

Análisis bibliométrico y revisión sistemática de literatura sobre la producción de biomasa microalgal del género *Chlorella* cultivada en digestato líquido porcícola.

Bibliometric analysis and systematic literature review on the production of microalgal biomass of the genus *Chlorella* grown in swine liquid digestate.

**Laura Alejandra Bedoya-Arenas, Jhoan Sebastian Velásquez-Paloma,
Nelson Hernando Caicedo-Ortega, Erika Yuliana Ortiz-Montoya**

Resumen

Las publicaciones sobre la producción de biomasa de microalgas cultivada en digestato líquido se encuentran dispersas en numerosas fuentes de información, representando una dificultad a acceso y visibilidad para futuras investigaciones. Puesto que, cada uno de estos artículos evalúan diferentes aspectos significativos para el cultivo, como son los diferentes tratamientos, las condiciones de cultivo y las estrategias cultivo de la microalga, por tanto, se hace necesaria una recopilación de este material para facilitar la implementación en conjunto de estos aspectos. Debido a esto, el objetivo de este trabajo fue realizar un análisis bibliométrico y una revisión de literatura de la producción de biomasa microalgal del género *Chlorella* cultivada en digestato líquido durante el periodo 2010-2021. El volumen de publicaciones científicas hallado fue igual 82 (67 article, 2 review y 2 conference paper). Los artículos fueron publicados en 5 revistas de principalmente China, Italia, Estados Unidos, Australia y Brasil. Este estudio bibliométrico demostró un incremento del volumen de publicaciones sobre el cultivo de microalgas en digestato del 2012 en adelante. La utilización de indicadores bibliométricos permitió determinar una muestra significativa y enfocada en el cultivo de microalgas en digestato derivado de residuos porcícolas.

Palabras clave:

Biomasa, Microalga, *Chlorella*, digestato líquido, porcícola

* Estudiante de Ingeniería Bioquímica. Departamento de Ingeniería Bioquímica. Facultad de Ingeniería. Universidad Icesi. Cali, Valle delCauca, Colombia. laura.bedoya2@u.icesi.edu.co.

**Estudiante de Ingeniería Bioquímica. Departamento de Ingeniería Bioquímica. Facultad de Ingeniería. Universidad Icesi. Cali, Valle delCauca, Colombia. sebaspaloma@hotmail.com

*** PhD en Ingeniería. Departamento de Ingeniería Bioquímica. Facultad de Ingeniería. Universidad Icesi. Cali, Valle del Cauca, Colombia. nhcaicedo@icesi.edu.co.

**** PhD en Ingeniería Química. Departamento de Ingeniería Bioquímica. Facultad de Ingeniería. Universidad Icesi. Cali, Valle del Cauca, Colombia. eyortiz@icesi.edu.co.

1. Introducción

El cultivo de microalgas en los últimos años se ha convertido en una alternativa factible para la obtención de productos de alto interés industrial, dado que son consideradas una materia prima versátil y pueden ser utilizadas para la producción de energía, productos químicos especiales, pigmentos y nutracéuticos a partir de su biomasa (Saeid y Chojnacka, 2015, Nwoba et al., 2020). Estos microorganismos eucariotas unicelulares son por lo general fotoautótrofos con capacidad de realizar fotosíntesis, es decir, obtienen la energía de la luz y se desarrollan a partir de materia inorgánica. Sin embargo, algunas microalgas son capaces de crecer de manera mixotrófica (utilizan simultáneamente CO₂ inorgánico y fuentes de carbono orgánico en presencia de luz) haciendo uso de efluentes residuales como fuente de nutrientes (Ruiz, A., 2011), dentro de las cuales destacan especies del género *Chlorella* por su capacidad de producir altas densidades celulares (Kwon et al. 2020).

En la actualidad se ha experimentado con gran variedad de efluentes para llevar a cabo el cultivo de microalgas para la producción de biomasa, dentro de los cuales uno de los que más destacada es el digestato líquido, un producto de la digestión anaerobia (DA). Dentro de los diferentes tipos de digestato líquido que se generan, el proveniente de residuos porcícolas, ha sido centro de variedad de investigaciones en la última década para ser implementado como medio de cultivo microalgal, dado que este efluente es uno de los de mayor producción en todo el mundo (Kwon et al. 2020) y se espera que la demanda de proteína animal aumente en un 1,3% anual hasta 2050 (Dinnebier et al 2021) en especial la de cerdo, por ende, se han disparado las alarmas para implementar un proceso que permita su adecuado

tratamiento. Es así, que el cultivo de microalgas para la producción de biomasa a usando digestato líquido porcícola es una estrategia muy atractiva y que ha ganado relevancia estos últimos años, por un lado, disminuye el impacto medioambiental de estos efluentes y, por otro lado, disminuye el costo del medio del cultivo, donde el 50% de este es representado por el uso de nutrientes, por ejemplo, el nitrógeno, fósforo, y carbono (Xia y Murphy, 2016).

Varios estudios e investigaciones tienen como principal enfoque, a parte de la producción de biomasa, la remoción de compuestos inhibitorios, dado que las altas concentraciones de los nutrientes del digestato porcícola, podrían generar inhibición en el crecimiento de las microalgas, por ejemplo, compuestos como el amoníaco o el ortofosfato, los cuales no se remueven eficientemente durante la digestión anaeróbica y de por sí, el digestato porcícola se caracteriza por ser rico en compuestos de nitrógeno y fósforo, comparado a otros digestatos (Fernandes et al. 2020). Se utilizan varias estrategias para hacer frente a este problema, como el pretratamiento del digestato, la evaluación de diferentes condiciones de cultivo, cocultivos con otro tipo de microorganismos como bacterias, entre otras técnicas que juegan un rol muy importante en la investigación de este tema. Sin embargo, no hay un estudio que reúna los principales desarrollos de estas técnicas sobre el cultivo de microalgas del género *Chlorella* en digestato líquido porcícola. Este artículo tiene como objetivo proporcionar un análisis bibliométrico en conjunto con una revisión sistemática sobre la producción de biomasa en cultivos mixotróficos de microalgas del género *Chlorella* empleando digestato líquido porcícola como fuente orgánica de nutrientes, recopilar información relevante que permita realizar un diagnóstico de la

disponibilidad de literatura e interpretar el análisis sistemático de la información recolectada sobre el tema en cuestión.

2. Descripción de metodología

La metodología empleada en esta revisión sistemática de literatura se basa en el proceso global de búsqueda que consiste en tres fases: 1) planificación de la búsqueda, 2) realizar de la búsqueda y, 3) Ejecutar el análisis en el Software R., 4) realizar la revisión de literatura de la muestra seleccionada. Los lineamientos más importantes de las fases presentadas anteriormente son:

En primer lugar, la definición de las preguntas de investigación, ya que son el paradigma bajo el cual se estudia y clasifica el material bibliográfico encontrado en la posterior búsqueda. En segundo lugar, este proceso de búsqueda consiste en recopilar literatura que permite encontrar estudios relacionados con la temática principal de la investigación, que para el presente caso es: “la producción de biomasa microalgal del género *Chlorella* cultivadas en digestato líquido”. Por otra parte, la primera cadena de búsqueda se diseña basada en el título y campos de acción de la temática estudiada

en este artículo.

Las palabras claves que se utilizaron para la revisión sistemática del presente trabajo, fueron:

- “Biomass” and “microalgae”
- “Biomass” and “microalgae” and “liquid digestate”
- “Microalgae” and “pig digestate”
- “*Chlorella*” and “liquid digestate”

A su vez, a partir de las palabras claves seleccionadas para el análisis bibliométrico, se realizó la combinación de estas con el fin de generar ecuaciones de búsqueda que permitieran seleccionar una población de documentos. Todas las búsquedas se hicieron teniendo en cuenta un mismo núcleo de palabras claves, microalgae y digestate, además se tuvieron en cuenta todos los países, un rango de tiempo entre 2010 a 2020, los documentos en un estado de publicación final, todos los idiomas, todos los autores, todas las fuentes bibliográficas y sólo artículos y reviews, descartando otro tipo de documento como libros o ponencias. La información obtenida se muestra en la **Tabla 1**.

Tipos de documentos		Fecha de búsqueda	Periodo	Ecuación de búsqueda	Cantidad de documentos en Scopus
Artículos	Reviews				
182	15	16-may-20	2010-2020	TITLE-ABS-KEY (microalgae AND digestate)	197
153	12	16-may-20	2010-2020	TITLE-ABS-KEY (microalgae AND digestate AND biomass)	165
78	2	16-may-20	2010-2020	TITLE-ABS-KEY (microalgae AND digestate AND chlorella)	80
69	4	16-may-20	2010-2020	TITLE-ABS-KEY (microalgae AND digestate AND "Biomass production")	73
59	4	16-may-20	2010-2020	TITLE-ABS-KEY (microalgae AND digestate AND "Biomass production")	63
30	2	16-may-20	2010-2020	TITLE-ABS-KEY (microalgae AND "liquid digestate")	32
8	0	16-may-20	2010-2020	TITLE-ABS-KEY (microalgae AND ("pig digestate" OR "swine digestate" OR "piggery digestate"))	8

Tabla 1. Resultados de la búsqueda en Scopus para obtener la población de documentos.

Se escogió como población el resultado de 80 artículos, debido a que los criterios de selección fueron, obtener la mayor cantidad de artículos con la mayor delimitación posible que representen bien a la población y dentro las principales palabras claves, la combinación que mejor cumplía con estos criterios fueron *microalgae*, *digestate* y *Chlorella*. Se descartaron opciones que contenían *biomass* o palabras relacionadas al cerdo, dado a la gran cantidad de sinónimos que se pueden encontrar de estas, por ende, se obtenían o descartaban documentos a la población que no tenían nada que ver en comparación con la palabra *Chlorella* que hace referencia a un género de microalgas en específico y en los documentos se presenta menos variable. Además, la mayoría de las investigaciones realizadas para tratar *digestato* lo hacen con microalgas del género *Chlorella*.

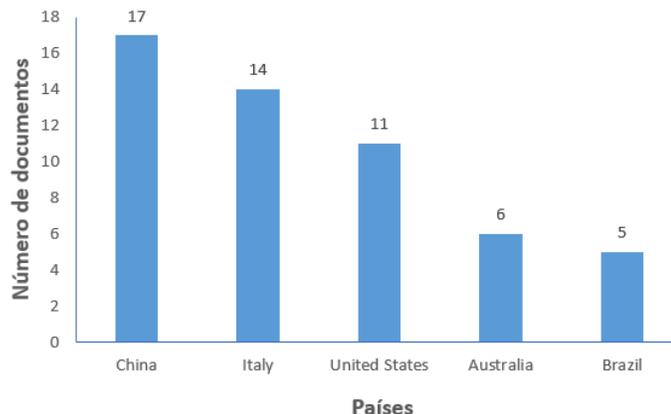
Por otra lado, luego de obtener la población de estudio (82 artículos) se realiza el análisis estadístico de la información recopilada durante el proceso de búsqueda empleando el software R, el cual permitió, obtener un panorama general y clasificar esta información encontrada de acuerdo con diferentes gráficos y factores como son: según la producción científica a través de los años, los países donde se dan las publicaciones, el tipo de publicaciones encontradas, las principales fuentes relacionadas con los artículos encontrados y las palabras claves de mayor ocurrencia.

Finalmente, este panorama permitió seleccionar los documentos pertenecientes a la muestra de estudio (22 artículos), enfocados en *digestato* proveniente de residuos porcícolas, para realizar la revisión sistemática de literatura.

3. Análisis bibliométrico de la población escogida

3.1 Producción científica del cultivo de microalgas del género *Chlorella* en *digestato* hasta el momento

A partir de la herramienta Scopus, se obtiene que en la actualidad se registran aproximadamente 30.000 documentos sobre microalgas, 3.000 sobre *digestato* y 17.000 sobre microalgas, luego delimitando la población a una búsqueda con los 3 conceptos anteriores, microalgas del género *Chlorella* cultivadas en *digestato*, se obtienen tan sólo 80 documentos. Esto muestra una reducción significativa de la información que se puede encontrar acerca del crecimiento de las microalgas del género *Chlorella* en *digestato* comparado con la información que se puede encontrar individualmente de cada uno de los conceptos, sin embargo, a partir del análisis bibliométrico sobre esta población con el software R, es posible evidenciar en la gráfica 1 que las investigaciones y producción científica en general de este tema están en auge y en gran aumento, siendo así que se pasó de 10 artículos producidos en 2019 a 23 artículos producidos en 2020. A continuación, se presenta la gráfica



Gráfica 3. Países con mayor cantidad de producción científica sobre el cultivo de microalgas en digestato

3.3 Tipos de publicaciones relacionados con el cultivo de microalgas del género *Chlorella* en digestato

Al realizar la búsqueda en la base de datos se evidenció que la totalidad de información recopilada se dividía en diferentes tipos de publicaciones, entre los que se encuentran article, review, conference paper y book chapter. Este material proporciona un panorama esencial para identificar la población que se está estudiando y poder determinar con qué tipo de documentos se

puede trabajar para identificar la muestra específica de estudio. De lo cual se rescata que para el presente trabajo se filtró la búsqueda de la población inicial a solo article, review y conference paper, puesto que, este tipo de material tendría como objetivo o enfoque de estudio pruebas experimentales o revisiones de las variables de respuesta determinadas posteriormente en este trabajo para la revisión bibliográfica. En la **Tabla 2** se muestra la cantidad de publicaciones relacionadas con cada tipo de documento seleccionado.

Tipo de documento	Cantidad
Article	67
Conference Paper	2
Review	2

Tabla 2. Tipos de publicaciones recopiladas

3.3 Principales fuentes relacionadas con la publicación de documentos sobre el cultivo de microalgas del género *Chlorella* en digestato

Adicionalmente, luego de filtrar la población de estudio se procedió a determinar el número de publicaciones relacionadas con algunas de las revistas más importantes. En el **Gráfico 4** se presenta el número total de publicaciones que tiene cada una de las revistas, de este material se evidencia que la mayoría de las publicaciones pertenece a la revista *Bioresource Technology*, la cual es una revista que se caracteriza por sus

publicaciones de artículos originales, artículos de revisión, estudios de casos y comunicaciones breves sobre los fundamentos, las aplicaciones y la gestión de la tecnología de biorecursos. Dado el tema de estudio y la búsqueda que se realizó en la base de datos es comprensible que la mayoría del material se publique en esta revista, puesto que el cultivo de microalgas empleando como fuente de nutrientes el digestato líquido, es un enfoque relacionado con las áreas de estudio de esta revista, entre las cuales se presenta la producción de biomasa, el tratamiento biológico de residuos, la bioenergía y la biotransformación.

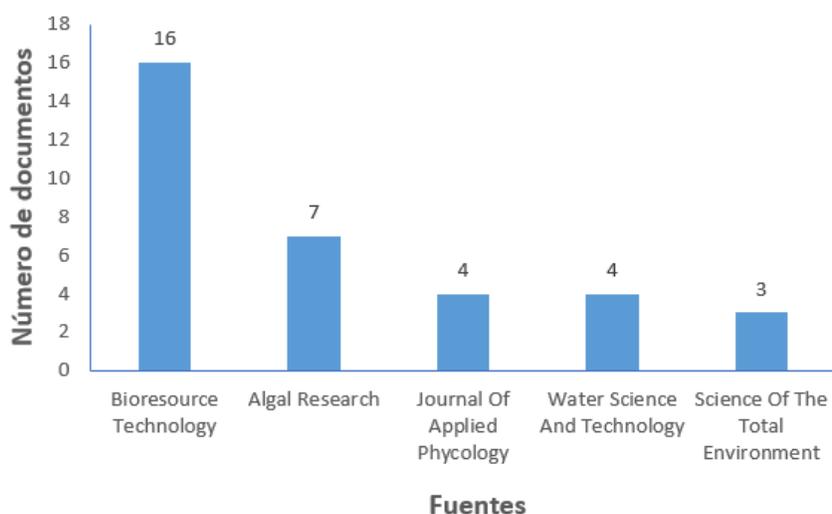


Gráfico 4. Número de documentos de las principales fuentes

3.4 Palabras claves relacionadas con el cultivo de microalgas del género *Chlorella* en digestato

Como se mencionó en la metodología el modelo de búsqueda y las palabras claves se fueron modificando conforme se realizaba el

avance de la búsqueda. Sin embargo, para la determinación tanto de la población de 81 como de la muestra de artículos más específicos de 22, se partió de la lista de palabras claves que arrojaba el análisis bibliométrico. Como se evidencia en la **Tabla 3** donde se muestra a ocurrencia de las

palabras claves dentro de la población inicial, obteniendo como resultado que las palabras claves más generales y relacionadas con la temática inicial, microalgae, digestate y *Chlorella vulgaris* tienen una mayor frecuencia. Sin embargo, también se evidencian palabras relacionadas con la temática más específica, el uso del digestato anaeróbico derivado de residuos porcícolas.

La inclusión de palabras como swine, pig y piggery en el modelo de búsqueda contribuyó a la determinación de la muestra específica de 22 artículos empleados para la revisión bibliográfica del cultivo de microalgas del género *Chlorella* empleando digestato líquido proveniente de residuos porcícolas como fuente de nutrientes para su crecimiento

Tabla 3. Ocurrencia de palabras claves

Palabras	Occurrencias
microalgae	39
digestate	24
chlorella vulgaris	16
nutrient removal	11
anaerobic digestion	10
biogas	8
liquid digestate	7
ammonia	6
wastewater	6
wastewater treatment	6
biomass production	5
swine wastewater	5
anaerobic digestate	4
biofuel	4

3.5 Digestatos líquidos provenientes de distintas fuentes de digestión anaerobia en la población

De acuerdo con el análisis bibliométrico y luego de caracterizar la población de estudio de 82 artículos, se procedió a realizar la revisión bibliográfica de cada uno de ellos para empezar a caracterizar una muestra específica, para esto se tomaron en cuenta algunos criterios, el principal fue que se evaluará el crecimiento de las microalgas en algún tipo de digestato, de esto se obtuvo que en las diferentes investigaciones se emplean

digestatos líquidos provenientes de la digestión anaeróbica de residuos industriales. En la **Tabla 4** se evidencian digestatos de distintas fuentes y la cantidad de artículos en los que se emplean en la población de 82 artículos. De aquí, se rescata que el digestato líquido más empleado por los artículos de la población es el derivado de la digestión anaeróbica de residuos porcícolas. Por tanto, al ser el digestato más estudiado para el cultivo de microalgas según la revisión preliminar, se escoge este como criterio principal para la selección de la muestra de estudio, 22 artículos.

Tabla 4. Tipos de digestato y su ocurrencia en la población

Tipo de digestato anaerobio	Número de artículos
Residuos porcícolas	23
Aguas residuales municipales	11
Residuos de alimentos	9
Residuos de tomate y maíz	7
Aguas residuales lácteas	6
Residuos de granjas agroganaderas	4
Residuos de pollo	4
Vinaza	3
Aguas residuales de la ind. del papel y pulpa	2
Residuos de extracción de aceite de canola	2
Medio artificial	1

3.5 Microalgas empleadas en los estudios

Adicionalmente, entre los criterios que se evaluaron en la población de 82 artículos, se encuentra el tipo de microalga que se emplea en los estudios, las principales condiciones que se utilizan y los resultados de productividad de biomasa. En la **Tabla 5** se muestra la recopilación de algunos artículos donde se tenían en cuenta principalmente las condiciones de cultivo para evaluar la productividad de biomasa. En esta tabla se

puede observar que la microalga más empleada es la *Chlorella vulgaris*, la cual se cultiva en variedad de digestatos con distintas fuentes de nitrógeno e intensidades de luz, obteniendo diferentes valores de productividad de biomasa. Este resultado concuerda con lo dicho por la literatura sobre esta microalga en específico, ya que se ha demostrado que esta muestra una gran resistencia a las materias orgánicas y un crecimiento estable en varias aguas residuales, demostrando que crecen bien en presencia de altas concentraciones de amoníaco y nitrato (Li et al. 2017).

Tabla 5. Recopilación de los factores importantes en el cultivo de microalgas

Cepas	Nitrógeno (mg/L)	Intensidad de luz (umol/m ² *s)	u (1/día)	Productividad (mg/L*día)	Referencia
<i>Chlorella vulgaris</i>	Nitrate (41)	70	0,136±0,01	26,6± 1,1	Frumento et al. (2016)
<i>Chlorella sorokiniana</i>	Nitrate (140)	100	0,35	-	Li et al. (2014)
<i>Chlorella vulgaris</i>	Amonio (125)	65	0,213	-	Tam and Wong, (1996)
<i>Chlorella sp.</i>	Amonio (130)	200	-	-	Cho et al. (2013)
<i>Chlorella sp.</i>	Nitrato (123)	90	0,216±0,01	68,6± 4,8	Veronesiv et al. (2017)
<i>Chlorella sp.</i>	Amonio (120±5)	90	0,2±0,01	48,2± 5	Veronesiv et al. (2017)
<i>Phaeodactylum tricormutum</i>	Nitrato (12,3)	50	0,11±0,02	-	Liu et al. (2009)
<i>Phaeodactylum tricormutum</i>	Nitrato (-)	150	-	-	Morais et al. (2009)
<i>Phaeodactylum tricormutum</i>	Amonio (-)	115	0,68	-	Fidalgo et al. 1995
<i>Phaeodactylum tricormutum</i>	Nitrato (123)	90	0,128±0,01	18,6± 2	Veronesiv et al. (2017)
<i>Phaeodactylum tricormutum</i>	Amonio (120±5)	90	0,126±0,01	15,2± 1,5	Veronesiv et al. (2017)

Dada la revisión bibliométrica y la revisión bibliográfica preliminar realizada, se concreta escoger una muestra significativa de 22 artículos los cuales cumplen con los principales criterios de revisión, posteriormente, al realizarle la revisión a profundidad a cada uno de estos artículos pertenecientes a la muestra, se obtienen los resultados presentados a continuación sobre el cultivo de la microalga *Chlorella vulgaris* en digestato líquido proveniente de residuos porcícolas.

4. Cultivo mixotrófico de microalgas del género *Chlorella* en digestato líquido proveniente de residuos porcícolas como estrategia para la producción de biomasa y remoción de compuestos contaminantes.

La estrategia de cultivar microalgas en digestato porcícola presenta muchas ventajas, desde el tratamiento del digestato

hasta la generación de biomasa y obtención de diversos productos que van desde

proteínas hasta biocombustibles (Rossi et al. 2020). Sin embargo, dada su naturaleza, el digestato porcícola contiene alta cantidad de compuestos orgánicos e inorgánicos tóxicos no solo para el ambiente sino para las microalgas inhibiendo su crecimiento, es por esto por lo que en la actualidad las diferentes investigaciones y estudios van enfocados a generar estrategias que permitan realizar el cultivo de microalgas en digestato en condiciones adecuadas no inhibitorias.

4.1 Amonio, fósforo y turbidez.

Dentro de las diferentes condiciones a tener en cuenta, como temperatura, pH, irradiancia, agitación, CO₂, concentración de carbono entre otros, varios estudios llegan a un mismo enfoque, los factores más relevantes a evaluar, a parte de la productividad o rendimiento de biomasa,

están relacionados con el amoníaco, fósforo y turbidez presentes en el digestato porcícola, es así que gran porcentaje de la información analizada está orientada, delimitada y presenta como principal objetivo, evaluar el porcentaje de remoción de estos, exponiéndolos como su principal variable de respuesta. Esto sucede como consecuencia de la alta toxicidad y efecto inhibitor que normalmente presentan estos factores en el digestato porcícola.

Las microalgas pueden eliminar amoníaco en concentraciones menores a 1 mg/L (Kube et al. 2020), en digestatos porcícolas esta concentración es mucho mayor (Zhou et al. 2019). El nitrógeno amoniacal total (TAN) es la principal forma de nitrógeno en el digestato porcino y puede funcionar como factor de estrés que afecta la fotosíntesis, al dañar el grupo de manganeso (Mn) del complejo de evolución de oxígeno (OEC) del fotosistema II (PSII) o a través del desacople del transporte de electrones en la fotofosforilación, lo cual genera graves consecuencias en el crecimiento mixotrófico de la microalga interfiriendo en la producción de biomasa. Además, el efecto del TAN en altas concentraciones puede ser tan severo y extremo que es posible llegar a la lisis celular, en la que las células explotan inmediatamente o después de unas pocas horas (Chukagwude et al. 2020). De igual manera, el fósforo en concentraciones mayores a 0,1 mg/L (Kube et al. 2020) presenta efectos inhibitorios y en el digestato porcícola, este se presenta como ortofosfato en concentraciones mayores a las asimilables. Por último, el color oscuro del digestato y la presencia de sólidos en suspensión, genera turbidez, bloqueando la penetración de la luz provocando foto limitación lo que conduce a productividades menores de biomasa en digestato porcícola comparado con medios sintéticos, para microalgas del género

Chlorella creciendo en mixotrofia (Dinnebier et al 2021). En el **anexo 1** se presenta el porcentaje de remoción de cada uno de estos componentes en diferentes estudios.

4.2 Condiciones (temperatura, pH, irradiancia, CO2 y agitación)

La determinación de las óptimas condiciones de cultivo durante el crecimiento de las microalgas en digestato es indispensable para obtener una buena productividad de biomasa y remoción de componentes del medio de cultivo (Khanh et al. 2013). Por tanto, se tienen en cuenta los siguientes factores, en primer lugar, la luz, el cual es una de los más importantes para el crecimiento, el cultivo debe estar permanentemente recibiendo luz, ya sea proveniente de fuente artificial, solar o ambas (Sandoval, 2013). En cuanto a la revisión de los artículos de la muestra, se determinó que la intensidad lumínica adecuada y normalmente utilizada varía en un rango de 70 a 200 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$. En segundo lugar, se encuentra la temperatura, este factor se caracteriza por su relación directamente proporcional, ya que al aumentar este también aumenta proporcionalmente la producción de las microalgas hasta llegar a un valor óptimo de crecimiento (Sandoval, 2013). En cuanto a la revisión de los artículos de la muestra, se encontró que la temperatura óptima va de 20 a 30 °C, también cabe resaltar que este es más sencillo de controlar en sistemas de cultivo cerrados como los fotobiorreactores que en abiertos, como son las piscinas al aire libre.

En tercer lugar, se encuentra el pH, este factor en el caso de la revisión se determinó un rango de pH para los cultivos de 7 a 9, fuera de este rango podría ocurrir un descenso en la productividad (Bou, 2019). También se encontró que los métodos para el control del pH en la mayoría de los artículos se dan por medio de la aireación enriquecida en CO2 o

con la adición de ácido o base. En cuarto lugar, se tiene la agitación, este factor es importante en el cultivo ya que permite la distribución homogénea de los nutrientes en todo el sistema, permitiendo que las microalgas distribuidas en todo el volumen de cultivo, tenga la disponibilidad de los nutrientes del medio de cultivo, del oxígeno y que no se presenten zonas con fluctuaciones del pH o la temperatura (Ruiz, A., 2011). En cuanto a los artículos revisados, en la mayoría esta se realizaba por medio de agitadores magnéticos o burbujeo, en los experimentos a escala de laboratorio. En el **Anexo 1** se presenta los valores experimentales de cada una de estas condiciones en diferentes estudios.

4.3 Pretratamiento del digestato porcícola

El pretratamiento del digestato se presenta como una de las principales opciones a tener en cuenta para disminuir las altas concentraciones de compuestos tóxicos y otros problemas como turbidez, que se presentan en el cultivo inhibiendo el crecimiento de la microalga.

Dentro de los principales pretratamientos se puede encontrar; la filtración, una técnica muy empleada, sin embargo, está aumentando significativamente los costos de producción (Dinnebier et al. 2021); la floculación, un proceso simple de operar con buena eficiencia de remoción de turbidez, cromaticidad, DQO, fósforo, etc., no obstante, presenta desventajas como el alto costo de los floculantes y la contaminación secundaria de los floculantes, además su capacidad para remover el amoníaco no es eficiente (Gu et al. 2021); el método de oxidación por contacto biológico (BCO), que, por el contrario, demostró cierta capacidad para eliminar amoníaco y fósforo, pero su tasa de eliminación de turbidez y cromaticidad fue pobre (Zheng et al., 2018); métodos de

adsorción física y de ozono, con los cuales se ha demostrado remoción de estos compuestos inhibitorios, sin embargo, no son adecuados para la implementación a gran escala debido a su alto costo de procesamiento (Zhou et al. 2019); lodos activados, que de igual manera, depende en gran medida de la aireación, método que consume bastante energía y es bastante costosa (Gu et al. 2021), y, por último, se encuentra la dilución, el método más empleado actualmente dado a su simplicidad y su rapidez, sin embargo, este método requiere grandes cantidades de agua conforme aumenta la escala, lo que incrementa los costos de producción y lo hace medioambientalmente insostenible (Chukogwude et al. 2020) (Gu et al. 2021) (Zhou et al. 2019).

En vista de esta problemática y dado que la dilución es el método más usado, varios estudios han presentado como alternativa realizar la dilución con otros efluentes residuales, por ejemplo, Koutra et al. (2021), evaluó esta posibilidad, realizando una dilución con 50% v/v de digestato y 15% de suero de leche residual, obteniendo porcentajes de remoción del nitrógeno total, fósforo total, DQO y carbohidratos del 61%, 67%, 97% y 91% respectivamente, además una producción de biomasa de 1.54 g/L. El uso de efluentes residuales como diluyentes, requiere que sean bajos de TAN, fósforo y turbidez.

Por otro lado, actualmente, se siguen llevando a cabo estudios e investigaciones con el fin de encontrar alternativas mucho más favorables, dentro de ellas, una que ha generado mucha expectativa, es el pretratamiento con bacterias. Gu et al. (2021) ha realizado investigaciones al respecto, en este caso uso bacterias indígenas y explica que estas se han adaptado durante mucho

tiempo al ambiente contaminado con alto contenido de amoníaco, DQO, antibióticos, metales pesados, etc., y que presentan como principales ventajas que son más fáciles de operar, viables, económicas y menos propensas a la contaminación secundaria. En el **anexo 1** se presentan los diferentes pretratamientos utilizados experimentalmente en diferentes estudios.

4.4 Cocultivos: Cultivo de microalgas del género *Chlorella* con otro género de microalgas o con otros microorganismos

Otra alternativa que ha despertado gran interés es el de realizar cocultivos de microalgas con otros microorganismos, principalmente bacterias. Muchos estudios han demostrado que, en comparación con el monocultivo de microalgas, el cocultivo de microalgas y bacterias u hongos puede ofrecer un rendimiento mejorado en términos de eliminación de nutrientes y producción de biomasa (Roberts et al. 2020).

Los beneficios entre el cocultivo de microalgas y bacterias son varios, por ejemplo, las microalgas producen O₂ que las bacterias pueden utilizar para la respiración, que a su vez producen CO₂ para que lo utilicen las microalgas, a su vez, las bacterias pueden convertir macro y micronutrientes en formas utilizables para microalgas, así como secretar vitaminas y otros cofactores que son necesarios para el crecimiento de algunas microalgas (Paddock et al. 2020). Sin embargo, se pueden presentar también efectos negativos como la producción de bactericidas por parte de las microalgas o alguicidas por parte de las bacterias.

Es por esto, que es necesario más investigaciones que permitan comprender completamente la interacción entre microalgas y otros microorganismos al ser

cultivadas como cocultivo en digestato porcícola.

4.5 Revisión bibliográfica de la muestra

Como se mencionó anteriormente, al realizar la revisión bibliográfica de la muestra se realizó una tabla de resumen con los 22 artículos, donde se tuvieron en cuenta aspectos como el objetivo de estudio, la forma de cultivo que se empleaba en el artículo, el pretratamiento que se le daba al digestato porcícola para el cultivo, las principales condiciones de cultivo y finalmente, las variables de respuesta, las cuales son la productividad de biomasa y el porcentaje de remoción de los compuestos presentes en el digestato, el resultado final de esta tabla se puede observar en el **Anexo 1**. Ahora bien, uno de los principales puntos a observar en la tabla es que la mayoría de los artículos tienen como objetivo realizar el crecimiento de la microalga en el digestato líquido, evaluando las condiciones de cultivo y posibles pretratamientos a utilizar para obtener como variable de respuesta el porcentaje de remoción de algunos compuestos y la productividad de biomasa. Para esto, se comparan diferentes formas de cultivo, ya que en algunos artículos realizan el cultivo en batch o en continuo, variando la escala, pasando de escala de laboratorio, a escala piloto y realizando los experimentos en sistemas abiertos, piscinas al aire libre y sistemas cerrados, fotobiorreactores. Además, se estudian los posibles pretratamientos a utilizar para el digestato porcícola, en este aspecto se observa que el más utilizado es la dilución de este para el cultivo. Se toman en cuenta también las condiciones para el crecimiento de la microalga, en este aspecto las principales condiciones son la adición de CO₂ para controlar el pH, el control o medición de una temperatura y exponer el cultivo

continuamente a una intensidad de luz determinada, brindándole adicionalmente una foto periodo en promedio de 12 h. Por último, con la finalidad de evaluar el crecimiento de la microalga en el digestato líquido, se determinó la concentración de biomasa y en algunos casos la productividad de biomasa al terminar el cultivo, y la remoción de algunos componentes del digestato, en la mayoría de los casos la remoción de amonio, nitrógeno y fosforo.

Conclusión

En este trabajo se evidenció que el análisis bibliométrico funciona como una herramienta sólida para el diagnóstico de investigaciones y su posterior selección para una revisión de literatura más profunda, en este caso sobre la producción de biomasa microalgal en digestato líquido. Esto contribuye a la difusión y visibilidad de información relacionada con el tema para su aplicación en futuras investigaciones.

Agradecimientos

Este proyecto hace parte y contribuye a la investigación y desarrollo de un modelo sostenible de generación de biocombustibles y productos de valor agregado, a partir de residuos agrícolas y agroindustriales de la industria porcícola en el Valle del Cauca. Agradecemos a nuestras compañeras Isabel Cristina Arce y Daniela Gómez por su orientación al iniciar el proyecto. A nuestros tutores y profesores con sus valiosos comentarios y recomendaciones en el desarrollo del mismo.

Bibliografía

Ayre, J. M., Moheimani, N. R., & Borowitzka, M. A. (2017). Growth of microalgae on undiluted anaerobic digestate of piggery effluent with high ammonium concentrations. *Algal Research*, 24, 218-226. doi:10.1016/j.algal.2017.03.023

Bani, A., Parati, K., Pozzi, A., Previtali, C., Bongioni, G., Pizzera, A., . . . Bellucci, M. (2020). Comparison of the performance and microbial community structure of two outdoor pilot-scale photobioreactors treating digestate. *Microorganisms*, 8(11), 1-24. doi:10.3390/microorganisms8111754

Barone, V., Puglisi, I., Fragalà, F., Lo Piero, A. R., Giuffrida, F., & Baglieri, A. (2019). Novel bioprocess for the cultivation of microalgae in hydroponic growing system of tomato plants. *Journal of Applied Phycology*, 31(1), 465-470. doi:10.1007/s10811-018-1518-y

Bona, D., Papurello, D., Flaim, G., Cerasino, L., Biasioli, F., & Silvestri, S. (2020). Management of digestate and exhausts from solid oxide fuel cells produced in the dry anaerobic digestion pilot plant: Microalgae cultivation approach. *Waste and Biomass Valorization*, 11(12), 6499-6514. doi:10.1007/s12649-019-00931-3

Bose, A., O'Shea, R., Lin, R., & Murphy, J. D. (2020). A perspective on novel cascading algal biomethane biorefinery systems. *Bioresource Technology*, 304. doi:10.1016/j.biortech.2020.123027

Bou, J. (2019). Máster Universitario en Ingeniería Industrial Diseño de un fotobiorreactor para la obtención de compuestos bioluminiscentes Escola Tècnica Superior d' Enginyeria Industrial
Chaiprapat, S., Sasibunyarat, T., Charnnok, B., & Cheirsilp, B. (2017). Intensifying clean energy production through cultivating mixotrophic microalgae from digestates of biogas systems: Effects of light intensity, medium dilution, and cultivating time. *Bioenergy Research*, 10(1), 103-114. doi:10.1007/s12155-016-9780-9

Chuka-ogwude, D., Ogbonna, J. C., & Moheimani, N. R. (2020). Adjustments of the photosynthetic unit and compensation mechanisms of tolerance to high ammonia

concentration in *Chlorella* sp. grown in food waste digestate. *Algal Research*, 52
doi:10.1016/j.algal.2020.102106

Chuka-ogwude, D., Ogbonna, J., Borowitzka, M. A., & Moheimani, N. R. (2020). Screening, acclimation, and ammonia tolerance of microalgae grown in food waste digestate. *Journal of Applied Phycology*, 32(6), 3775-3785. doi:10.1007/s10811-020-02276-0

D. Frumento, B. Aliakbarian, A.A. Casazza, A. Converti, S. Al Arni, M.F. da Silva *Chlorella vulgaris* as a lipid *Biotechnol. Prog.* (2016), pp. 279-284" Barcelona.

Dębowski, M., Kisiełowska, M., Kazimierowicz, J., & Zieliński, M. (2020). Influence of the light source on the *Chlorella vulgaris* biomass growth in the culture medium supplemented with anaerobic digestate. [Wpływ źródła światła na wzrost biomasy *Chlorella vulgaris* w medium hodowlanym opartym na wykorzystaniu odcieków pofermentacyjnych] *Rocznik Ochrona Środowiska*, 22(2), 605-621. Retrieved from www.scopus.com

Dębowski, M., Szwaja, S., Zieliński, M., Kisiełowska, M., & Stańczyk-Mazanek, E. (2017). The influence of anaerobic digestion effluents (ADEs) used as the nutrient sources for *Chlorella* sp. cultivation on fermentative biogas production. *Waste and Biomass Valorization*, 8(4), 1153-1161. doi:10.1007/s12649-016-9667-1

D'Imporzano, G., Veronesi, D., Salati, S., & Adani, F. (2018). Carbon and nutrient recovery in the cultivation of *Chlorella vulgaris*: A life cycle assessment approach to comparing environmental performance. *Journal of Cleaner Production*, 194, 685-694. doi:10.1016/j.jclepro.2018.05.174

Dinnebier, H. C. F., Matthiensen, A., Michelin, W., Tápparo, D. C., Fonseca, T. G., Favretto, R., . . . Kunz, A. (2021). Phycoremediation and biomass production from high strong swine

wastewater for biogas generation improvement: An integrated bioprocess. *Bioresource Technology*, 332
doi:10.1016/j.biortech.2021.125111

Doğan-Subaşı, E., & Demirel, G. N. (2016). Anaerobic digestion of microalgal (*Chlorella vulgaris*) biomass as a source of biogas and biofertilizer. *Environmental Progress and Sustainable Energy*, 35(4), 936-941. doi:10.1002/ep.12294

Ekinci, K., Erdal, I., Uysal, Ö., Uysal, F. Ö., Tunce, H., & Doğan, A. (2019). Anaerobic digestion of three microalgae biomasses and assessment of digestates as biofertilizer for plant growth. *Environmental Progress and Sustainable Energy*, 38(3) doi:10.1002/ep.13024

Ekpo, U., Ross, A. B., Camargo-Valero, M. A., & Williams, P. T. (2016). A comparison of product yields and inorganic content in process streams following thermal hydrolysis and hydrothermal processing of microalgae, manure and digestate. *Bioresource Technology*, 200, 951-960. doi:10.1016/j.biortech.2015.11.018

Eltanahy, E., Salim, S., Vadiveloo, A., Verduin, J. J., Pais, B., & Moheimani, N. R. (2018). Comparison between jet and paddlewheel mixing for the cultivation of microalgae in anaerobic digestate of piggery effluent (ADPE). *Algal Research*, 35, 274-282. doi:10.1016/j.algal.2018.08.025

Ermis, H., & Altınbaş, M. (2020). Effect of salinity on mixed microalgae grown in anaerobic liquid digestate. *Water and Environment Journal*, 34(S1), 820-830. doi:10.1111/wej.12580

Ermis, H., Guven-Gulhan, U., Cakir, T., & Altınbaş, M. (2020). Effect of iron and magnesium addition on population dynamics and high value product of microalgae grown in anaerobic liquid digestate. *Scientific*

Reports, 10(1) doi:10.1038/s41598-020-60622-1

Feng, S., Feng, P., Zhu, S., Wang, Z., & Yuan, Z. (2019). Nutrient removal and biomass production from dairy farm liquid digestate treatment using microalga *Chlorella vulgaris*. *Huagong Xuebao/CIESC Journal*, 70(1), 227-233. doi:10.11949/j.issn.0438-1157.20180739

Feng, S., Liu, F., Zhu, S., Feng, P., Wang, Z., Yuan, Z., . . . Chen, H. (2020). Performance of a microalgal-bacterial consortium system for the treatment of dairy-derived liquid digestate and biomass production. *Bioresource Technology*, 306 doi:10.1016/j.biortech.2020.123101

Fernandes, F., Silkina, A., Fuentes-Grünewald, C., Wood, E. E., Ndovela, V. L. S., Oatley-Radcliffe, D. L., . . . Llewellyn, C. A. (2020). Valorising nutrient-rich digestate: Dilution, settlement and membrane filtration processing for optimisation as a waste-based media for microalgal cultivation. *Waste Management*, 118, 197-208. doi:10.1016/j.wasman.2020.08.037

Franchino, M., Comino, E., Bona, F., & Riggio, V. A. (2013). Growth of three microalgae strains and nutrient removal from an agro-zootechnical digestate. *Chemosphere*, 92(6), 738-744. doi:10.1016/j.chemosphere.2013.04.023

Franchino, M., Tigini, V., Varese, G. C., Mussat Sartor, R., & Bona, F. (2016). Microalgae treatment removes nutrients and reduces ecotoxicity of diluted piggery digestate. *Science of the Total Environment*, 569-570, 40-45. doi:10.1016/j.scitotenv.2016.06.100

Fuentes-Grünewald, C., Ignacio Gayo-Peláez, J., Ndovela, V., Wood, E., Vijay Kapoor, R., & Anne Llewellyn, C. (2021). Towards a circular economy: A novel microalgal two-step growth approach to treat excess nutrients from

digestate and to produce biomass for animal feed. *Bioresource Technology*, 320 doi:10.1016/j.biortech.2020.124349

Gu, Z., Liu, Y., Zou, G., Zhang, Q., Lu, R., Yan, H., . . . Ruan, R. (2021). Enhancement of nutrients removal and biomass accumulation of *Chlorella vulgaris* in pig manure anaerobic digestate effluent by the pretreatment of indigenous bacteria. *Bioresource Technology*, 328 doi:10.1016/j.biortech.2021.124846

Iyovo, G. D., Du, G., & Chen, J. (2010). Sustainable bioenergy bioprocessing: Biomethane production, digestate as biofertilizer and as supplemental feed in algae cultivation to promote algae biofuel commercialization. *Journal of Microbial and Biochemical Technology*, 2(4), 100-106. doi:10.4172/1948-5948.1000032

J.P. Fidalgo, A. Cid, J. Abalde, C. Herrero Culture of the marine diatom *Phaeodactylum tricornutum* with different nitrogen sources: growth, nutrient conversion and biochemical composition *Cah. Biol. Mar.*, 36 (1995), pp. 165-173"

Jiang, R., Qin, L., Feng, S., Huang, D., Wang, Z., & Zhu, S. (2021). The joint effect of ammonium and pH on the growth of *Chlorella vulgaris* and ammonium removal in artificial liquid digestate. *Bioresource Technology*, 325 doi:10.1016/j.biortech.2021.124690

Jiang, Y., Wang, H., Wang, W., Deng, L., & Wang, W. (2018). The optimization of microalgal culturing in liquid digestate after struvite precipitation using gray relational analysis. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(13), 13048-13055. doi:10.1007/s11356-018-1451-2

Jiang, Y., Wang, H., Zhao, C., Huang, F., Deng, L., & Wang, W. (2018). Establishment of stable microalgal-bacterial consortium in liquid digestate for nutrient removal and biomass

- accumulation. *Bioresource Technology*, 268, 300-307. doi:10.1016/j.biortech.2018.07.142
- K.C.C. Morais, R.L.L. Ribeiro, K.R. Santos, D.M. Taher, A.B. Mariano, J.V.C. Vargas *Phaeodactylum tricornutum* microalgae growth rate in heterotrophic and mixotrophic conditions *Sci. Eng. Térmica (Thermal Eng.)*, 8 (2009), pp. 84-89"
- Khanh, N., Kitaya, Y., Xiao, L., Endo, R., & Shibuya, T. (2013). Selection of microalgae suitable for culturing with digestate from methane fermentation. *Environmental Technology (United Kingdom)*, 34(13-14), 2039-2045. doi:10.1080/09593330.2013.828093
- Kinnunen, V., & Rintala, J. (2016). The effect of low-temperature pretreatment on the solubilization and biomethane potential of microalgae biomass grown in synthetic and wastewater media. *Bioresource Technology*, 221, 78-84. doi:10.1016/j.biortech.2016.09.017
- Koutra, E., Grammatikopoulos, G., & Kornaros, M. (2018). Selection of microalgae intended for valorization of digestate from agro-waste mixtures. *Waste Management*, 73, 123-129. doi:10.1016/j.wasman.2017.12.030
- Koutra, E., Mastropetros, S. G., Ali, S. S., Tsigkou, K., & Kornaros, M. (2021). Assessing the potential of *Chlorella vulgaris* for valorization of liquid digestates from agro-industrial and municipal organic wastes in a biorefinery approach. *Journal of Cleaner Production*, 280. doi:10.1016/j.jclepro.2020.124352
- Kube, M., Mohseni, A., Fan, L., & Roddick, F. (2020). Energy and nutrient recovery by treating wastewater with fluidised-beds of immobilised algae. *Journal of Water Process Engineering*, 38. doi:10.1016/j.jwpe.2020.101585
- Kwon, G., Nam, J. -, Kim, D. -, Song, C., & Jahng, D. (2020). Growth and nutrient removal of *Chlorella vulgaris* in ammonia-reduced raw and anaerobically-digested piggery wastewaters. *Environmental Engineering Research*, 25(2), 135-146. doi:10.4491/eer.2018.442
- Ledda, C., Idà, A., Allemand, D., Mariani, P., & Adani, F. (2015). Production of wild *Chlorella* sp. cultivated in digested and membrane-pretreated swine manure derived from a full-scale operation plant. *Algal Research*, 12, 68-73. doi:10.1016/j.algal.2015.08.010
- Li, H., Wang, M., Wang, X., Zhang, Y., Lu, H., Duan, N., . . . Liu, Z. (2018). Biogas liquid digestate grown *Chlorella* sp. for biocrude oil production via hydrothermal liquefaction. *Science of the Total Environment*, 635, 70-77. doi:10.1016/j.scitotenv.2018.03.354
- Li, R., Duan, N., Zhang, Y., Liu, Z., Li, B., Zhang, D., . . . Dong, T. (2017). Co-digestion of chicken manure and microalgae *Chlorella* 1067 grown in the recycled digestate: Nutrients reuse and biogas enhancement. *Waste Management*, 70, 247-254. doi:10.1016/j.wasman.2017.09.016
- Llamas, M., Magdalena, J. A., Tomás-Pejó, E., & González-Fernández, C. (2020). Microalgae-based anaerobic fermentation as a promising technology for producing biogas and microbial oils. *Energy*, 206. doi:10.1016/j.energy.2020.118184
- Marazzi, F., Sambusiti, C., Monlau, F., Cecere, S. E., Scaglione, D., Barakat, A., . . . Ficara, E. (2017). A novel option for reducing the optical density of liquid digestate to achieve a more productive microalgal culturing. *Algal Research*, 24, 19-28. doi:10.1016/j.algal.2017.03.014
- Marcilhac, C., Sialve, B., Pourcher, A. -, Ziebal, C., Bernet, N., & Béline, F. (2015). Control of nitrogen behaviour by phosphate

concentration during microalgal-bacterial cultivation using digestate. *Bioresource Technology*, 175, 224-230. doi:10.1016/j.biortech.2014.10.022

Marcilhac, C., Sialve, B., Pourcher, A. -, Ziebal, C., Bernet, N., & Béline, F. (2014). Digestate color and light intensity affect nutrient removal and competition phenomena in a microalgal-bacterial ecosystem. *Water Research*, 64, 278-287. doi:10.1016/j.watres.2014.07.012

Meng, W., Xinfeng, W., Zhangbing, Z., Jianwen, L., Zhang, Y., Baoming, L., . . . Zhidan, L. (2017). Biocrude oil production from *Chlorella* sp. cultivated in anaerobic digestate after UF membrane treatment. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, 10(1), 148-153. doi:10.3965/j.ijabe.20171001.2700

Mezzari, M. P., da Silva, M. L. B., Nicoloso, R. S., Ibelli, A. M. G., Bortoli, M., Viancelli, A., & Soares, H. M. (2013). Assessment of N₂O emission from a photobioreactor treating ammonia-rich swine wastewater digestate. *Bioresource Technology*, 149, 327-332. doi:10.1016/j.biortech.2013.09.065

Mezzari, M. P., Da Silva, M. L. B., Pirolli, M., Perazzoli, S., Steinmetz, R. L. R., Nunes, E. O., & Soares, H. M. (2014). Assessment of a tannin-based organic polymer to harvest *Chlorella vulgaris* biomass from swine wastewater digestate phycoremediation. *Water Science and Technology*, 70(5), 888-894. doi:10.2166/wst.2014.307

Michelon, W., Da Silva, M. L. B., Mezzari, M. P., Pirolli, M., Prandini, J. M., & Soares, H. M. (2016). Effects of nitrogen and phosphorus on biochemical composition of microalgae polyculture harvested from phycoremediation of piggery wastewater digestate. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 178(7), 1407-1419. doi:10.1007/s12010-015-1955-x

Michelon, W., Pirolli, M., Soares, H. M., Michelon, W., Mezzari, M. P., & Busi da Silva, M. L. (2019). Residual sugar from microalgae biomass harvested from phycoremediation of swine wastewater digestate. *Water Science and Technology*, 79(11), 2203-2210. doi:10.2166/wst.2019.226

N.F.Y. Tam, Y.S. Wong Effect of ammonia concentrations on growth of *Chlorella vulgaris* and nitrogen removal from media *Bioresour. Technol.*, 57 (1996), pp. 45-50

Nwoba, E. G., Mickan, B. S., & Moheimani, N. R. (2019). *Chlorella* sp. growth under batch and fed-batch conditions with effluent recycling when treating the effluent of food waste anaerobic digestate. *Journal of Applied Phycology*, 31(6), 3545-3556. doi:10.1007/s10811-019-01878-7

Paddock, M. B., Fernández-Bayo, J. D., & VanderGheynst, J. S. (2020). The effect of the microalgae-bacteria microbiome on wastewater treatment and biomass production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(2), 893-905. doi:10.1007/s00253-019-10246-x

Prajapati, S. K., Malik, A., & Vijay, V. K. (2014). Comparative evaluation of biomass production and bioenergy generation potential of *Chlorella* spp. through anaerobic digestion. *Applied Energy*, 114, 790-797. doi:10.1016/j.apenergy.2013.08.021

Puglisi, I., Barone, V., Sidella, S., Coppa, M., Broccanello, C., Gennari, M., & Baglieri, A. (2018). Biostimulant activity of humic-like substances from agro-industrial waste on *Chlorella vulgaris* and *scenedesmus quadricauda*. *European Journal of Phycology*, 53(3), 433-442. doi:10.1080/09670262.2018.1458997

Qin, L., Liu, L., Wang, Z., Chen, W., & Wei, D. (2018). Efficient resource recycling from liquid digestate by microalgae-yeast mixed culture and the assessment of key gene transcription related to nitrogen assimilation in microalgae. *Bioresource Technology*, 264, 90-97. doi:10.1016/j.biortech.2018.05.061

Qin, L., Wei, D., Wang, Z., & Alam, M. A. (2019). Advantage assessment of mixed culture of *Chlorella vulgaris* and *Yarrowia lipolytica* for treatment of liquid digestate of yeast industry and cogeneration of biofuel feedstock. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 187(3), 856-869. doi:10.1007/s12010-018-2854-8

Ran, C., Zhou, X., Yao, C., Zhang, Y., Kang, W., Liu, X., . . . Xie, T. (2021). Swine digestate treatment by prior nitrogen-starved *Chlorella vulgaris*: The effect of over-compensation strategy on microalgal biomass production and nutrient removal. *Science of the Total Environment*, 768. doi:10.1016/j.scitotenv.2020.144462

Roberts, N., Hilliard, M., He, Q. P., & Wang, J. (2020). A microalgae-methanotroph coculture is a promising platform for fuels and chemical production from wastewater. *Frontiers in Energy Research*, 8. doi:10.3389/fenrg.2020.563352

Rossi, S., Casagli, F., Mantovani, M., Mezzanotte, V., & Ficara, E. (2020). Selection of photosynthesis and respiration models to assess the effect of environmental conditions on mixed microalgae consortia grown on wastewater. *Bioresource Technology*, 305. doi:10.1016/j.biortech.2020.122995

Ruiz, A. (2011). Puesta en marcha de un cultivo de microalgas para la eliminación de nutrientes de un agua residual urbana previamente tratada anaeróbicamente. <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/12831/Ruiz%20Martinez%20Ana%20%20T>

[esina%20Fin%20Master%20-%202011.pdf?sequence=1](https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/12831/Ruiz%20Martinez%20Ana%20%20T)

S. Cho, N. Lee, S. Park, J. Yu, T.T. Luong, Y.K. Oh, T. Lee Microalgae cultivation for bioenergy production using wastewaters from a municipal WWTP as nutritional sources *Bioresour. Technol.*, 131 (2013), pp. 515-520"

Saeid, A., & Chojnacka, K. (2015). Toward production of microalgae in photobioreactors under temperate climate. *Chemical Engineering Research and Design*, 93, 377-391.

Sandoval, M. (2013). Diseño, construcción y puesta en marcha de un fotobiorreactor piloto para el crecimiento de la microalga *Chlorella sp* en el laboratorio de biotecnología y energías renovables de la empresa eléctrica en Quito. <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/6487/1/T-ESPE-047130.pdf>

Sayedin, F., Kermanshahi-pour, A., He, Q. S., Tibbetts, S. M., Lalonde, C. G. E., & Brar, S. K. (2020). Microalgae cultivation in thin stillage anaerobic digestate for nutrient recovery and bioproduct production. *Algal Research*, 47. doi:10.1016/j.algal.2020.101867

Scarponi, P., Bonetto, A., Bolzonella, D., Astals, S., & Cavinato, C. (2020). Anaerobic co-digestion effluent as substrate for *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus obliquus* cultivation. *Energies*, 13(18). doi:10.3390/en13184880

Scarponi, P., Volpi Ghirardini, A. M., Bravi, M., & Cavinato, C. (2021). Evaluation of *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus obliquus* growth on pretreated organic solid waste digestate. *Waste Management*, 119, 235-241. doi:10.1016/j.wasman.2020.09.047

Sekine, M., Yoshida, A., Akizuki, S., Kishi, M., & Toda, T. (2020). Microalgae cultivation

using undiluted anaerobic digestate by introducing aerobic nitrification-desulfurization treatment. *Water Science and Technology*, 82(6), 1070-1080. doi:10.2166/wst.2020.153

Serejo, M. L., Ruas, G., Braga, G. B., Paulo, P. L., & Boncz, M. À. (2021). *Chlorella vulgaris* growth on anaerobically digested sugarcane vinasse: Influence of turbidity. *Anais Da Academia Brasileira De Ciencias*, 93(1) doi:10.1590/0001-3765202120190084

Serna-García, R., Ruiz-Barriga, P., Noriega-Hevia, G., Serralta, J., Pachés, M., & Bouzas, A. (2021). Maximising resource recovery from wastewater grown microalgae and primary sludge in an anaerobic membrane co-digestion pilot plant coupled to a composting process. *Journal of Environmental Management*, 281 doi:10.1016/j.jenvman.2020.111890

Serna-García, R., Zamorano-López, N., Seco, A., & Bouzas, A. (2020). Co-digestion of harvested microalgae and primary sludge in a mesophilic anaerobic membrane bioreactor (AnMBR): Methane potential and microbial diversity. *Bioresource Technology*, 298 doi:10.1016/j.biortech.2019.122521

Sforza, E., Barbera, E., Girotto, F., Cossu, R., & Bertucco, A. (2017). Anaerobic digestion of lipid-extracted microalgae: Enhancing nutrient recovery towards a closed loop recycling. *Biochemical Engineering Journal*, 121, 139-146. doi:10.1016/j.bej.2017.02.004

Skorupskaite, V., Makareviciene, V., & Levisauskas, D. (2015). Optimization of mixotrophic cultivation of microalgae *Chlorella* sp. for biofuel production using response surface methodology. *Algal Research*, 7, 45-50. doi:10.1016/j.algal.2014.12.001

Soratana, K., Barr, W. J., & Landis, A. E. (2014). Effects of co-products on the life-cycle

impacts of microalgal biodiesel. *Bioresource Technology*, 159, 157-166. doi:10.1016/j.biortech.2014.02.070

T. Li, Y. Zheng, L. Yu, S. Chen Mixotrophic cultivation of a *Chlorella sorokiniana* strain for enhanced biomass and lipid production *Biomass Bioenergy*, 66 (2014), pp. 204-213"

Tan, X. -, Yang, L. -, Zhang, W. -, & Zhao, X. -. (2020). Lipids production and nutrients recycling by microalgae mixotrophic culture in anaerobic digestate of sludge using wasted organics as carbon source. *Bioresource Technology*, 297 doi:10.1016/j.biortech.2019.122379

Tao, R., Kinnunen, V., Praveenkumar, R., Lakaniemi, A. -, & Rintala, J. A. (2017). Comparison of *Scenedesmus acuminatus* and *Chlorella vulgaris* cultivation in liquid digestates from anaerobic digestion of pulp and paper industry and municipal wastewater treatment sludge. *Journal of Applied Phycology*, 29(6), 2845-2856. doi:10.1007/s10811-017-1175-6

Torres Franco, A. F., Da Encarnação Araújo, S., Passos, F., De Lemos Chernicharo, C. A., Filho, C. R. M., & Figueredo, C. C. (2018). Treatment of food waste digestate using microalgae based systems with low-intensity light-emitting diodes. *Water Science and Technology*, 78(1), 225-234. doi:10.2166/wst.2018.198

Torres-Franco, A. F., Zuluaga, M., Hernández-Roldán, D., Leroy-Freitas, D., Sepúlveda-Muñoz, C. A., Blanco, S., . . . Muñoz, R. (2021). Assessment of the performance of an anoxic-aerobic microalgal-bacterial system treating digestate. *Chemosphere*, 270 doi:10.1016/j.chemosphere.2020.129437

Uggetti, E., Sialve, B., Latrille, E., & Steyer, J. -. (2014). Anaerobic digestate as substrate for microalgae culture: The role of ammonium concentration on the microalgae productivity.

- Bioresource Technology, 152, 437-443. doi:10.1016/j.biortech.2013.11.036
- Veronesiv, D., D'Imporzano, G., Salati, S., & Adani, F. (2017). Pre-treated digestate as culture media for producing algal biomass. *Ecological Engineering*, 105, 335-340. doi:10.1016/j.ecoleng.2017.05.007
- Wang, H., Qi, B., Jiang, X., Jiang, Y., Yang, H., Xiao, Y., . . . Wang, W. (2019). Microalgal interstrains differences in algal-bacterial biofloc formation during liquid digestate treatment. *Bioresource Technology*, 289 doi:10.1016/j.biortech.2019.121741
- Wang, Q., Higgins, B., Ji, H., & Zhao, D. (2018). Improved microalgae biomass production and wastewater treatment: Pre-treating municipal anaerobic digestate for algae cultivation. Paper presented at the ASABE 2018 Annual International Meeting, doi:10.13031/aim.201801333 Retrieved from www.scopus.com
- Wang, Q., Higgins, B., Ji, H., & Zhao, D. (2019). Use of photocatalytic nanomaterials for volatile fatty acid removal from anaerobic digestate leads to improved algal growth. Paper presented at the 2019 ASABE Annual International Meeting, doi:10.13031/aim.201900653 Retrieved from www.scopus.com
- X. Liu, S. Duan, A. Li, N. Xu, Z. Cai, Z. Hu Effects of organic carbon sources on growth, photosynthesis, and respiration of *Phaeodactylum tricornutum* *Appl. Phycol.*, 21 (2009), pp. 239-246"
- Xia, A., & Murphy, J. D. (2016). Microalgal cultivation in treating liquid digestate from biogas systems. *Trends in Biotechnology*, 34(4), 264
- Zhao, Y., Wang, J., Zhang, H., Yan, C., & Zhang, Y. (2013). Effects of various LED light wavelengths and intensities on microalgae-based simultaneous biogas upgrading and digestate nutrient reduction process. *Bioresource Technology*, 136, 461-468. doi:10.1016/j.biortech.2013.03.051
- Zheng, T., Li, P., Ma, X., Sun, X., Wu, C., Wang, Q., Gao, M., 2018. Pilot-scale multi-level biological contact oxidation system on the treatment of high concentration poultry manure wastewater. *Process Saf. Environ.* 120, 187–194
- Zhou, J., Wu, Y., Pan, J., Zhang, Y., Liu, Z., Lu, H., & Duan, N. (2019). Pretreatment of pig manure liquid digestate for microalgae cultivation via innovative flocculation-biological contact oxidation approach. *Science of the Total Environment*, 694 doi:10.1016/j.scitotenv.2019.133720
- Zhu, S., Feng, S., Xu, Z., Qin, L., Shang, C., Feng, P., . . . Yuan, Z. (2019). Cultivation of *Chlorella vulgaris* on unsterilized dairy-derived liquid digestate for simultaneous biofuels feedstock production and pollutant removal. *Bioresource Technology*, 285 doi:10.1016/j.biortech.2019.121353
- Zhu, Z., Wang, M., Zhang, Y., Li, B., Zhang, T., Dong, T., & Liu, Z. (2017). Biocrude oil preparation by hydrothermal liquefaction of *Chlorella* cultivated in biogas digestate from chicken manure and its characteristic. *Nongye Gongcheng Xuebao/Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 33(8), 191-196. doi:10.11975/j.issn.1002-6819.2017.08.026
- Ziganshina, E. E., Bulynina, S. S., & Ziganshin, A. M. (2021). Assessment of *Chlorella sorokiniana* growth in anaerobic digester effluent. *Plants*, 10(3), 1-17. doi:10.3390/plants10030478
- Zuliani, L., Frison, N., Jelic, A., Fatone, F., Bolzonella, D., & Ballottari, M. (2016). Microalgae cultivation on anaerobic digestate of municipalwastewater, sewage sludge and agro-waste. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(10) doi:10.3390/ijms17101692

Anexo 1.

Nombre articulo	Pretratamiento	Condiciones de cultivo	Productividad o concentración de biomasa obtenida	%Remoción	Referencia
El tratamiento de microalgas elimina los nutrientes y reduce la ecotoxicidad del digestato de porcino diluido	Dilución del digestato	CO2(97:3 v/v), temperatura de 25 ± 2 ° C, intensidad de luz continua de 300 μmol m ⁻² s ⁻¹	229 mg/L*día	64,3% amonio, 55,2% nitrogeno, 93,3% fosfato	Franchino <i>et al.</i> (2016)
Azúcar residual de la biomasa de microalgas extraída de la fitorremediación de digestato de aguas residuales porcinas	Dilución del digestato	Exposicion a la luz solar directa (321,5± 411,4 μmol m ² s ¹) y temperatura media de 31,7 C ±16,3 °C	Dry cell weight (g/L) 0,3-0,4	Yield of hydrolysis (%) 49,6	Michelon <i>et al.</i> (2019)
Establecimiento de un consorcio estable de microalgas y bacterias en digestato líquido para la eliminación de nutrientes y la acumulación de biomasa.	Lodos activados con reactor de secuenciación por lotes	25 ° C	85,14 mg/L*día	30,75% NH ₄ ⁺ -N, 26,84% NO ₃ ⁻ -N	Jiang <i>et al.</i> (2018)
Comparación entre mezcla a chorro y a paletas para el cultivo de microalgas en digestato anaeróbico de efluentes de porcinos (ADPE)	Dilución del digestato	Temperatura (osciló entre 21,1 ° C y 29,6 ° C). La media de radiación solar global fue de 819,12 W m ⁻²	-	E1- 23,5 ± 4,42 E2- 36,8 ± 3,93	Eltanahy <i>et al.</i> (2018)
La optimización del cultivo de microalgas en digestato líquido después de la precipitación de estruvita mediante análisis relacional gris	Precipitación de minerales	Temperatura constante (25 °C), ciclo de 12 horas de luz/12 horas de oscuridad, con flujo de 50 μmol/m ² S	-	96,52% NH ₄ ⁺ - N, 99,33% PO ₄ ⁻ -P, 35,30% COD	Jiang, Y., Wang, H. <i>et al</i> (2018)
Digestato pretratado como medio de cultivo para producir biomasa de algas	Ultrafiltración	luz artificial de 90 μmol m ⁻² s ⁻¹ , suministro de flujo de aire constante y temperatura constante de 22°C. ± 1 ° C	Concentración biomasa 1,16 ± 0,1 g L ⁻¹	92 ± 3% del N inicial total	Veronesiv <i>et al.</i> (2017)
Una nueva opción para reducir la densidad óptica del digestato líquido para lograr un cultivo de microalgas más productivo	Extracción y adsorción con carbón activado	Periodos de luz/oscuridad de 12 h, de 130 μmol m ⁻² s ⁻¹ , aireación constante, la temperatura de 20±2°C	220 ± 78 mg/ L * día	(87 ± 3%) DQO soluble, (90 ± 3%) nitratos	Marazzi <i>et al.</i> (2017)
Crecimiento de microalgas en digestato anaeróbico sin diluir de efluentes de porcinos con altas concentraciones de amonio	Sistema de filtración de arena	Luz 440 μ/m ² *s ¹ , temperatura de 25 ± 3 ° C con un ciclo de 12:12 día: noche. Al aire libre, luz natural entre 215 y 700 μmol/m ² *s ¹ , temperaturas noche desde 2°C- día hasta de 47 ° C	18,5 mg de peso seco/ L*día	63,7 ± 12,1 mg/ L*día de amonio	Ayre <i>et al.</i> (2017)
La influencia de los efluentes de la digestión anaeróbica (ADE) utilizados como fuentes de nutrientes para Chlorella sp. Cultivo en la producción de biogás fermentativo	Dilución del digestato	Luz fluorescente de 18 W, suministro de CO2 constante con entrada continua de aire (a 250 L/h), la temperatura era de 22,0 ± 2,0 C	Concentración biomasa 2000 mg L ⁻¹	-	Dębowski <i>et al.</i> (2017)
Intensificación de la producción de energía limpia mediante el cultivo de microalgas mixotróficas a partir de digeridos de sistemas de biogás: efectos de la intensidad de la luz, la dilución media y el tiempo de cultivo	Dilución del digestato	Iluminación artificial a 39 μmol/m ² /s en un fotoperiodo de 16 h, flujo de aire continuo, temperatura 25 ± 1 °C, agitación magnética	0,95 g/L(biomasa seca)	43,8 Nitrógeno - 62,3 % Fosforo	Chaiprapat <i>et al.</i> (2017)
Producción de Chlorella sp. Silvestre. cultivado en estiércol de cerdo digerido y pretratado con membrana derivado de una planta de operación a gran escala	Centrifugación y ultrafiltración	Iluminación constante con dos bombillas a 150 μE/m ² *s ¹ , aire con un flujo de 0.3 L/L*min	0,10 g/ L*día	95% -98% de N-NH ₄ ⁺ y 61-73% de DQO	Ledda <i>et al.</i> (2015)

Anexo 1.

Nombre articulo	Pretratamiento	Condiciones de cultivo	Productividad o concentración de biomasa obtenida	%Remoción	Referencia
Evaluación de un polímero orgánico a base de taninos para cosechar la biomasa de <i>Chlorella vulgaris</i> a partir de la fitorremediación del digestato de aguas residuales porcinas	Dilución del digestato	Iluminación constante a 180 $\mu\text{E}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$, aire con un flujo de 0.3 L/L*min, temperatura a 25 °C	Concentración de biomasa 45 a 165 mg/ L	-	Mezzari <i>et al.</i> (2014)
Evaluación de la emisión de N ₂ O de un fotobiorreactor que trata el digestato de aguas residuales porcinas rico en amoníaco	Dilución del digestato	Temperatura ambiente (22 \pm 2 °C), agitación magnética continua, un fotoperiodo de 12 h utilizando dos lámparas fluorescentes (44,8 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$).	-	45,2% NH ₄ -N	Mezzari <i>et al.</i> (2013)
Fitorremediación y producción de biomasa a partir de aguas residuales porcinas de alta resistencia para la mejora de la generación de biogás: un bioproceso integrado	Dilución del digestato	Iluminación LED 99 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, temperatura 25 \pm 1 °C y agitación 500 rpm, pH 7	198 mg DW L ⁻¹ d ⁻¹	90% Fosfato 70% nitrógeno	Dinnebier <i>et al.</i> (2021)
Tratamiento de digestato de cerdos por <i>Chlorella vulgaris</i> previa carente de nitrógeno: el efecto de la estrategia de compensación excesiva en la producción de biomasa de microalgas y la eliminación de nutrientes	Dilución del digestato	iluminación 200 μmol fotones $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ a una temperatura constante de 25 \pm 1 °C. 2% de aire mezclado con CO ₂ , 0,2 vvm	19,4 mg L ⁻¹ d ⁻¹	99% nitrógeno amoniacal 97% fósforo total	Ran <i>et al.</i> (2021)
Mejora de la eliminación de nutrientes y la acumulación de biomasa de <i>Chlorella vulgaris</i> en el efluente de digestato anaeróbico de estiércol de cerdo mediante el pretratamiento de bacterias autóctonas	Bacterias indígenas	temperatura (26 \pm 1 °C) e iluminación continua (2,5 \pm 0,1 kLux).	225 mg/L	57,14% DQO, 75,00% NH ₄ + -N, 63.83% Fosforo total 54.54% Turbidez	Gu <i>et al.</i> (2021)
Evaluación del potencial de <i>Chlorella vulgaris</i> para la valorización de digestatos líquidos de desechos orgánicos agroindustriales y municipales en un enfoque de biorrefinería	Dilución del digestato	Agitación de 250 rpm y aireación constante de 0.5 L min ⁻¹ , Iluminación de fotones de 370 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ LED. La temperatura se mantuvo a 25 \pm 2 C y el pH a 8 \pm 0,5	1.63 g/L	86% DQO, 94 % Carbohidratos, Nitrógeno total 70%, Fósforo total 94%	Koutra <i>et al.</i> (2021)
El crecimiento y la eliminación de nutrientes de <i>Chlorella vulgaris</i> en las aguas residuales de porcicultura crudas y digeridas anaeróbicamente con reducción de amoníaco	Dilución del digestato, 'Air stripping' y tratamiento con NaOCl	pH 6.8, Temperatura 25°C, iluminación 50 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ iluminación continua de luz fluorescente blanca fría, 150 rpm	0,57 g/L d	98.7-99.8% NH ₃ -N, Fósforo total 41.0-62.5%.	Kwon <i>et al.</i> (2020)
Comparación del rendimiento y la estructura de la comunidad microbiana de dos fotobiorreactores a escala piloto al aire libre que tratan el digestato	Dilución del digestato	Rw: pH 7,5, 20 rpm, 21,9 PBR: pH 8,5, 25 °C, 2.5 L/h	25 mg/L d	81% NH ₄ +-N	Bani <i>et al.</i> (2020)
Pretratamiento de digestato líquido de estiércol de cerdo para el cultivo de microalgas mediante un enfoque innovador de oxidación por contacto biológico-floculación	floculación y oxidación por contacto biológico	26 \pm 0.5 °C bajo una intensidad de luz de 140 $\mu\text{mol} / (\text{m}^2 \cdot \text{s})$ con un ciclo de luz oscuro 16: 8	3,3 g/L	55% DQO, 46,1% NH ₃ -N, 74,9% Fósforo total	Zhou <i>et al.</i> (2019)
Efectos del nitrógeno y el fósforo en la composición bioquímica del policultivo de microalgas extraídas de la fitorremediación de digestato de aguas residuales de porcinos	Dilución del digestato	23 °C, ciclo de luz oscuro 12:12, Lámpara fluorescente 44.8 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	30,4 mg/L d	100% PO ₄ -2, 100% NH ₃	Michelon <i>et al.</i> (2016)
Evaluación comparativa del porcino ~ tratamiento de aguas residuales en fotobiorreactores bacterianos de algas en condiciones de interior y exterior	Dilución del digestato	LED 1417 \pm 82 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$	5,6 g/m ² d	94% Carbono orgánico total, 100% Fósforo total, 72% Nitrógeno total	García <i>et al.</i> (2017)

