Verde).

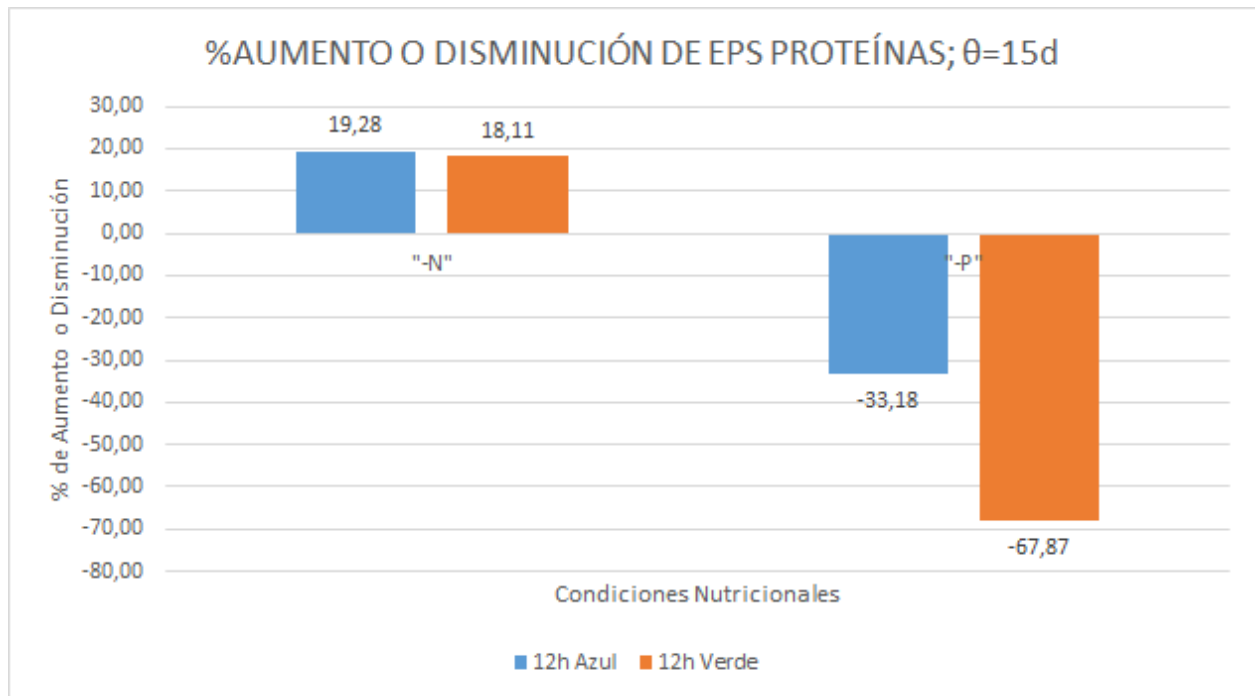


Figura 5. % Aumento o Disminución de EPS Proteínas a un TRH=15d (12h Azul y 12h Verde).

En términos de EPS-Proteínas del sistema microalga bacteria, cuando se tiene un Tiempo de Retención Hidráulico de 15d, el sistema evidencia que para que se generen Proteínas en el sistema, se requiere que las condiciones nutricionales tengan una relación N/P Baja, es decir, que en el medio se encuentre cantidad suficiente de Fósforo como fue evidenciado en el sistema a TRH=7d. Los máximos valores de generación de EPS-Proteínas son aquellos relacionados con las combinaciones de Longitudes de Onda Azul-Verde. (110.4% Aumento de Proteínas cuando la condición nutricional es -N y la condición de luz es 4h azul-8h verde), que siendo comparado con el valor obtenido por Nguyen et. al (2020) (25.6mg/L), Resulta menor (siendo el mayor obtenido en el experimento 18.8mg/L).

3.1.3.2 Carbohidratos

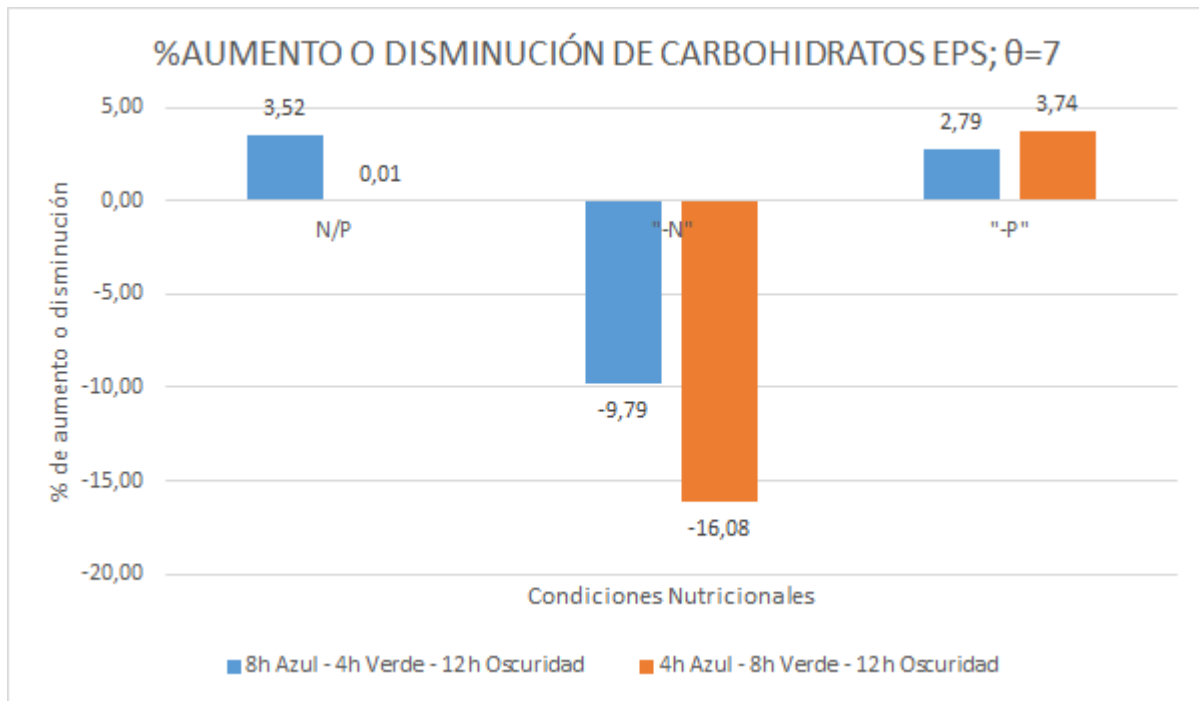


Figura 6. % Aumento o Disminución de Carbohidratos EPS a TRH=7d

La síntesis y liberación de los Exopolisacáridos puede ser particularmente dependiente de la luz (Ehling-Schulz, Bilger, & Scherer, 1997), Han et. al (2014) evidencia este comportamiento al exponer el sistema de *Nostoc flagelliforme* a diferentes condiciones de longitud de onda: azul (47.39mg EPS/gSSV), roja(44.44mg EPS/gSSV), púrpura(42.42mg EPS/gSSV), verde(34.24mg EPS/gSSV), blanca(31.43mg EPS/gSSV) y amarilla(29.72mg EPS/gSSV). En nuestro experimento, en las condiciones nutricionales asociadas con la falta de Nitrógeno, el sistema tiende a consumir las reservas de energía en el medio. El almidón agregado al medio syntho es asimilado por las estructuras del sistema Microalga-Bacteria y en algunos casos, como Aquellos evidenciados bajo las limitaciones nutricionales N/P y -P, se excretan sustancias Poliméricas. el mayor aumento en el carbohidrato EPS del sistema se evidencia en condición -P, cuando el fotoperiodo se compone de: 4h Azul-8h Verde-12h Oscuridad (3.7% de aumento de EPS carbohidratos), seguido de la

condición óptima de nutrientes (N/P) a fotoperiodos de luz de 8h azul-4h verde (3.52% de aumento de Exopolisacáridos). Se evidencia la influencia del factor nutricional en el medio, pues el nitrógeno, según Nguyen et. al (2020), afecta directamente a la producción de EPS en el medio y en la condición nutricional escasa de nitrógeno (-N), se alcanzó la mayor disminución (16.08%) de estos polímeros extracelulares.

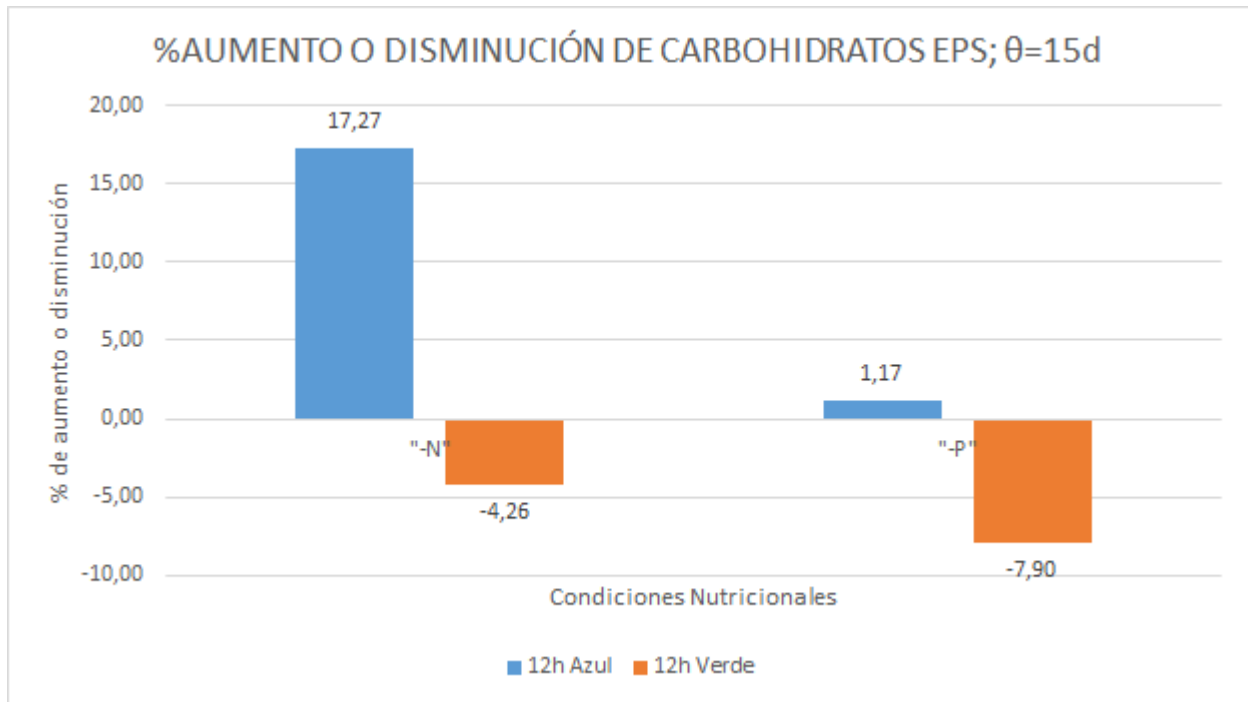
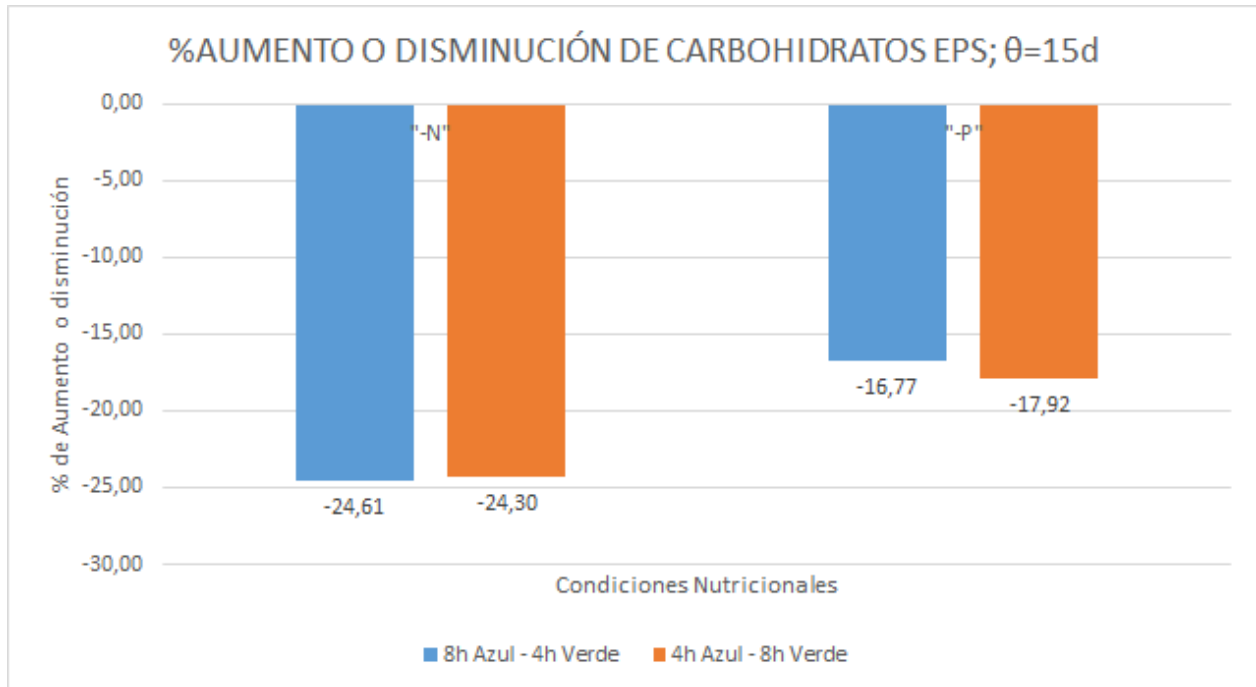


Figura 7. % Aumento o disminución de Carbohidratos EPS a TRH=15d

Cuando se trata del TRH=15d, el sistema evidencia que las condiciones de Longitudes de onda mixtas representan la disminución de carbohidratos EPS en el sistema cuando las condiciones de estrés (-N y -P) son las que rigen el factor nutricional, igual que en el inciso del TRH=7d, el nitrógeno evidencia ser el factor limitante del proceso, mientras que aquellas condiciones de luz asociadas a una sola longitud de onda por fotoperiodos de 12h oscuridad-12h luz son aquellas que representan un aumento en las Sustancias Poliméricas Extracelulares del sistema, Siendo el fotoperiodo de 12h Azul en condiciones de Bajo Nitrógeno aquel que más Polímeros genera (17.2% de Aumento)., la diferencia en los resultados puede estar relacionada con el TRH del sistema y que, no fueron evaluadas las condiciones de producción de EPS a un TRH=7d con fotoperiodos de Longitud de onda individual (verde o azul) de 12h.

3.1.4. Sedimentabilidad

Con el fin de determinar la velocidad de sedimentación del sistema, se evaluaron aquellas condiciones que, a un TRH=7d, contaban con combinación de Fotoperiodos Verde y Azul. Con el fin de analizar el comportamiento de la velocidad de sedimentación, se debe plasmar la información en el plano cartesiano, pues al definir las variables dependiente (y) e independiente (x) del sistema, se pueden obtener otras variables, como la pendiente (m), que representa la razón de cambio entre las variables.

Para el caso de la Velocidad de sedimentación, se realizó el cálculo generando una línea de tendencia entre la variable Altura (dependiente “y”) y el tiempo (independiente “x”), a la cual, en base a la siguiente ecuación, se le realiza el análisis determinando las variables.

$y = mx + b$ Ecuación de la Recta, donde:

y= Variable dependiente (Eje Vertical)

x= Variable independiente (Eje horizontal)

m=Pendiente de la recta (Razón de cambio entre los valores proyectados de los Ejes en el plano)

b=punto de corte con el eje Vertical

En ese orden de ideas, la pendiente (m), al ser la razón de cambio entre variables, representa la velocidad de sedimentación del sistema, lo que se puede evidenciar en las siguientes gráficas:

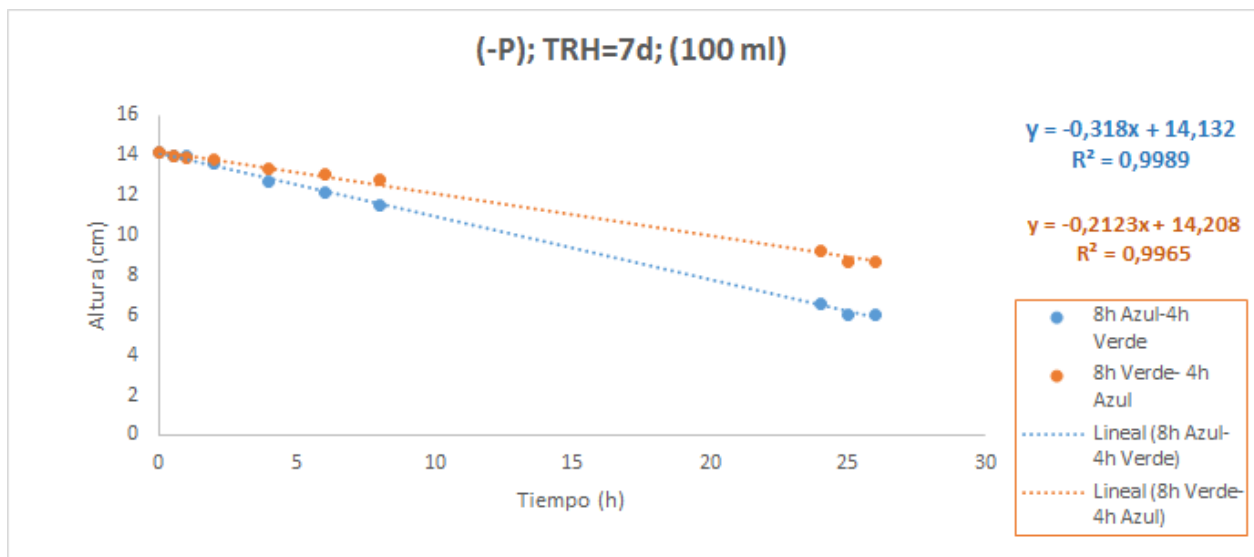


Figura 8.Velocidad de Sedimentación (-P).

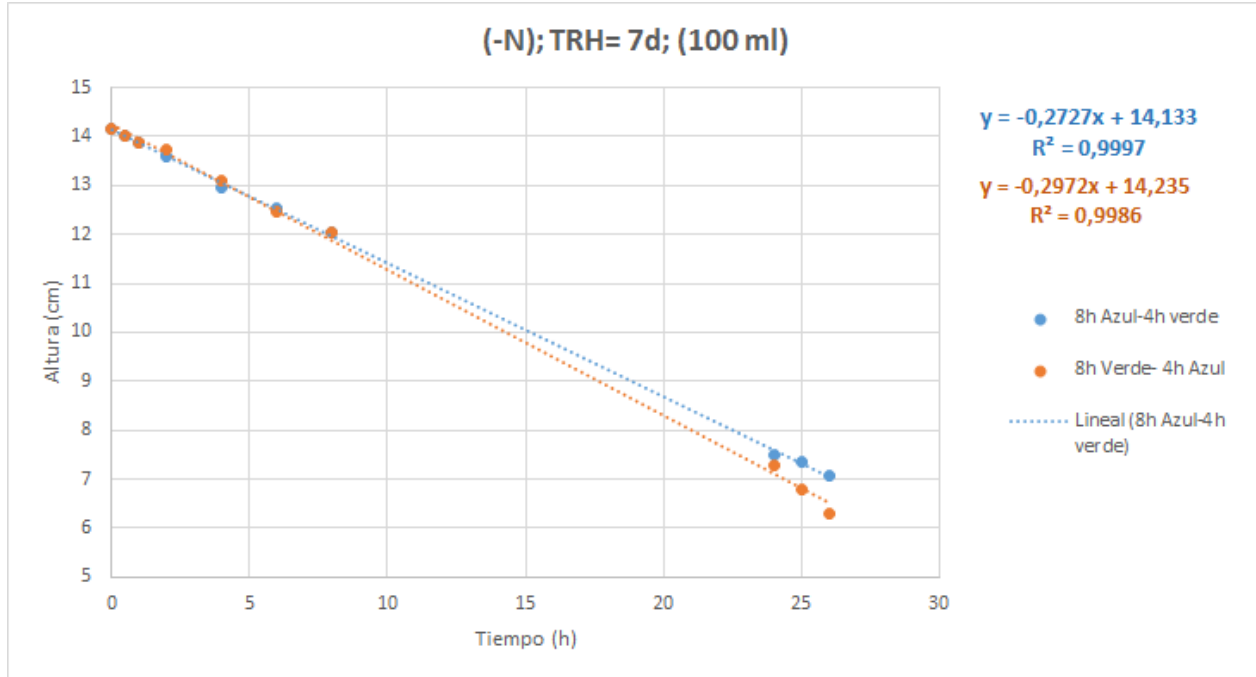


Figura 9.Velocidad de sedimentación (-N).

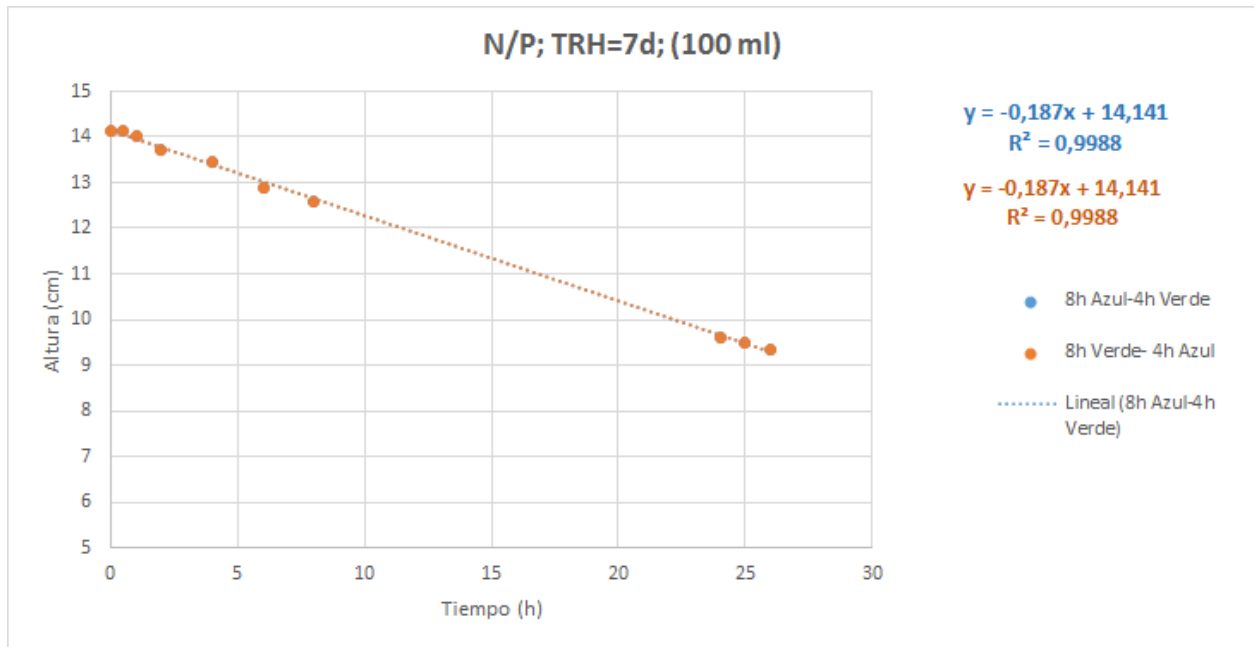


Figura 10. Velocidad de sedimentación (N/P)

La máxima velocidad de Sedimentación en el sistema, a un Tiempo de Retención Hidráulico de 7 días, es aquella alcanzada en las condiciones -P y fotoperiodos de luz de 8h Azul- 4h Verde- 12h Oscuridad (0.318 cm/h), misma condición en el sistema donde se removió mayor cantidad de P-PO₄ en el sistema (100%) y Se generó mayor cantidad de lípidos (43.65%). Las condiciones asociadas al estrés en el cultivo (-N y -P) evidenciaron la mayor velocidad de sedimentación, condiciones que fueron mayores en términos de producción de carbohidratos en el sistema (241.5% y 74.9%, respectivamente).

El proceso de biofloculación del que habla Lee et. al (2013) aplica para el sistema microalga-bacteria, en este proceso, los EPS han demostrado tener cierta influencia en el parámetro de sedimentabilidad del cultivo (Nguyen, 2020). En este experimento, se evidencia que la máxima velocidad de sedimentación (0.318 cm/h) se alcanza en las condiciones nutricionales -P y de luz 8h azul-4h verde, condiciones en las que las proteínas de los EPS disminuyen (-7.30%) y los exopolisacáridos aumentan (2.79%)

3.1.5. Características Bioquímicas

3.1.5.1 Proteínas

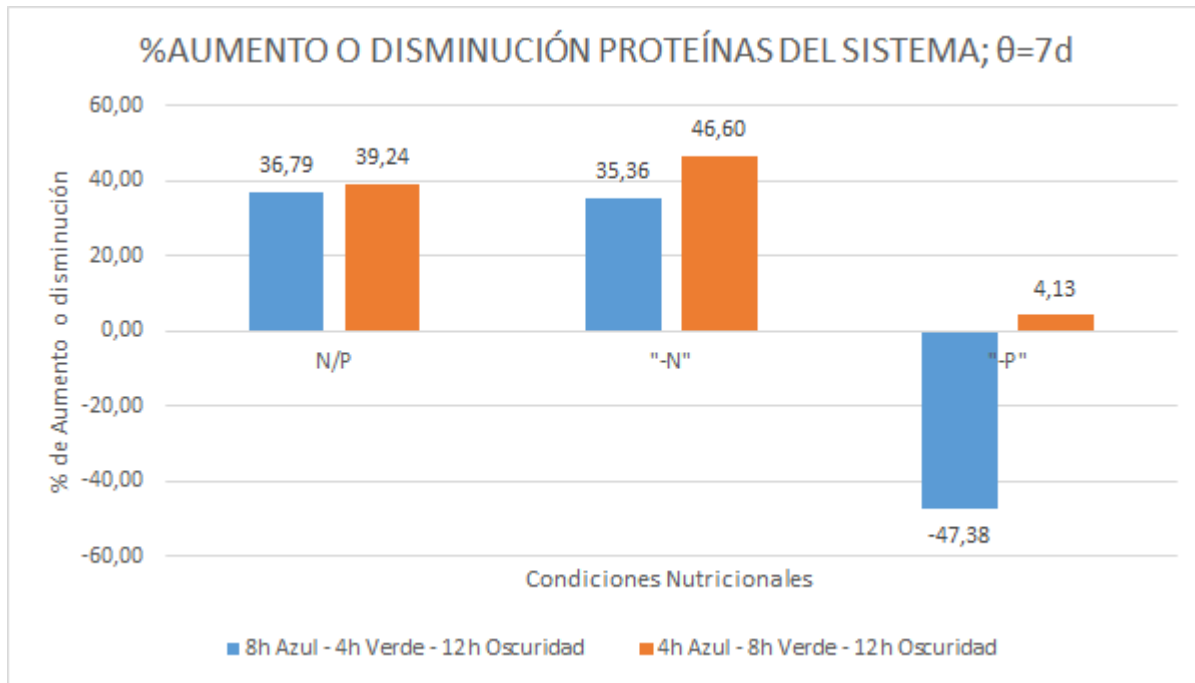


Figura 11. %Aumento o disminución de Proteínas del Sistema a TRH=7d.

El Tiempo de Retención Hidráulico de 7d para el sistema Algal evidencia que la producción de Proteínas en el sistema es mayor cuando se trata de un medio rico o con suficiente fósforo, el valor de mayor magnitud es aquel con una relación N/P Baja a la condición de luz 4h Azul- 8h Verde- 12h Oscuridad (46.60%) Al unísono se evidencia que independiente de la limitación Nutricional, la longitud de Onda donde prevalece el color verde sobre el Azul tiene la característica de Generar mayor cantidad de Proteínas. Se puede evidenciar el comportamiento de la ruta metabólica enunciado por Markou, Angelidaki y Georgakakis (2012) de priorizar la síntesis de carbohidratos y lípidos en el sistema sobre las proteínas, en este caso, la variación de la síntesis de proteínas se

ve evidenciado en las condiciones nutricionales -P (-47.38% de disminución en el contenido de proteínas a condiciones 8h azul- 4h verde). Contrario a la literatura, las proteínas en el sistema a condiciones nutricionales -N, presentan el valor más alto de aumento (46.60%), la razón de esto puede radicar en las condiciones de luz del sistema (irradiancia, longitud de onda y fotoperiodo), al igual que del TRH del mismo. En base al comportamiento del fotoperiodo mixto 8h azul-4h verde, se puede aseverar que a un TRH=7d, la producción del sistema en términos de proteínas es inferior que su contraparte (8h verde-4h azul). De igual manera, cabe aclarar que la condición nutricional -P contiene una relación N/P alta, lo que podría explicar el resultado obtenido en el experimento.

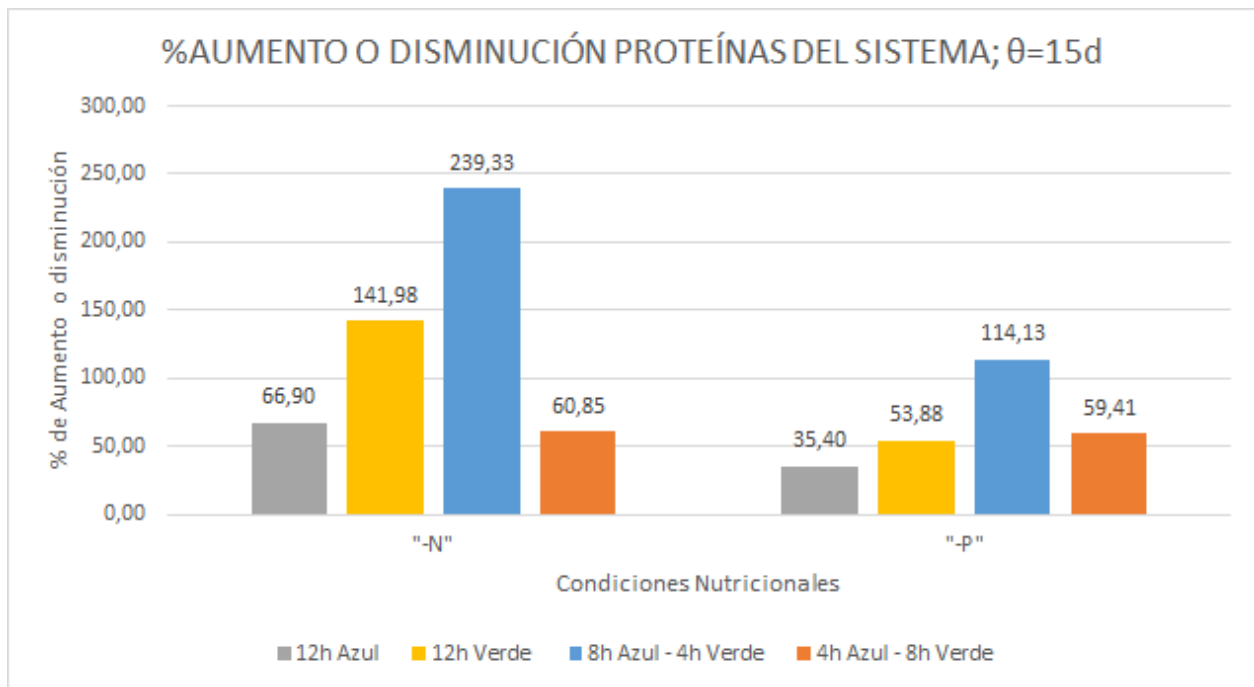


Figura 12. %Aumento o disminución de Proteínas en el sistema a TRH=15d.

Al momento de evaluar la Generación o Disminución de Proteínas, cuando el TRH=15d del sistema Microalga-Bacteria, se evidencia que la relación de nutrientes es un limitante del proceso, esto se asevera debido al comportamiento de los datos, pues aquellos relacionados con las condiciones -N son, a toda condición de Luz, mayores a aquellos evidenciados en la limitación -P. El valor máximo

de Aumento o Generación de proteínas en el sistema se evidencia en la condición Nutricional -N bajo un fotoperiodo mixto de 8h Azul- 4h Verde- 12h Oscuridad (239.33% de aumento de proteínas). Se evidencia que, a ambas condiciones nutricionales, el desempeño del sistema en términos de producción de proteínas es mayor cuando el fotoperiodo de luz es mixto (8h azul-4h verde). La luz azul según Bahman et. al (2020), es asociada a los valores de mayor producción en el sistema de proteínas. Lo anterior significa que, al someter al sistema a condiciones de luz mixtas y con prelación por el color azul, se generan mayores valores de aumento en proteínas, tanto en condiciones -N, como en -P (239.33% y 114.13%, respectivamente).

3.1.5.2 Carbohidratos

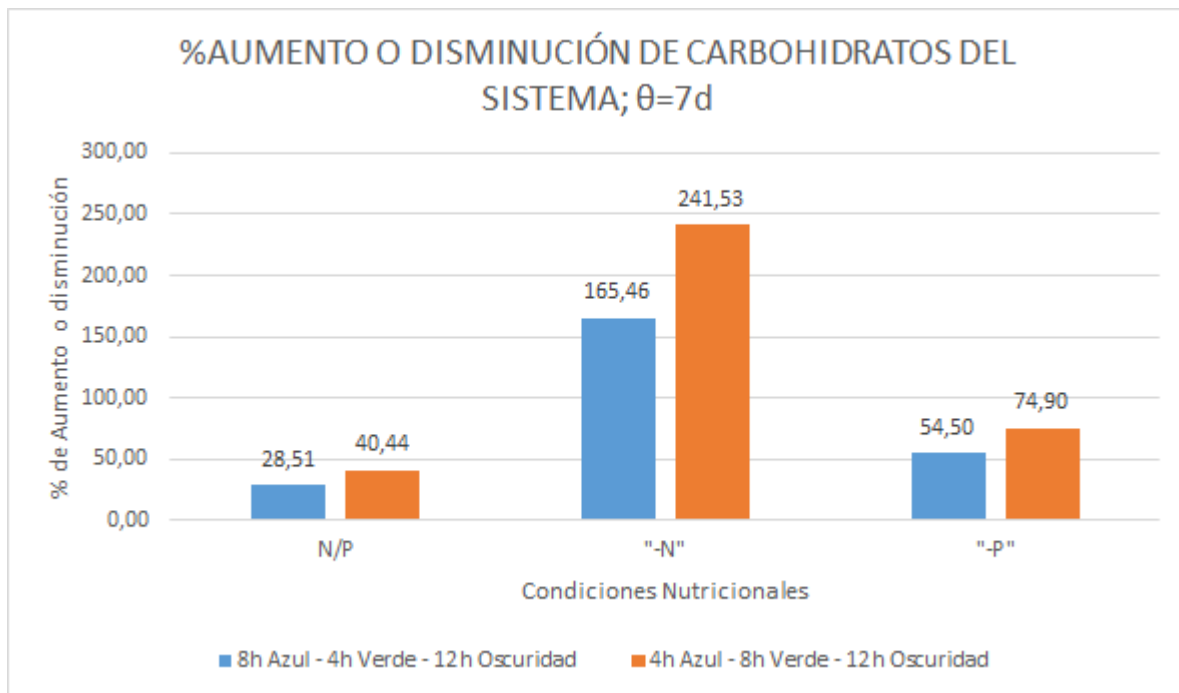


Figura 13. % Aumento o Disminución de Carbohidratos en el sistema a TRH=7d.

Considerando un $\Theta=7d$, el sistema Microalgal Bacteria produce la mayor cantidad de carbohidratos, cuando el sistema se encuentra expuesto a las limitaciones nutricionales que se denominan condiciones de estrés (-N y -P), sin embargo, cuando la relación de N/P es baja, se

alcanzan los valores máximos de generación de carbohidratos en el sistema, siendo la condición de Luz 4h Azul-8h Verde-12h Oscuridad aquella de mayor valor (241.53%).

Según Kamiya y Saitoh (2002), la luz azul es responsable del consumo de las reservas de carbohidratos en el sistema, esto puede explicar que a un TRH=7d, independiente de la condición nutricional, la condición de fotoperiodo donde es mayor el tiempo de exposición a luz azul (8h azul-4h verde), sea siempre menor a aquella donde prevalece el color verde (8h verde-4h azul), este fenómeno es evidenciado también por Marchetti et. al (2013) el cual, en un reactor tipo quimiostato, encontró que la luz azul provoca valores inferiores en el contenido de carbohidratos en el sistema que con otras longitudes de onda. Además, la longitud de onda a la cual se alcanzan mayores resultados de carbohidratos en un reactor tipo batch es la verde (Abiusi et. al (2014); Rendón et. al (2013)).

En términos de nutrientes, la razón de que los valores más altos de carbohidratos acumulados en el sistema se encuentren a condiciones de nutrientes de escasez de nitrógeno radica en el proceso de la fotosíntesis que, en condiciones de bajo nitrógeno, disminuye la fijación de carbono en el sistema, lo que se traduce en la priorización de las rutas metabólicas de la síntesis de carbohidratos y lípidos sobre la ruta metabólica de síntesis de proteínas (Markou, Angelidaki y Georgakakis, 2012). Comparando el valor máximo obtenido a condiciones -N (241.53%) con aquellas obtenidas bajo la misma condición nutricional por Brányiková et. al (2011) (38%), se evidencia una diferencia considerable (en el orden de 6 veces el valor de referencia), esta radica en las condiciones del proceso, pues Brányiková no emplea focos de luz a diferentes longitudes de onda y la condición de irradiancia es diferente ($23 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 * \text{s})$).

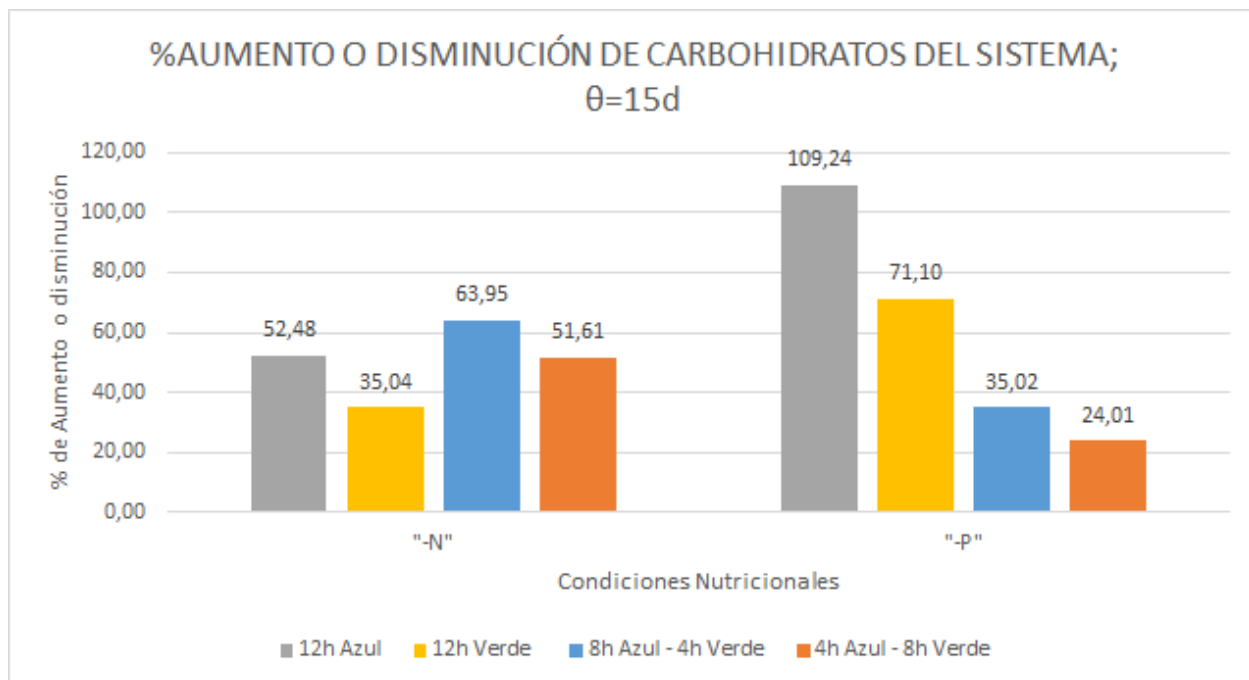


Figura 14. % Aumento o disminución de Carbohidratos del sistema a TRH=15d.

El aumento o disminución de carbohidratos en el sistema con un $\Theta = 15d$ sometido a la condición de estrés -N evidencia mayor porcentaje cuando su condición de Luz es de 8h azul y 4h verde (63.95%); mientras que si su condición de estrés es -P su mayor porcentaje es alcanzado con un fotoperiodo de 12h de led azul (109.24%). Cuando el sistema se encuentra en condiciones -N, se desempeñan mejor (en términos de producción de carbohidratos), aquellos fotoperiodos mixtos compuestos por las longitudes de onda verde y azul, mientras que, si el sistema se encuentra bajo condiciones de escasez de fósforo, los fotoperiodos compuestos de una longitud de onda, presentan mayores valores.

Revisando la influencia del fósforo en el sistema microalgal, se evidencia que cuando el fósforo es bajo en el sistema, el gliceraldehido-3-fosfato es retenido en el cloroplasto, y los carbohidratos son sintetizados (Taiz and Zeiger, 2010). Según Dean et. al (2008), el efecto de las condiciones bajas en fósforo es el de la acumulación simultánea de lípidos y carbohidratos, este

puede evidenciarse en estos resultados, lo que es contrario a la teoría es que el valor máximo de producción de carbohidratos se produce cuando la longitud de onda es azul, longitud de onda que es atribuida al consumo de carbohidratos, la razón de esto puede radicar en varios factores, tales como: irradiancia, el fotoperiodo 12:12, las condiciones nutricionales y el TRH del sistema.

3.1.5.3 Lípidos

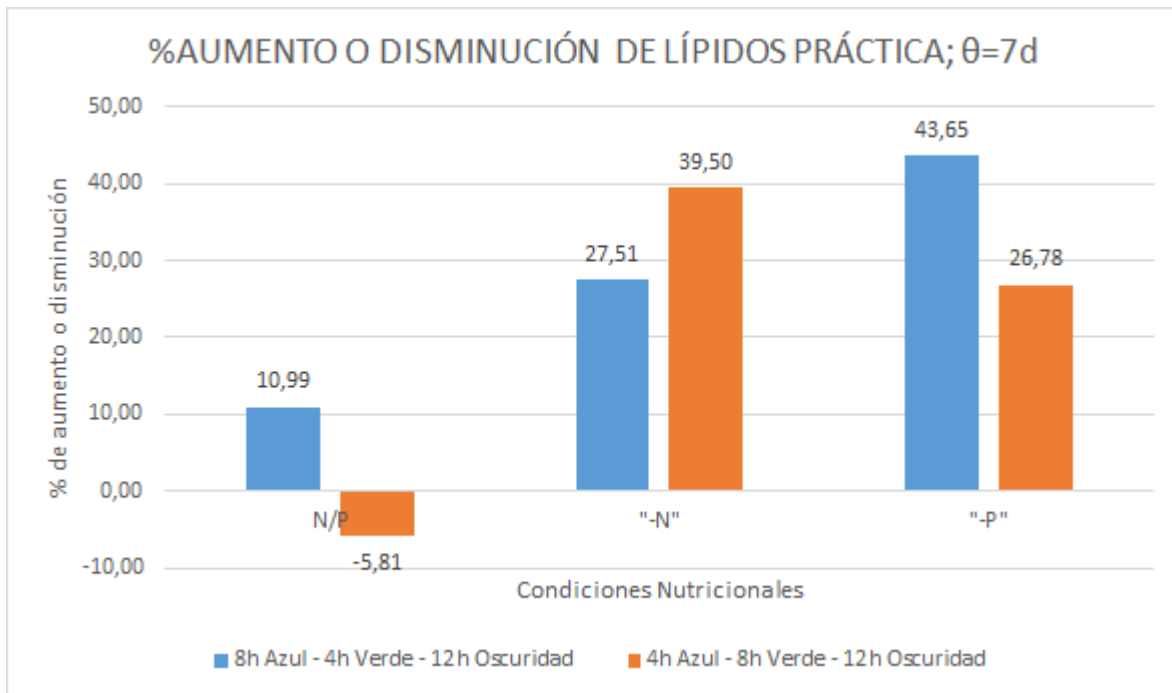


Figura 15. % Aumento o disminución de lípidos a TRH=7d.

Al momento de analizar el aumento o disminución de lípidos con un $\Theta = 7d$ obtenemos que cuando el sistema se encuentra sometido a condiciones nutricionales de (N/P) alcanza su mayor disminución llegando a porcentajes negativos (-5.81%), mientras que alcanza su mayor porcentaje de aumento sometido a condiciones de estrés de -P y condiciones de luz 8h azul-4h verde (43.65%). En este inciso se evidencia de manera marcada que los Lípidos son acumulados en el sistema bajo condiciones de estrés, tanto en el fósforo (Taiz and Zeiger, 2010), como en el nitrógeno (Markou,

Angelidaki y Georgakakis, 2012), evidenciando que la ruta metabólica que sigue el cultivo depende de las condiciones nutricionales, en este caso es la síntesis de lípidos. Comparando los datos enunciados por Ferreira et. al (2019) para condiciones nutricionales -N (70%), los datos obtenidos son menores, la razón de esto puede depender de la especie presente en el agua residual, pues el 70% reportado por Ferreira et. al es en un medio de cultivo con el alga *Botryococcus genus*, la cual es un alga que en específico muestra una mayor producción de lípidos que otras microalgas, otra razón del cambio en los datos es el TRH, pues el TRH afecta también el parámetro del que trata este inciso.

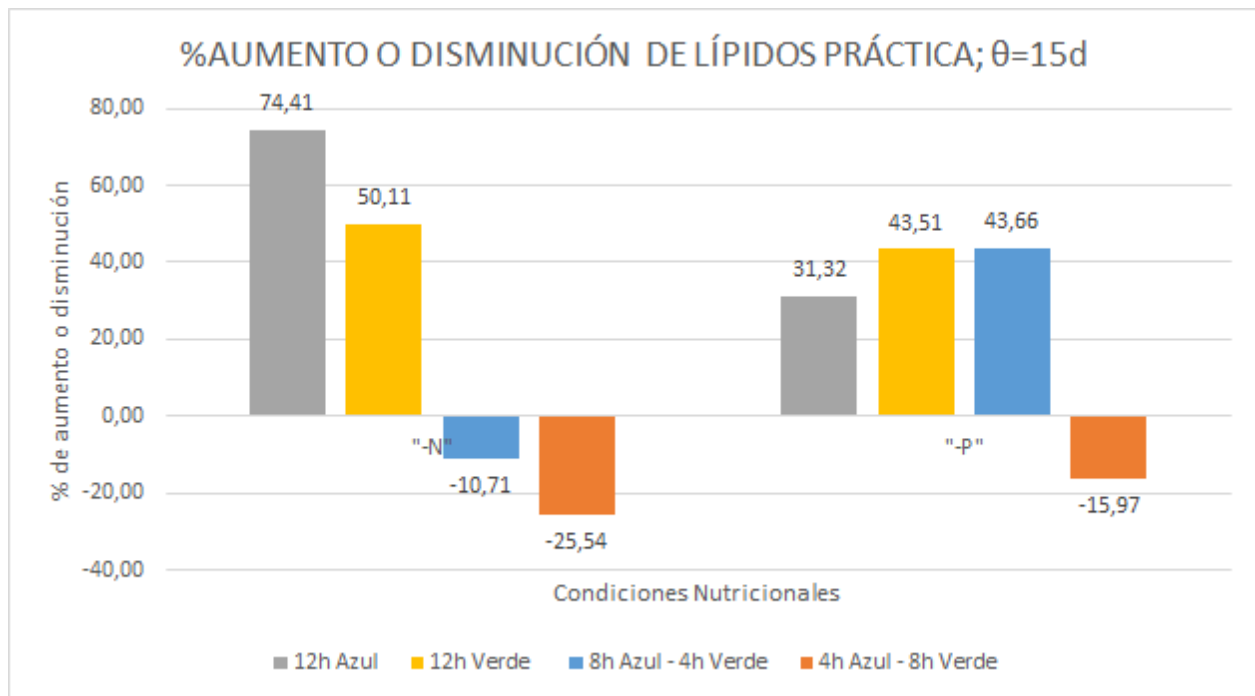


Figura 16. %Aumento o disminución de Lípidos del sistema a TRH=15d.

Analizando el aumento o disminución de lípidos con un $\Theta = 15d$ observamos que cuando el sistema se encuentra en intervalos iguales a 4h azul y 8h verde tiene su mayor disminución en ambas condiciones de estrés -N (-25.54%) y -P (-15.97%), sin embargo, cuando sus condiciones de luz son 12h azul en condiciones nutricionales -N, alcanza su mayor porcentaje (74.41%), que

comparándolo con aquel parámetro enunciado por Ferreira et. al (2018) (de 70% de producción de lípidos) resulta mayor, lo cual prueba que el TRH del sistema es un factor importante a la hora de evaluar el contenido de lípidos y, además, la condición de luz puede optimizar la producción de lípidos. En condiciones -P, sus mayores porcentajes son frente a la irradiancia de 12h verde (43.51%) y 8h azul-4h verde (43.66%), evidenciando una diferencia mínima.

4. Capítulo IV

4.1 Conclusiones

- Cuando el TRH=7d, el fotoperiodo mixto compuesto de las longitudes de onda azul y verde en configuración 8h azul:4h verde presenta la mayor sedimentabilidad del sistema (0.38cm/h), representa la máxima generación de lípidos del sistema (43.65%) y remueve ortofosfatos (100%) a condiciones nutricionales de escaso fósforo (-P), lo que considerando el potencial biotecnológico de la biomasa y más específicamente los lípidos del sistema para producción de biocombustibles, resulta de gran interés
- Si el sistema cuenta con un TRH=7d, la condición de luz 8h azul:4h verde representa la mayor remoción de fosfatos (100%) y nitrógeno amoniacal (53%) en las condiciones nutricionales -P y -N respectivamente
- En términos de los mecanismos de transformación de nitrógeno, se evidencia que siempre y cuando las condiciones nutricionales de relación N/P sean bajas, la nitrificación en el sistema es mínima o nula, lo cual significa que el sistema sigue los mecanismos de Asimilación e inclusive, como puede ser evidenciado con los valores negativos en el Inciso “Remoción de Nutrientes” siguen el de Amonificación.
- En cuanto a la producción de EPS, Lípidos y proteínas en el sistema, se evidencia que, cuando el TRH=15d, se producen mayor cantidad de estos componentes cuando el sistema tiene una baja relación de N/P, es decir, cuando se denomina la condición Nutricional -N, dependiendo del Compuesto a generar, se debe emplear una condición de luz en específico. ej. Para producir Lípidos, se recomienda el someter al sistema a condiciones de Luz de 12h Azul-12h oscuridad.
- Las condiciones nutricionales del sistema pueden significar la prelación de una ruta metabólica sobre otra, es decir, cuando el sistema se encuentra bajo en niveles de nitrógeno (-N) y Fósforo (-P) es cuando mayor cantidad de lípidos (43.56% a 8h azul:4h verde, -P y TRH=7d) y carbohidratos (241.53% a 12h azul , -N y TRH=7d) son producidos en el sistema microalga-bacteria.

- Las condiciones óptimas de N/P son aquellas a las cuales se logra una mayor remoción de DQO en el sistema (72% a 8h verde: 4h azul), valor mayor que aquellos alcanzados cuando el sistema se encontraba a condiciones de TRH=15d (65% a 12h verde y -P).

4.2 Recomendaciones

- Se recomienda evaluar nuevamente las condiciones de irradiancia y su influencia en el sistema bajo las condiciones de luz empleadas en este estudio.
- Se sugiere realizar un análisis de resultados más periódicamente con el fin de proponer mejoras durante el proceso e ir entendiendo con mayor facilidad el funcionamiento de la remoción para un análisis final.
- Se recomienda la utilización de otro tipo de reactores para realizar un análisis con respecto al reactor de Batch, el cual fue utilizado en este caso.
- Se recomienda la implementación de otro tipo de Microalgas, nativas de una fuente diferente para realizar una comparación en cuanto a su efectividad en el desarrollo, crecimiento y remoción y poder concluir que factores aledaños a la fuente pueden causar este fenómeno.

Referencias

Abiusi, F. et al. (2014) Growth, photosynthetic efficiency, and biochemical composition of *Tetraselmis suecica* F&M-M33 grown with LEDs of different colors. *Biotechnol. Bioeng.* 111, 956–964

Acién, F.G., Gómez-Serrano, C., Morales-Amaral, M., Fernández-Sevilla, J., Molina-Grima, E., 2016. Wastewater treatment using microalgae: ¿how realistic a contribution might it be to significant urban wastewater treatment? *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 100, 9013–9022.

Arbib, Z., Ruiz, J., Álvarez-Díaz, P., Garrido-Pérez, C., Barragan, J., Perales, J.A., 2013. Long term outdoor operation of a tubular airlift pilot photobioreactor and a high rate algal pond as tertiary treatment of urban wastewater. *Ecol. Eng.* 52, 143–153. doi:10.1016/j.ecoleng.2012.12.089

Arcila, J.S (2019). GENERACIÓN DE GRÁNULOS Y AGLOMERADOS MICROALGA - BACTERIA PARA EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES MUNICIPALES Y PRODUCCIÓN DE METANO (tesis doctoral). UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO, México, D.F.

Arcila, J.S., Buitrón, G., 2016. Microalgae – bacteria aggregates : effect of the hydraulic retention time on the municipal wastewater treatment , biomass settleability and methane potential. *J. Chem Technol Biotechnol* 91, 2862–2870. doi:10.1002/jctb.4901

Arcila, J.S., Buitrón, G., 2017. Influence of solar irradiance levels on the formation of microalgae-

bacteria aggregates for municipal wastewater treatment. *Algal Res.* 27, 190-197.
doi:10.1016/j.algal.2017.09.011

Arboleda, J. Teoría y práctica de la purificación del agua. Tercera Edición. Vol. 1. 2000.

AZAM F, T FENCHEL, JG FIELD, JS GRAY, LA MEYER-REIL & F THINGSTAD (1983) The ecological role of water-column microbes in the sea. *Marine Ecology Progress Series* 10: 257-263.

BERLAND BR, DJ BONIN & SY MAESTRINI (1970) Study of bacteria associated with marine algae in culture. III. Organic substrates supporting growth. *Marine Biology* 5: 68-76.

BIRD DF & J KALFF (1984) Empirical relationships between bacterial abundance and chlorophyll concentration in fresh and marine water. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* 41: 1015-1023.

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. doi:10.1016/j.algal.2013.09.004

Craggs, R.J., McAuley, P.J., Smith, V.J., 1997. Wastewater nutrient removal by marine microalgae grown on a corrugated raceway. *Water. Res.* 31, 1701–1707. doi:10.1016/S0043-1354(96)00093-

0

Craggs, R. J., Zwart, A., Nagels, J. W., & Davies-Colley, R. J. (2004). *Modelling sunlight disinfection in a high rate pond. Ecological Engineering, 22(2), 113–122.*
doi:10.1016/j.ecoleng.2004.03.001

Chen P, Min M, Chen Y, Wang L, Li Y, Chen Q, et al. Review of biological and engineering aspects of algae to fuels approach. *Int J Agric Biol Eng* 2010;2:1–30

Chen Y., Vaidyanathan S. “Simultaneous assay of pigments, carbohydrates, proteins and lipids in microalgae”, *Analytica Chimica Acta*, 776 (2013), 31-40.

Chen, C.Y., Yeh, K.L., Aisyah, R., Lee, D.J., Chang, J.S., 2011. Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: a critical review. *Bioresource Technology* 102, 71–81.

Cheirsilp, B., Torpee, S., 2012. Enhanced growth and lipid production of microalgae under mixotrophic culture condition: effect of light intensity, glucose concentration and fed-batch cultivation. *Bioresource Technology* 110, 510–516.

Colak, O., Kaya, Z., 1988. A study on the possibilities of biological wastewater treatment using algae. *Dogs Biyoloji Serisi* 12 (1), 18–29

Cromar, N.J., Fallowfield, H.J., Martin, N.J., 1996. Influence of environmental parameters on biomass production and nutrient removal in a high rate algal pond operated by continuous culture. *Water. Sci. Technol.* 34, 133–140. doi:10.1016/S0273-1223(96)00830-X

Das, P., Lei, W., Aziz, S.S., Obbard, J.P., 2011. Enhanced algae growth in both phototrophic and mixotrophic culture under blue light. *Bioresour. Technol.* 102, 3883–3887.

de Godos, I., Blanco, S., García-Encina, P. a, Becares, E., Muñoz, R., 2009. Long-term operation of high rate algal ponds for the bioremediation of piggy wastewaters at high loading rates. *Bioresour. Technol.* 100, 4332–9. doi:10.1016/j.biortech.2009.04.016

de Godos, I., Blanco, S., García-Encina, P.A., Becares, E., Muñoz, R., 2010. Influence of flue gas sparging on the performance of high rate algal ponds treating agro-industrial wastewaters. *J. Hazard. Mater.* 179, 1049–1054. doi:10.1016/j.jhazmat.2010.03.112

De Schryver, P., Crab, R., Defoirdt, T., Boon, N., Verstraete, W., 2008. The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture. *Aquaculture* 277, 125–137. doi:10.1016/j.aquaculture.2008.02.019

Degen, J., Uebele, A., Retze, A., Schmidt-Staiger, U. y Trosch, W. A. 2001. A novel airlift photobioreactor with baffles for improved light utilization through flashing light effect. *Journal of Biotechnology*. 92(2): 89-94.

Demirbas A. y Demirbas M. F., 2010. *Algae Energy: Algae as a New Source of Biodiesel*. Springer London Dordrecht Heidelberg New York. e-ISBN 978-1-84996-050-2 Departamento de Energía de los Estados Unidos. 2011. *International energy outlook 2011*. Washington: AIE.

DOE (2016) National Algal Biofuels Technology Review

Ehling-Schulz, M., Bilger, W., & Scherer, S. (1997). UV-B-induced synthesis of photoprotective pigments and extracellular polysaccharides in the terrestrial cyanobacterium *Nostoc commune*. *Journal of Bacteriology*, 179, 1940–1945

Ferreira, G. F., Ríos Pinto, L. F., Maciel Filho, R., & Fregolente, L. V. (2019). *A review on lipid production from microalgae: Association between cultivation using waste streams and fatty acid profiles*. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 109, 448–466. doi:10.1016/j.rser.2019.04.052

Fukami, K., Nishijima, T., Ishida, Y., 1997. Stimulative and inhibitory effects of bacteria on the growth of microalgae. *Hydrobiologia* 358, 185–191

García, J., Green, B.F., Lundquist, T., Mujeriego, R., Hernández-Mariné, M., Oswald, W.J., 2006. Long term diurnal variations in contaminant removal in high rate ponds treating urban wastewater. *Bioresour. Technol.* 97, 1709–1715. doi:10.1016/j.biortech.2005.07.019

Gong, M., Bassi, A., 2016. Carotenoids from microalgae : A review of recent developments. *Biotechnol. Adv.* 34, 1396–1412. doi:10.1016/j.biotechadv.2016.10.005

Greenwell, H., Laurens, L., Shields, R., Lovitt, R., Flynn, K., 2009. Placing microalgae on the biofuels priority list: a review of the technological challenges. *J. R. Soc. Interfac.*, rsif20090322

Han, P., Sun, Y., Jia, S., Zhong, C., & Tan, Z. (2014). *Effects of light wavelengths on extracellular and capsular polysaccharide production by Nostoc flagelliforme. Carbohydrate Polymers, 105, 145–151.* doi:10.1016/j.carbpol.2014.01.061

Hernández-Pérez, A., & Labbé, J. I. (2014). *Microalgas, cultivo y beneficios. Revista de Biología Marina y Oceanografía, 49(2), 157–173.* doi:10.4067/s0718-19572014000200001

Hongyang, S., Yalei, Z., Chunmin, Z., Xuefei, Z., & Jinpeng, L. (2011). *Cultivation of Chlorella pyrenoidosa in soybean processing wastewater. Bioresource Technology, 102(21), 9884–9890.* doi:10.1016/j.biortech.2011.08.016

Kamiya, A. and Saitoh, T. (2002) Blue-light-control of the uptake of amino acids and of ammonia in *Chlorella* mutants. *Physiol. Plant* 116, 248–254

Kim, B.-H., Kang, Z., Ramanan, R., Choi, J.-E., Cho, D.-H., Oh, H.-M., Kim, H.-S., 2014. Nutrient removal and biofuel production in high rate algal pond using real municipal wastewater. *J. Microbiol. Biotechnol.* 24, 1123–32

Kim, D.-G., La, H.-J., Ahn, C.-Y., Park, Y.-H., & Oh, H.-M. (2011). *Harvest of Scenedesmus sp. with bioflocculant and reuse of culture medium for subsequent high-density cultures. Bioresource Technology, 102(3), 3163–3168.* doi:10.1016/j.biortech.2010.10.108

Kim, T.-H., Lee, Y., Han, S.-H., & Hwang, S.-J. (2013). *The effects of wavelength and wavelength mixing ratios on microalgae growth and nitrogen, phosphorus removal using Scenedesmus sp. for wastewater treatment. Bioresource Technology, 130, 75–80.* doi:10.1016/j.biortech.2012.11.134

Larsdotter, K., Jansen, J.L.C., Dalhammar, G., 2010. Phosphorus removal from wastewater by microalgae in Sweden--a year-round perspective. *Environ. Technol. 31, 117–123.* doi:10.1080/09593330903382815

Lee, J., Cho, D.-H., Ramanan, R., Kim, B.-H., Oh, H.-M., Kim, H.-S., 2013. Microalgae-associated bacteria play a key role in the flocculation of *Chlorella vulgaris*. *Bioresour. Technol. 131, 195–201.*

Mahsa Bahman, Marjan Aghanoori, Hasan Jalili, Ali Bozorg, Soroosh Danaee, Mehdi Esmaili Bidhendi & Abdeltif Amrane (2020) Effect of light intensity and wavelength on nitrogen and phosphate removal from municipal wastewater by microalgae under semi-batch cultivation, *Environmental Technology*, DOI: [10.1080/09593330.2020.1829087](https://doi.org/10.1080/09593330.2020.1829087)

Marchetti, J. et al. (2013) Effects of blue light on the biochemical composition and photosynthetic activity of *Isochrysis* sp. (T-iso). *J. Appl. Phycol.* 25, 109–119

Markou, G., Angelidaki, I., & Georgakakis, D. (2012). *Microalgal carbohydrates: an overview of the factors influencing carbohydrates production, and of main bioconversion technologies for production of biofuels.* *Applied Microbiology and Biotechnology*, 96(3), 631–645. doi:10.1007/s00253-012-4398-0

Mata, T.M., Martins, A. a., Caetano, N.S., 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 14, 217–232. doi:10.1016/j.rser.2009.07.020

Mendez, L., Mahdy, A., Ballesteros, M., González-Fernández, C., 2015. *Chlorella vulgaris* vs cyanobacterial biomasses: Comparison in terms of biomass productivity and biogas yield. *Energy Convers. Manag.* 92, 137–142. doi:10.1016/j.enconman.2014.11.050

Milledge, J.J., Heaven, S., 2013. A review of the harvesting of micro-algae for biofuel production. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* 12(2), 165-178.

Muñoz, R., Guieysse, B., 2006. Algal-bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: a review. *Water Res.* 40, 2799–815. doi:10.1016/j.watres.2006.06.011

Mustafa, E.M., Phang, S.M., Chu, W.L., 2012. Use of an algal consortium of five algae in the treatment of landfill leachate using the high-rate algal pond system. *J. Appl. Phycol.* 24, 953–963. doi:10.1007/s10811-011-9716-x

Nguyen, T. D. P., Le, T. V. A., Show, P. L., Nguyen, T. T., Tran, M. H., Tran, T. N. T., & Lee, S. Y. (2018). Bioflocculation formation of microalgae-bacteria in enhancing microalgae harvesting and nutrient removal from wastewater effluent. *Bioresource Technology*. doi:10.1016/j.biortech.2018.09.146

Nguyen, T. D. P., TuanVo, C., Nguyen-Sy, T., Tran, T. N. T., Le, T. V. A., Chiu, C.-Y., ... Loke, S. P. (2020). Utilization of Microalgae for Self-regulation of extracellular polymeric substance production. *Biochemical Engineering Journal*, 107616. doi:10.1016/j.bej.2020.107616

N. Abdel-Raouf, A.A. Al-Homaidan, I.B.M. Ibraheem, Microalgae and wastewater treatment, *Saudi Journal of Biological Sciences*, Volume 19, Issue 3, 2012, Pages 257-275, ISSN 1319-562X, <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2012.04.005>.

Olguín, E.J., Galicia, S., Mercado, G., Pérez, T., 2003. Annual productivity of *Spirulina* (*Arthrospira*) and nutrient removal in a pig wastewater recycling process under tropical conditions. *J. Appl. Phycol.* 15, 249–257. doi:10.1023/A:1023856702544

Olguín, E.J., 2012. Dual purpose microalgae-bacteria-based systems that treat wastewater and produce biodiesel and chemical products within a biorefinery. *Biotechnol. Adv.* 30, 1031–46. doi:10.1016/j.biotechadv.2012.05.001

Oswald, W.J., Golueke, C.G., 1960. Biological transformation of solar energy. *Adv Appl Microbiol* 2:223–262

Oswald, W., Gotaas, H., Golueke, C., Kellen, W., Gloyna, E., Hermann, E., 1957. Algae in waste treatment [with discussion]. *Sew Ind Wastes* 29, 437–457

Park, J.B.K., Craggs, R.J., 2011a. Algal production in wastewater treatment high rate algal ponds for potential biofuel use. *Water Sci. Technol.* 63, 2403–2410. doi:10.2166/wst.2011.200

Park, J.B.K., Craggs, R.J., 2011b. Nutrient removal in wastewater treatment high rate algal ponds with carbon dioxide addition. *Water Sci. Technol.* 63.8, 1758–1764. doi:10.2166/wst.2011.114

Pérez Pasos J., Fernández Izquierdo P. “Synthesis of neutral lipids in *Chlorella* sp. under different light and carbonate conditions”, *Ciencia, Tecnología y Futuro*, 4 (2011).

Posadas, E., Muñoz, A., García-González, M.C., Muñoz, R., García-Encina, P.A., 2014. A case study of a pilot high rate algal pond for the treatment of fish farm and domestic wastewaters. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* n/a-n/a. doi:10.1002/jctb.4417

Ra, C. H., Kang, C.-H., Jung, J.-H., Jeong, G.-T., & Kim, S.-K. (2016). *Enhanced biomass production and lipid accumulation of Picochlorum atomus using light-emitting diodes (LEDs)*. *Bioresource Technology*, 218, 1279–1283. doi:10.1016/j.biortech.2016.07.078

Ramus, J. (1972). The production of extracellular polysaccharide by the unicellular red alga *Porphyridium aerugineum*. *J. Phycol.*, 8, 97-111. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.1972.tb04007.x>

Rendón, S.M. et al. (2013) Effect of carbon dioxide concentration on the growth response of *Chlorella vulgaris* under four different LED illumination. *Int. J. Biotechnol. Wellness Ind.* 2, 125–131

Richmond, A., 2003. Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology. In: Masojídek, J., Koblížek, M., Torzillo, G. (Eds.), *Photosynthesis in Microalgae*. Blackwell Publishers, pp. 20–39

Rittman, B. 2008. Opportunities for renewable bioenergy using microorganisms. *Biotechnology and bioengineering*.100(2):203-12.

Robles-Medina, A., González-Moreno, P. A., Esteban-Cerdán, L. y Molina-Grima, E. 2009. Biocatalysis: Towards ever greener biodiesel production. *Biotechnology Advances*. 27(4): 398–408.

ROMERO ROJAS, J. A. (2005). *TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES; TEORIA Y PRINCIPIOS DE DISEÑO* (3a. ed., 2a. reimp.). BOGOTA: ESCUELA COLOMBIANA DE INGENIERIA.

Salgueiro, J., Perez, L., Maceiras, R., Sanchez, A., Cancela, A. (2016). Bioremediation of Wastewater using *Chlorella Vulgaris* Microalgae: Phosphorus and Organic Matter. *International Journal of Environmental Research*, 10(3), 465-470. doi: 10.22059/ijer.2016.58766

Schenk, P. M., Thomas-Hall, S. R., Stephens, E., Marx, U. C., Mussnug, J. H., Posten, C., y otros. 2008. Second generation biofuels: high-efficiency microalgae for biodiesel production. *Bioenergy Resource*. 1: 20-43

Schulze, P. S. C., Barreira, L. A., Pereira, H. G. C., Perales, J. A., & Varela, J. C. S. (2014). Light emitting diodes (LEDs) applied to microalgal production. *Trends in Biotechnology*, 32(8), 422–430. doi:10.1016/j.tibtech.2014.06.001

Schulze, P. S. C., Guerra, R., Pereira, H., Schüler, L. M., & Varela, J. C. S. (2017). *Flashing LEDs for Microalgal Production. Trends in Biotechnology*, 35(11), 1088–1101. doi:10.1016/j.tibtech.2017.07.011

Shilton, A., Mara, D., Craggs, R., Powell, N., 2008. Solar-powered aeration and disinfection, anaerobic co-digestion, biological CO₂ scrubbing and biofuel production: the energy and carbon management opportunities of waste stabilisation ponds. *Water. Sci. Technol* 58, 253

Sialve, B., Bernet, N., Bernard, O., 2009. Anaerobic digestion of microalgae as a necessary step to make microalgal biodiesel sustainable. *Biotechnol. Adv.* 27, 409–16. doi:10.1016/j.biotechadv.2009.03.001

Sirisuk, P., Ra, C.-H., Jeong, G.-T., & Kim, S.-K. (2018). *Effects of wavelength mixing ratio and photoperiod on microalgal biomass and lipid production in a two-phase culture system using LED illumination. Bioresource Technology, 253, 175–181.* doi:10.1016/j.biortech.2018.01.020

Sutherland, D.L., Turnbull, M.H., Broady, P.A., Craggs, R.J., 2014. Effects of two different nutrient loads on microalgal production, nutrient removal and photosynthetic efficiency in pilot-scale wastewater high rate algal ponds. *Water. Res.* 66, 53–62. doi:10.1016/j.watres.2014.08.010

Taiz L, Zeiger E (2010) *Plant physiology*, 5th edn. Sinauer Associates, Sunderland

Termini, I.D., Prassone, A., Cattaneo, C., Rovatti, M., 2011. On the nitrogen and phosphorus removal in algal photobioreactors. *Ecol. Eng.* 37, 976–980.

Tzovenis I, Pauw ND, Sorgeloos P (1997) Effect of different light regimes on the docosahexaenoic acid (DHA) content of *Isochrysis aff. galbana* (clone T-ISO). *Aquac Int* 5:489–507

Van Den Hende, S., Vervaeren, H., Desmet, S., Boon, N., 2011. Bioflocculation of microalgae and bacteria combined with flue gas to improve sewage treatment. *New Biotechnol.* 29(1), 23-31.

Van Den Hende, S., Laurent, C., Bégué, M., 2015. Anaerobic digestion of microalgal bacterial flocs from a raceway pond treating aquaculture wastewater: need for a biorefinery. *Bioresour. Technol.* 196, 184–193. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.07.058>

Van Den Hende, S., Beelen, V., Sonnenholzner, S., Varvaeren, H., 2016. Technical potential of microalgal bacterial floc raceway ponds treating food-industry effluents while producing microalgal bacterial biomass : An outdoor pilot-scale study. *Bioresour. Technol.* 218, 969–979. doi:10.1016/j.biortech.2016.07.065

Wang, C.Y., Fu, C.C., Liu, Y.C., 2007. Effects of using light-emitting diodes on the cultivation of *Spirulina platensis*. *Biochemical Engineering Journal* 27, 21–25.

Ward, A.J., Lewis, D.M., Green, F.B., 2014. Anaerobic digestion of algae biomass : A review. *ALGAL* 5, 204–214. doi:10.1016/j.algal.2014.02.001

Weifu, J., Goldemberg, J., Day, D.M., Mao, J., Cao, X., Chen, N., Harun, R., Doyle, M., 2013. *Advanced Biofuels and Bioproducts*, Springer. ed. New York.

Wieczorek, N., Kucuker, M.A., Kuchta, K., 2015. Microalgae-bacteria flocs (MaB-Flocs) as a substrate for fermentative biogas production. *Bioresour. Technol.* 194, 130–136. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.06.104>.

Woertz, I., Feffer, A., Lundquist, T., Nelson, Y., 2010. Algae Grown on Dairy and Municipal Wastewater for. *J. Environ. Eng.* 135, 1115–1122.

Xiao, R., & Zheng, Y. (2016). *Overview of microalgal extracellular polymeric substances (EPS) and their applications. Biotechnology Advances, 34(7), 1225–1244.*
doi:10.1016/j.biotechadv.2016.08.004

Yan, C., Zhang, L., Luo, X., & Zheng, Z. (2013). *Effects of various LED light wavelengths and intensities on the performance of purifying synthetic domestic sewage by microalgae at different influent C/N ratios. Ecological Engineering, 51, 24–32.* doi:10.1016/j.ecoleng.2012.12.051

Young, P., Taylor, M., Fallowfield, H.J., 2017. Mini-review: high rate algal ponds, flexible systems for sustainable wastewater treatment. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 33, 117.
doi:10.1007/s11274-017-2282-x