



TÍTULO

PROPUESTA DE PRODUCCIÓN DE MICROALGAS EN LA ECONOMÍA
CIRCULAR

AUTORA

Natalia Gamboa De La Torre

Esta edición electrónica ha sido realizada en 2021

Director	Dr. D. Carlos Vílchez Lobato
Instituciones	Universidad Internacional de Andalucía ; Universidad de Huelva
Curso	<i>Máster Oficial Interuniversitario en Tecnología Ambiental (2020/21)</i>
©	Natalia Gamboa De La Torre
©	De esta edición: Universidad Internacional de Andalucía
Fecha documento	2021



**Atribución-NoComercial-SinDerivadas
4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0)**

Para más información:

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.en>



PROPUESTA DE PRODUCCIÓN DE MICROALGAS EN LA ECONOMÍA CIRCULAR

Natalia Gamboa De La Torre

Trabajo entregado para la obtención del grado de
MÁSTER EN TECNOLOGÍA AMBIENTAL

Modalidad: Profesional

Marzo / 2021

Director:

Dr. Carlos Vílchez Lobato

RESUMEN

A través de los años las microalgas han comenzado a despertar interés a nivel industrial, debido a las múltiples aplicaciones que presentan para la elaboración de productos relacionados con la salud en los ámbitos nutricional, farmacéutico, cosmético y en nutrición animal. Por otro lado, las microalgas también presentan un alto potencial para brindar soluciones prácticas en cuanto a la mitigación de impactos ambientales, tales como la eliminación de contaminantes en aguas residuales, el empleo en biofertilización, o su posible utilización como biofactorías en la producción de energías renovables, en particular biocombustibles. Los residuos de biomasa no utilizados terminan devolviendo sus componentes al ciclo natural de los elementos que la integran (C, O, N, P, S...). Por ello, las microalgas se consideran adecuadas para el desarrollo de procesos productivos que respeten los principios de la economía circular.

Considerando lo anterior, el objetivo principal de este TFM fue evaluar, teóricamente, la recuperación de nutrientes (N y P) de un efluente proveniente de una EDAR localizada en la Provincia de Huelva, en España, incorporándolos a biomasa de microalgas que se utilizaría, finalmente, para obtención de biodiésel. La EDAR se seleccionó en base a la proximidad a espacios naturales y al rango de temperaturas adecuado al cultivo de microalgas, en la zona de ubicación de la EDAR, teniéndose en cuenta también las horas reales anuales de insolación. La EDAR de El Rocío cumplía los criterios de selección aplicados con la metodología descrita en este TFM. El documento se desarrolló bajo un enfoque de economía circular, aplicando las 3R (reducir, reutilizar y reciclar) en el planteamiento de los diferentes aspectos del proceso.

Se seleccionó un sistema de producción de microalgas (SM) del tipo tanque abierto agitado, construido en fibra de vidrio, operado en modo continuo durante todo el año. El sistema de producción se dimensionó mediante la selección de criterios específicos justificados en este trabajo, y la productividad del sistema se aproximó considerando la diferente tasa de crecimiento del cultivo según la época del año, divididas en este TFM en época “de calor” (mayo-octubre) y “de frío” (resto de meses). Para ambas épocas, se estimaron los requerimientos nutricionales diarios, semestrales y anuales de dióxido de carbono, nitrógeno y fósforo, esenciales para mantener activo y productivo el SM. Se proyectó, igualmente, la cantidad de lípidos que generaría el SM y de biodiésel por transesterificación, determinándose los requerimientos de metanol necesarios y el volumen de glicerol generado como subproducto.

De manera general, el análisis realizado cuantificó una producción anual de 9,39 toneladas de biomasa seca de *Chlorella minutissima* por cada 11,25 m³ d⁻¹ de agua de la EDAR, y la extracción de los lípidos acumulados por la microalga permitiría la obtención, por transesterificación, de 1,67 toneladas de biodiésel anual y generando 0,56 toneladas de glicerol, útil como materia prima para la fabricación de diferentes productos.

En conclusión, este TFM genera un marco de condiciones y datos, desde un análisis teórico, útil para evaluar la viabilidad de la implementación de sistemas de producción de microalgas en EDAR carentes de tratamiento terciario y próximas a

lugares de valor ecológico. Los resultados del análisis muestran el potencial de dicha tecnología sostenible para mitigar posibles impactos ambientales y obtener, al mismo tiempo, algún valor de la biomasa producida que permita minimizar los costes derivados de todo ello.

ABSTRACT

Over the years, microalgae have begun to present a high interest at an industrial level, due to the multiple uses and applications that they present for the elaboration of health-related products in nutraceutical, pharmaceutical, cosmetic and animal nutrition fields. On the other hand, microalgae also have a high potential to provide practical solutions in terms of mitigating environmental impacts, such as the elimination of pollutants in wastewater, the use as biofertilizer, or its possible utilisation as biofactories in the production of renewable energies such as biofuels. The remaining biomass waste ends up returning its components to the natural cycle of the elements that make it up (C, O, N, P, S...). For this reason, microalgae are considered suitable for the development of production processes that respect the principles of the circular economy.

Based on the above, the main objective of this Master Thesis was to theoretically evaluate the recovery of nutrients (N and P) from an effluent from a WWTP located in the Province of Huelva, in Spain, incorporating them into microalgae biomass that would be used, finally, to obtain biodiesel. The WWTP was selected based on the proximity to natural spaces and the appropriate temperature range for the cultivation of microalgae in the area where the WWTP was located, also taking into account the actual annual hours of insolation. The El Rocío WWTP fulfilled the selection criteria applied with the methodology described in this TFM. The document was developed under a circular economy approach, applying the 3Rs (reduce, reuse and recycle) in the approach to the different aspects of the process.

A stirred open tank system for microalgae production, built in fiberglass, was selected, operated in continuous mode throughout the year. The microalgae production system (MS) was dimensioned by selecting specific criteria justified in this document, and the productivity of the system was approached by considering the different growth rates of the crop according to the time of year, which in this Master Thesis was divided into two like-seasonal periods: "Hot" (May-October) and "cold" (other months). For both seasons, the daily, semi-annual and annual needs of carbon dioxide, nitrogen and phosphorus were estimated, which are essential chemical compounds to keep the MS active and productive. Likewise, the amount of lipids that the MS would generate and the biodiesel that would be produced by transesterification were approached, determining the necessary methanol needs and the glycerol volume obtained as subproduct.

In general, the analysis carried out led to quantify an annual production of 9.39 tons of dry biomass of *Chlorella minutissima* for every 11.25 m³ d⁻¹ of water from the WWTP, and the extraction of lipids accumulated by the microalgae would allow obtaining 1.67 tons of biodiesel year by transesterification, generating 0.56 tons of glycerol useful as raw material for the manufacture of different products.

In conclusion, this Master Thesis generates a framework of conditions and data, from a theoretical analysis, which allows to partly evaluate the viability of the implementation of microalgae production systems in WWTP lacking tertiary treatment and close to places of high ecological value. The results of the analysis show the potential of said sustainable technology to mitigate possible environmental impacts

and obtain, at the same time, value from the produced biomass which allows minimizing the costs derived from all this.

ÍNDICE

RESUMEN	iv
ABSTRACT	vi
1 INTRODUCCIÓN	1
1.1 Estado del Arte	1
1.2 La producción de Microalgas	1
1.2.1 Luz.....	1
1.2.2 Temperatura.....	4
1.2.3 pH.....	4
1.2.4 Nutrientes Mayoritarios.....	5
1.3 Sistema de Cultivo	10
1.4 Cosechado	17
1.5 Procesado de la Biomasa.....	18
1.6 Aplicaciones de las Microalgas.....	22
1.7 Estación Depuradora de Aguas Residuales El Rocío.....	26
1.8 Objetivos.....	27
1.9 Justificación	28
2 MATERIALES Y MÉTODOS	29
2.1 Variables y Principales Parámetros Objeto de Estudio.....	29
2.2 Fuentes de Información Científica y Técnica.....	29
2.3 Métodos de Análisis de la Información	30
2.3.1 Preparación de Información con software Arcgis	30
2.3.2 Herramienta de Gestión de Datos, Cálculo y Gráficos	31
2.3.3 Herramienta de Gestión de Información Geográfica	32
2.4 Cálculos de Parámetros del SM.	34
2.4.1 Tasa de Crecimiento Promedio.	34
2.4.2 Tasa de Dilución.....	34
2.4.3 Caudal de Salida del SM y Productividad de Biomasa	35
2.4.4 Cálculos de Requerimientos Nutricionales	35
3 RESULTADOS.....	38
3.1 Selección de la EDAR más Adecuada.....	38
3.1.1 Proximidad a Espacios Naturales.....	38
3.1.2 Rango de Temperaturas Adecuado al Cultivo de Microalgas.....	40
3.1.3 Horas Reales de Insolación.....	43
3.2 Implementación de un Sistema de Producción de Microalgas	46

3.2.1	Sistema de Producción.....	47
3.2.2	Elección de la Microalga.....	50
3.2.3	Características Operacionales del Sistema de Producción.	51
3.2.4	Balance de Nutrientes Principales.....	56
3.2.5	Extracción.....	62
4	DISCUSIÓN	64
4.1	Selección de la EDAR más adecuada.....	64
4.1.1	Proximidad a Espacios Naturales.....	64
4.1.2	Rango de Temperaturas Adecuado al Cultivo de Microalgas.....	64
4.1.3	Horas Reales de Insolación.....	65
4.2	Implementación de un SM.....	67
4.2.1	Sistema de Producción.....	67
4.2.2	Elección de Microalga.....	69
4.3	Extracción.....	72
5	CONCLUSIONES	75
6	REFERENCIAS.....	77
7	ANEXOS	82

1 INTRODUCCIÓN

1.1 ESTADO DEL ARTE

En los últimos años se ha acrecentado el interés industrial en la producción de microalgas debido a la necesidad de modificar los modelos actuales de producción industrial por otros más amigables con el medioambiente. El objetivo global, definido por los principios de la economía circular, es reducir insumos y subproductos no biodegradables, y reducir la emisión de gases efecto invernadero. Por ello se han intensificado en la última década las acciones de innovación destinadas a desarrollar proyectos enfocados a la producción de energías renovables mediante la aplicación de microalgas (biodiésel y biometano) (Ilevina & Romagnoli, 2020). Las microalgas utilizan CO₂ como fuente de carbono, y el uso de emisiones industriales de este gas para alimentar sistemas de producción de microalgas contribuiría a reducir, en cualquier extensión, las emisiones de este compuesto que promueve al calentamiento global. No obstante, no debe perderse de vista que considerar a las microalgas como parte relevante de una solución global al problema del incremento de CO₂ en la atmósfera no es realista, como se discute en este TFM. Sin embargo, se ha demostrado que, por su contenido relativamente alto en lípidos transesterificables, las microalgas son una potencial fuente de energía renovable (biodiésel) (Chisti, 2007). Diferentes estudios demuestran su eficacia en procesos que combinan la descontaminación de aguas con altos contenidos de carbono orgánico, fósforo y nitrógeno (considerados como los principales macronutrientes esenciales para su desarrollo) y la producción de biometano por la posterior digestión anaerobia de la biomasa (Varol & Ugurlu, 2016). Estos microorganismos pueden considerarse, quizás y por todo ello, como actores relevantes en el nuevo escenario de economía circular al que estamos abocados.

1.2 LA PRODUCCIÓN DE MICROALGAS

Para poder optimizar la producción de un cultivo de microalgas, es necesario establecer qué parámetros (o factores) fisicoquímicos, y en qué magnitud, deben ser considerados para promover la máxima productividad del microorganismo cultivado.

A continuación, se desglosan, agrupados, los principales tipos de factores que se deben tener en cuenta para acelerar las actividades metabólicas de los microorganismos. Durante la producción masiva de una microalga es necesario monitorizar estos factores con frecuencia, con el fin de conservar un equilibrio en la tasa de crecimiento y mantenimiento de la densidad celular (aproximadamente constante). Los factores que mayor incidencia tienen en la producción de microalgas son los siguientes:

- Factores medioambientales (químicos y físicos): luz, temperatura y pH.
- Factores nutricionales (químicos): nutrientes mayoritarios y minoritarios.

1.2.1 Luz.

Las microalgas son organismos fotosintéticos capaces de convertir la energía solar en biomasa, pudiendo alcanzar una eficiencia máxima aproximada del 9%,

mientras que las plantas tan solo presentan una eficiencia promedio del 2% (Forjan et al., 2014). Por esta razón es importante controlar la cantidad de luz y el tiempo de exposición a ésta, ya que la irradiancia es determinante en la tasa de crecimiento.

Si la radiación natural no satisface los requerimientos necesarios para los objetivos industriales de un proceso de producción de microalgas, se puede implementar iluminación artificial. La iluminación artificial puede suministrarse mediante lámparas o con diodos emisores de luz, entre otras luminarias, que sean capaces de generar fotones con una cierta longitud de onda, al menos en ciertos valores entre 540 y 680nm. Si se piensa en la rentabilidad del uso de la fuente de luz y en la producción de un cultivo en fotobiorreactores (PBR), operados en modo continuo durante largo tiempo -meses, años-, sería recomendable utilizar diodos emisores de luz (LED), con una longitud de onda máxima de 630 nm (Kommareddy & Anderson, 2003), con un periodo de vida útil es de 50.000 horas y que no contienen mercurio

La rentabilidad de los LED frente a otras fuentes de luz artificial se debe a varias características específicas. Los diodos emisores de luz (LED AlInGaP II aluminio, indio, fosforo de galio), tienen una incidencia de luz direccional, consumen menos energía y las pérdidas por calor son menores, es decir que el 80% de la energía consumida se convierte en luz. Además, en el caso de los LED de luz roja el 98,42% de la luz emitida, está dentro del rango de 600 a 700 nm, adecuado para la absorción de luz en los centros de reacción de la fotosíntesis (fotosistemas I y II). La implementación de LED de color azul, con longitudes de onda en el rango entre 400 y 500nm, puede ralentizar el crecimiento de las microalgas por la menor eficiencia del uso de dichos fotones en los centros de reacción de la fotosíntesis, lo cual desaconseja emplear, en principio y dependiendo del organismo fotosintético, LEDs en el citado rango de longitudes de onda (Esteves et al., 2020; Simon et al., 2014).

Al complementar la limitación de luz natural con luz artificial de LED adecuadamente seleccionados, se puede conseguir un cierto control de la bioquímica de las principales biomoléculas y, por tanto, de la composición de la biomasa, gracias a la posibilidad de regular la intensidad de luz, el rango de longitudes de onda y/o la frecuencia temporal de la iluminación que incide sobre el cultivo (Simon et al., 2014).

Así mismo es importante tener en cuenta la densidad o concentración celular en los fotobiorreactores; una alta densidad celular requiere aumentar la intensidad de la luz, con el objetivo de mejorar la penetración de los fotones en el cultivo y, así, minimizar el efecto pantalla producido por las células que, en un instante concreto, están en la zona de cultivo más cercana a la fuente de luz. Por lo anterior, es imprescindible regular la intensidad de luz que llega a los cultivos ya que si el cultivo se sobreexpone, generando fotoinhibición en su crecimiento debido a que el exceso de fotones que no puede ser absorbido en el proceso fotoquímico de la fotosíntesis; estos fotones en exceso causan daños fotooxidativos en numerosas moléculas implicadas en la fotosíntesis y produce la reducción de los aceptores de electrones en los centros de reacción inhibiendo, finalmente, la cadena de transporte electrónico. Parte del exceso de poder reductor producido en fotosíntesis se almacenará en forma de carbohidratos y de lípidos, lo que por tanto apunta posibles estrategias para incrementar el contenido de las microalgas en ácidos grasos. En condiciones de baja intensidad de luz, el porcentaje de carbono y nitrógeno fijado aumenta, resultando en

un aumento del contenido proteico y una disminución de la concentración de carbohidratos (Forjan et al., 2014).

La Tabla 1.1, resume las principales alteraciones que puede presentar el crecimiento algal a causa del exceso y la deficiencia de luz.

Tabla 1.1. Principales efectos de la intensidad de luz sobre la composición y actividad fotosintética de las microalgas.

Intensidad Baja	Intensidad Alta
Incremento del contenido celular de clorofila a, clorofila b, clorofila c, ficobiliproteínas y carotenoides.	Incrementan la concentración de carotenoides (zeaxantina, astaxantina y el β -caroteno), que desempeñan una función fotoprotectora para el aparato fotosintético celular.
Algunas especies pueden generar una mayor concentración de lípidos poliinsaturados, como el ácido eicosapentaenoico.	Mejora la síntesis de carbohidratos, aumenta la presencia de ácidos grasos saturados y monoinsaturados. Algunas microalgas pueden llegar a aumentar la producción de polisacáridos.
Los pigmentos fotosintéticos (clorofila, ficobiliproteínas y carotenoides) absorben y transmiten energía luminosa de manera más eficiente.	El exceso de intensidad de luz (después de llegar al punto de saturación del cultivo) inhibe el crecimiento y, en el peor de los casos, conduce a pérdida de viabilidad celular.

Fuente: Adaptado de Forjan et al. (2014)

La Tabla 1.2 muestra, de forma general, el rango de longitudes de onda de máxima absorción de luz por parte de los principales pigmentos fotosintéticos de las microalgas (verdes y verdeazuladas).

Tabla 1.2. Principales pigmentos y rango de absorción en el espectro visible de la luz.

MICROALGA VERDE – AZULADA		MICROALGA VERDE	
Pigmento dominante	Longitud de onda (nm)	Pigmento dominante	Longitud de onda (nm)
Clorofila a	380-400; 600-670	Clorofila a	380-400; 600-670
Ficocianina	525-650	Clorofila b	410-480, 600-685

Fuente: Adaptado de Kommareddy, 2003.

En conclusión, es importante regular y, si es posible, minimizar las fluctuaciones en la luz que incide sobre los cultivos, manteniendo los rangos óptimos de intensidad lumínica necesarios para lograr el crecimiento óptimo de las microalgas en base al mantenimiento de una alta eficiencia fotosintética. Además, como se ha descrito, la regulación de la iluminación de los cultivos permite modificar la composición bioquímica mayoritaria de las microalgas, lo que puede utilizarse en la práctica para variar las propiedades alimentarias o industriales del producto.

1.2.2 Temperatura

Es un factor clave a la hora de planificar el cultivo masivo de microalgas, puesto que una temperatura subóptima para el crecimiento de un cultivo da lugar a células de menor tamaño que presentan una menor demanda de carbono, fósforo y otros nutrientes, por tanto, conduciendo a menores productividades. Una temperatura adecuada, en el rango mesófilo (20-45°C), facilita los procesos de fotosíntesis y respiración celular, con una biomasa rica en proteína. En cambio, si se mantiene el cultivo en condiciones fuera del rango de crecimiento para mesófilos -condiciones extremas, se favorece el aumento en el volumen celular y se producen modificaciones en la composición bioquímica, incluyendo por lo general en un aumento del contenido en lípidos (Forján et al., 2015). Si se desea conseguir la tasa máxima de crecimiento en las condiciones óptimas de temperatura, es necesario determinar los consumos de nutrientes a la temperatura en cuestión para asegurar niveles saturantes de nutrición, además de disponer de sistemas de control de la temperatura de los fotobiorreactores.

El rango de temperatura en que pueden subsistir la mayoría de las especies de microalgas esta entre 16 y 27°C. Se debe tener en cuenta que valores extremos generan limitaciones en el crecimiento debido a la dependencia exponencial que las constantes de las reacciones enzimáticas tienen de la temperatura. Por lo general, temperaturas superiores a los 35-37°C, suelen ser letales para la mayoría de especies. De manera general, la temperatura optima está dentro de los 20 y 24°C (Benavente et al., 2012). No obstante, este margen se define según las características particulares de cada especie. Lo anterior explica, por ejemplo, que una latitud como la de la costa onubense, con temperaturas máximas entre los 20°C y 32°C durante 6 meses del año, y mínimas entre los 9 y 20°C durante 6 meses del año, sea considerada muy prometedora para la producción masiva de microalgas.

Parte de la luz que incide sobre los cultivos contribuye al aumento de temperatura en el sistema de cultivo. Su control permitiría establecer medidas con objeto de reducir gastos energéticos derivados de la refrigeración, permitiendo además mejorar la eficiencia de la producción al mantener en los cultivos la temperatura idónea para favorecer el crecimiento.

1.2.3 pH

Un parámetro crítico para el crecimiento de las microalgas y la composición de la biomasa es el pH, puesto que este influye en su metabolismo debido a la estrecha relación que presenta con la solubilidad y disponibilidad del CO₂, de nutrientes y en el intercambio de protones. Particularmente, el dióxido de carbono apenas es soluble a pH ácido, lo que dificulta su disponibilidad para las células en cultivos líquidos. Considerando que el pK del equilibrio entre ácido carbónico y bicarbonato es, aproximadamente 3,1, puede inferirse que las formas solubles de carbono inorgánico (en especial el bicarbonato) sólo están disponibles de forma mayoritaria a partir de pH 6 y hacia el rango básico de la escala.

Durante el día las microalgas absorben CO₂, lo cual genera un aumento en el pH de los cultivos que puede afectar negativamente al crecimiento (Qiu et al., 2017). En este sentido, es necesario regular los valores de pH por medio de la inyección de CO₂ ó, en su defecto, generar un tampón. Por lo general, el tampón suele establecerse

con hidrógeno fosfato, lo que garantiza mantener el pH entre 7 y 7,5. En la producción masiva de microalgas, la corrección del pH se realiza mediante la inyección de CO₂ cuando el sensor de pH detecta el valor establecido como límite para la inyección. Por lo general, valores de pH superiores a 7,5 permiten un mejor aprovechamiento del carbono inorgánico disuelto (bicarbonato), por lo que la mayoría de especies, que utilizan mejor el bicarbonato, presentan mayor productividad y, en muchos casos, un contenido en proteínas cercano o superior al 50% de la biomasa (Qiu et al., 2017).

Al igual que la temperatura, el valor óptimo de pH depende de las características inherentes a cada especie de microalga. Pero, en general, este rango está entre los valores 7 y 9, aunque ciertas microalgas de ambiente muy extremo puedan crecer a pH 10 u 11, o a pH ácido extremo (<3), lo cual presenta la ventaja de dificultar, y en muchas ocasiones inhibir la contaminación por agentes patógenos (Varshney et al., 2015)

En conclusión, el cultivo a pH entre 7 y 9 es adecuado para la mayoría de especies, y desde la perspectiva de economía circular reduce la liberación a la atmósfera de parte del dióxido de carbono suplementado en los cultivos. Además, y en consecuencia, evita gastos derivados de la compra de dióxido de carbono (o de su fijación industrial), reduce el gasto de agua al favorecer la velocidad de la producción por crecimiento más rápido de la microalga y reduce gastos energéticos que derivarían de la necesidad de enfriamiento de los cultivos durante más tiempo.

La Tabla 1.3, recopila de forma resumida la información bibliográfica expuesta en el presente trabajo con respecto a las principales respuestas que pueden desarrollar las microalgas en momentos de estrés y en condiciones óptimas para cada factor.

Tabla 1.3. Respuestas celulares a factores fisicoquímicos

Factor	Valores subóptimos	Valores óptimos
Luz	Incremento o reducción del contenido celular de clorofila a, clorofila b, clorofila c, ficobiliproteínas y carotenoides. Aumento del contenido en lípidos.	Mejora la síntesis de proteínas y carbohidratos, aumenta la presencia de ácidos grasos saturados y monosaturados. Algunas microalgas pueden llegar a aumentar la producción de polisacáridos.
Temperatura (°C)	Menor demanda de carbono y nitrógeno. Disminución del contenido en proteína. Aumento del contenido en lípidos.	Equilibrio del perfil bioquímico mayoritario (50% proteínas y contenidos inferiores de carbohidratos y lípidos).
pH	Reducción en las tasas de incorporación de nutrientes, pérdida de viabilidad celular.	Contenido adecuado de proteínas y uso más eficiente del carbono inorgánico.

1.2.4 Nutrientes Mayoritarios

El carbono, nitrógeno y fósforo son nutrientes mayoritarios, esenciales, considerados determinantes para las microalgas, ya que su concentración en el medio define la tasa de crecimiento del microorganismo, por lo cual es necesario optimizar

la concentración y el periodo de consumo de estos para poder mantener productividades máximas.

- Carbono.

Las microalgas son organismos fotoautótrofos, asimilan CO₂ con la energía química fijada a partir de la radiación solar. De manera general, se considera que las concentraciones de CO₂ más adecuadas en el gaseo de cultivos, para alcanzar altas productividades, oscilan entre el 1 y el 5% (v/v) (Qiu et al., 2017); este valor de concentración tiende a variar según la especie, ya que algunas microalgas tienen mayor afinidad que otras por el carbono inorgánico disuelto y se bastan con concentraciones inferiores para utilizarlo con la misma eficiencia.

Debido a que los niveles CO₂ presentes en atmósfera [0.0387% (v/v)] no son suficientes para satisfacer la mínima demanda requerida por las microalgas conducente a una tasa de crecimiento máxima, es necesario evaluar otro método de suministro de carbono inorgánico adicional al medio de cultivo. El procedimiento habitual es mediante la inyección de CO₂. Según la bibliografía (Ota et al., 2009), se emplean habitualmente dos métodos de inyección: (a) su adición al cultivo mediante un flujo constante de aire enriquecido en el gas; y (b) la adición de CO₂ en función del pH del medio de cultivo, disminuyéndolo hasta un valor predeterminado que determina el fin de la inyección. La eficiencia de fijación de CO₂ y su disponibilidad está estrechamente relacionada con los valores de pH. Durante el crecimiento de la microalga, la fijación de CO₂ facilitada por la energía generada en la actividad fotosintética da como resultado un aumento del pH del medio de cultivo. Por tanto, la relación entre el aumento de pH y la utilización de CO₂ permite establecer un sistema de adición de CO₂ a demanda del cultivo, en función de su crecimiento, que se utiliza -como se ha explicado- como forma de regulación del pH.

En la Tabla 1.4, se mencionan algunas microalgas que presentan la máxima capacidad conocida de tolerancia de CO₂, con su respectivo límite de temperatura.

Tabla 1.4. Niveles de tolerancia a CO₂ de especies de microalgas pertenecientes a algunos géneros de valor comercial.

Microalga	Capacidad Máxima de Tolerancia a CO ₂ (%)	Concentración de CO ₂ para crecimiento óptimo (%)	Tolerancia a la Temperatura (°C)
<i>Spirulina</i> sp	12	6	30
<i>Scenedesmus obliquus</i>	18	6	30
<i>Chlorella kessleri</i>	18	12	30
<i>Chlorella</i> sp. ZY-1	70	10	25
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	15	27	15
<i>Euglena gracilis</i>	45	20	-

Fuente: Singh & Ahluwalia (2013), modificada.

La tolerancia a altos niveles de CO₂ no significa que dicho gas sea fijado en biomasa. De hecho, tan sólo una fracción del CO₂ del caudal de aire enriquecido que llega a un fotobiorreactor es utilizado por las células del cultivo algal, con un sistema eficaz de mezclado del gas en el medio de cultivo. Este uso limitado del CO₂, según refiere la bibliografía, estaría relacionado con la propia eficacia de los mecanismos de captura de carbono inorgánico de las microalgas, que alcanzan una actividad máxima, no mejorable mediante la modificación de la concentración de CO₂ (Morais et al., 2007). Por lo tanto, aunque en el cultivo de microalgas se utilicen efluentes gaseosos industriales ricos en CO₂, la tasa de consumo de dicha fuente de carbono está limitada y la mayor parte del gas, si se suministra de forma continua y no a demanda o diluido, se desperdiciaría y regresaría a la atmósfera. En base a lo comentado, se concluye que la productividad de los cultivos de microalgas está, en parte, limitada por los mecanismos de uso del CO₂, y ello varía según las especies producidas (Ota et al., 2009).

La concentración de dióxido de carbono puede influir en la composición de las microalgas. Diversos autores han investigado las principales consecuencias que pueden causar las concentraciones limitantes o saturantes de CO₂. Como ejemplo, la especie *C. kessleri*, expuesta a concentraciones limitantes de CO₂, presentó un aumento de ácido graso α -linoleico, mientras que la exposición de *C. reinhardtii* a altas concentraciones de CO₂ permitió identificar un mayor contenido de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) (Cuellar-Bermudez et al., 2015). Si bien no es inmediato inferir un patrón general de variación del perfil bioquímico de las microalgas cuando se someten a cambios en el nivel de CO₂, podría apuntarse, por lo anterior, que un nivel subóptimo (inferior o superior) de CO₂ podría dar lugar a una biomasa con un mayor contenido lipídico, particularmente interesante por el aumento de ácidos grasos poliinsaturados, lo que podría emplearse como estrategia para enriquecer la biomasa.

El suministro de CO₂ al medio es costoso debido a que previamente se debe realizar el proceso de captación, purificación, transporte y almacenamiento. En la producción masiva de microalgas, de hecho, es habitual utilizar dióxido de carbono adquirido de un suministrador de dicho gas, purificado y embalado a presión. Sin embargo, se ha podido demostrar que algunas microalgas son capaces de tolerar altos niveles de CO₂ y ciertos niveles de concentración de SO_x y NO_x (mayores a 100 ppm) (Jiang et al., 2012). Esto facilitaría el uso de dióxido de carbono procedente de efluentes industriales ricos en CO₂ y que presentan bajos niveles de óxidos de azufre y nitrógeno, reduciendo considerablemente los costes de suministro de carbono al cultivo. Por lo anterior, se recomienda establecer el sistema de cultivo masivo cerca de la industria que genera estos gases de combustión para así disminuir gastos y permitir generar un sistema productivo más próximo a los principios de la economía circular, según los cuales un desecho deja de serlo y se convierte en un subproducto para la generación de otra materia prima.

- Nitrógeno

El contenido de nitrógeno en la biomasa de las microalgas varía dependiendo de la especie, si bien su concentración en biomasa oscila entre 1 y 10%; este porcentaje de concentración está ligado principalmente a la disponibilidad del elemento presente en el medio, considerado como el segundo nutriente más relevante, después del carbono, por su presencia en proteínas y ácidos nucleicos (Richmond, 2003).

Los compuestos de nitrógeno inorgánico que se pueden suministrar a las microalgas en el medio de cultivo son: nitrato (fuente más abundante que se encuentra en diferentes hábitats), el nitrito (en altas concentraciones puede ser tóxico, no se recomienda su uso), y el amonio. En algunos casos se puede suministrar nitrógeno en formas orgánicas, tales como urea, amidas, glutamina, asparagina, y en algunos casos aminoácidos (arginina, glicina, lisina, ácido glutámico), y algunos compuestos como xantina, hipoxantina, ácido úrico, purinas y sus derivados (Abalde et al., 1995).

Las formas orgánicas, no obstante, pueden estimular el crecimiento bacteriano. Las bacterias presentan tiempos de generación mucho más bajos que las microalgas (minutos frente a horas), por lo que la adición de fuentes de nitrógeno orgánicas conlleva un alto riesgo de contaminación bacteriana, alterando la productividad y la calidad de la biomasa de la microalga producida.

En todo caso, el nitrato es la forma habitual en aguas contaminadas por nitrógeno inorgánico, a lo que se une la ventaja de que su uso por las microalgas puede estar favorecido, frente a otras formas de nitrógeno, por diversos mecanismos bioquímicos de regulación (Forjan et al., 2014). Por ello, el uso de microalgas es adecuado para procesos de descontaminación de nitrato en aguas depuradas, como por ejemplo, las de una EDAR (Kumar et al., 2020).

Generalmente, desde el punto de vista energético las microalgas prefieren el amonio debido a que este no requiere su reducción asimilatoria para incorporarse al esqueleto carbonado en el momento de realizar la síntesis de aminoácidos. Sin embargo, el uso de amonio en cultivos a pH básico produce una pérdida de nitrógeno en forma de amoniaco y, además, genera toxicidad. Es necesario por ello controlar el suministro del compuesto (por lo general, no superar concentraciones superiores de 1mM) (Abalde et al., 1995), ya que altas concentraciones de amonio pueden dar lugar a una inhibición en el crecimiento del cultivo, debido a la elevación del pH.

La limitación o carencia de nitrógeno induce cambios en la expresión de genes y en el metabolismo, relevantes para desarrollar aplicaciones de la biomasa. En condiciones de estrés derivadas de la carencia de nitrógeno, las microalgas presentan una disminución de la biomasa debido a la reducción de síntesis de proteínas, y desvían sus reservas de nitrógeno a la producción y concentración de carbohidratos, lípidos neutros, triglicéridos con alto grado de saturación y carotenoides. Además, se favorece la biosíntesis del almidón. El aumento de triglicéridos, útiles para biodiésel, en limitación o carencia de nitrógeno, se ha descrito como especialmente relevante en especies como *Chlorella vulgaris*, *Chlorella zofingiensis*, *Neochloris oleoabundans* y *Scenedesmus obliquus* (Cuellar-Bermudez et al., 2015).

- Fósforo

Este elemento es esencial para el desarrollo de las microalgas, pese a que su concentración en la biomasa, en peso seco, es menor al 1% (Richmond, 2003). Las principales funciones del fósforo que contribuyen al crecimiento de las microalgas son:

- Formación de componentes estructurales: Lípidos de las membranas (fosfoglicéridos).
- Funcionales de intercambio de metabolitos y transferencia de energía.

- Formación de las cadenas de ácidos nucleicos.

La capacidad de los microorganismos fotosintéticos para reservar fósforo en forma de polifosfato hace que su carencia en el medio de cultivo tarde en producir efectos medibles. Cuando la célula se encuentra en un medio carente de fósforo se observa una reducción en la síntesis de ARN, propia de la menor disponibilidad de nucleótidos, y en la conversión fotosintética de la energía lumínica, lo que determina una reducción en la tasa de crecimiento de la microalga (López-Vaquera et al., 2020).

La carencia de fósforo también da lugar a cambios en la biomasa que son aprovechables para aplicaciones de las microalgas. Las microalgas crecidas en medios carentes en fósforo presentan concentraciones más altas de ácidos grasos insaturados con respecto a células que crecen con suficientes nutrientes, y también se observa un aumento en el contenido de triacilglicéridos (El-Sheek & Rady, 1995), lo que puede tener utilidad en la obtención de lípidos de microalgas para la producción de biodiésel.

En un proceso de eliminación de fósforo (fosfato, en aguas contaminadas), se debe tener en cuenta que para regular la tasa de captación del fósforo este se ve influenciado por factores externos como pH, y la presencia de especies químicas como sodio, magnesio, potasio y metales pesados. El fósforo puede ser suministrado al medio a partir de compuestos inorgánicos tales como H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} , PO_4^{3-} y, en menor medida, a partir de formas orgánicas, solo que en tal caso el fósforo debe hacerse disponible por hidrólisis de la fuente orgánica por medio de fosfatasa extracelulares. Se recomienda un rango de concentración de $50 \mu\text{g L}^{-1}$ y $20 \mu\text{g L}^{-1}$, aunque esta puede variar según la especie cultivada (Forjan et al., 2014).

- Azufre

El azufre es un elemento esencial para la síntesis de proteínas y otras moléculas propias de actividades metabólicas para el desarrollo de la célula. Debido a que las microalgas son incapaces de acumular el azufre -al margen de los aminoácidos y algunas moléculas del metabolismo celular que lo contienen-, es importante suministrarlo al medio para que esté siempre disponible y se pueda consumir durante el proceso de división celular, en especial durante la fotosíntesis. Normalmente la concentración de sulfato varía según la matriz acuosa que se utilice; se estima que para agua dulce las concentraciones de este compuesto están entre 10 y $500 \mu\text{M}$, mientras que en los océanos es mucho más alta, más o menos 28 mM en promedio (Forjan et al., 2014). En cuanto a su suministro, la forma asimilable habitualmente añadida a los medios de cultivo de microalgas es inorgánica, sulfato, que es incorporado y reducido hasta sulfuro para su incorporación a esqueletos carbonados y formación de cisteína (Silva, 2016).

La Tabla 1.5, recopila de forma resumida la información bibliográfica expuesta en el presente trabajo, con respecto a las principales afectaciones que pueden desarrollar las microalgas en momentos de estrés y en condiciones óptimas para cada factor nutricional.

Tabla 1.5. Respuestas celulares a factores nutricionales del medio

Macronutriente	Medio Carente	Medio Optimo
Carbono (C)	Altos contenidos de ácido graso α -linolenato.	Mayor contenido de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA)
Nitrógeno (N)	Disminución de biomasa y aumento de carotenoides, lípidos neutros, TAG y síntesis de almidón.	Aumento de biomasa y producción de proteínas.
Fosforo (P)	Disminución de biomasa. Limitación de la síntesis de ácidos nucleicos, ATP y clorofila. Limitación en la regeneración de los sustratos en el ciclo de Calvin-Benson. Disminución de biomasa. Aumento de acumulación de lípidos (triacilglicéridos).	Disminuye contenido de los carbohidratos y la clorofila a aumenta.
Azufre (S)	Disminución en la actividad fotosintética.	Favorece la división celular.

1.3 SISTEMA DE CULTIVO

Durante el desarrollo de este apartado se exponen diferentes diseños para implementar un sistema de cultivo de organismos fotoautótrofos, con el objetivo de identificar las respectivas ventajas y desventajas a la hora de conseguir una mayor densidad celular. Por otro lado, también se evalúan las características de los principales materiales de fabricación de los biorreactores, el ahorro en gastos energéticos, y la reducción de recursos e insumos, con el fin de identificar condiciones adecuadas para un sistema de producción más sostenible.

Existen dos tipos de sistemas de producción de cultivos de microalgas: abiertos y cerrados (fotobiorreactores) (Figura 1.1). Su implementación viene determinada por la finalidad económica del cultivo, cuyo objetivo es promover la síntesis de los productos biotecnológicos que presentan valor económico a nivel industrial y comercial; estos compuestos se pueden estar concentrados en la biomasa o pueden ser excretados al medio.

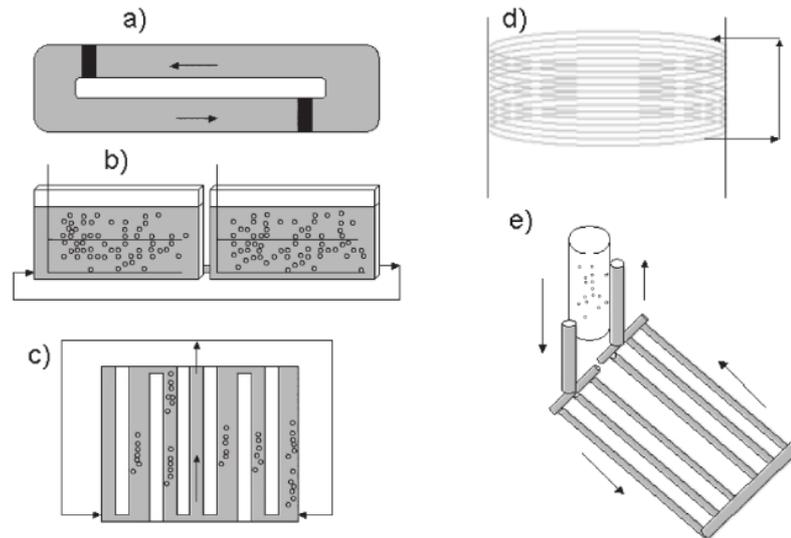


Figura 1.1. Tipos básicos de fotobiorreactores. a: Tipo carrusel, vista superior, los bloques negros indican palas agitadoras. b: Tipo panel plano, vista horizontal. c: Con iluminación interna, los bloques blancos indican espacios de iluminación. d: Tipo serpentín. e: Tipo tubular horizontal con sistema airlift. Fotografías: Figuras 7.5 y 7.6 (Anexo). Fuente: Contreras-Flores et al.(2003).

A la hora de seleccionar un tipo de sistema de cultivo, hay que tener en cuenta los siguientes criterios: disponibilidad de agua y/o suelo; el tipo de especie a cultivar, identificando sus requerimientos nutricionales; condiciones óptimas y de estrés para obtener máximas tasas de crecimiento y/o acumulaciones de producto; relación de la superficie iluminada/volumen del reactor; sistema de mezclado y método de dispersión de gases y extracción de sustancias inhibitorias (en algunos casos); inclinación y orientación del cultivo; durabilidad de los materiales y transparencia; costos de construcción y operación; y formulación del producto (Hernández & Labbé, 2014).

Inicialmente, los diseños de los sistemas de cultivo se caracterizaban por presentar un flujo laminar con una baja velocidad horizontal; esta condición promueve la sedimentación, es decir la precipitación de los microorganismos dentro del biorreactor, debido a la acción gravitatoria y al aumento de la biomasa. Esto genera problemáticas relacionadas con proliferación bacteriana afectando a la calidad del medio y a la productividad. Así que, para eliminar estos efectos, se han implementado sistemas de agitación dentro del biorreactor que eviten daños mecánicos a las células, pero que sean capaces de generar zonas de turbulencia, en donde se desarrolle el intercambio gaseoso y mezclado de los nutrientes, garantizando que todas las células accedan a la zona fótica de manera intermitente. Si se tiene en cuenta los efectos de sombreado, se puede estimar que la luz alcanza a penetrar desde la superficie al interior del reactor entre 1-2 mm (Contreras-Flores et al., 2003).

Los sistemas de agitación o mezclado se clasifican en dos grandes grupos: i) agitación mecánica, esta promueve el movimiento en una sola dirección, por medio de bombas de tornillo, paletas rotativas, desplazamiento positivo o rotatorias; según la especie cultivada, estos sistemas pueden causar daños celulares por los esfuerzos de corte que generan los equipos. ii) Método de agitación por aireación (aire comprimido), se logra a través de columnas de burbujas o airlift normalmente se

instala en cultivos cerrados (tubulares), donde el principal desafío es crear un flujo turbulento uniforme en todo el cultivo para evitar la generación de zonas muertas y, por ende, su sedimentación, además de generar periodos de frecuencias de exposición de luz adecuados para la fotosíntesis. El método de agitación debe ser coherente con la velocidad del flujo. En este sentido, se recomienda para sistemas cerrados, velocidades superiores a 15 cm/s ya que esto evita el crecimiento de las microalgas en la pared y reduce la acumulación de O₂ disuelto dentro del reactor. Y una velocidad del líquido en los tubos de 30-50 cm/s, normalmente aceptadas en la práctica industrial como adecuadas para mantener la suspensión celular y no generar sobrecostos energéticos innecesarios (Contreras-Flores et al., 2003).

Resumiendo lo expuesto en el presente documento, se puede concluir que las principales características o recomendaciones que deben contemplarse en el diseño de los biorreactores son:

- La trayectoria de luz en el cultivo debe ser corta (aproximadamente entre 2,5 y 6 cm en sistemas cerrados, 15-20 cm en abiertos), con el fin de aumentar la disponibilidad de luz que puede lograr captar la célula.
- Es necesario mantener una densidad celular relativamente alta (>3 g/L), ya que permite controlar más fácilmente los parámetros del cultivo; esta condición también amortigua cambios bruscos en el comportamiento celular frente a algunas modificaciones en las condiciones impuestas, y son menos propensos a la contaminación.
- Es necesario implementar un método de agitación constante, para generar un medio turbulento, con la prevención de evitar daños celulares, asegurando altas frecuencias de ciclos de luz /oscuridad, así como la distribución uniforme de los nutrientes y reducción de factores inhibitorios.
- Es necesario diseñar los fotobiorreactores tubulares con una trayectoria longitudinal máxima de unos 40-50m, para reducir la probabilidad de sobreacumulación de O₂, y en consecuencia de inhibición de la fotosíntesis. Igualmente, en los sistemas abiertos una longitud excesiva favorece la sedimentación y pérdida de productividad.
- Es necesario realizar seguimientos de temperatura y pH óptimos, así como controlar la generación de sustancias inhibitorias para el crecimiento.

- Sistema Abierto

El sistema de cultivo abierto es un método de producción en el que las microalgas están expuestas a la atmosfera, contenidas en diferentes diseños poco sofisticados, clasificados como: i) lagunas superficiales naturales (estanques, lagunas, lagos y/o estanques artificiales); y ii) sistemas artificiales, tales como: carrusel o canales (raceway), circulares e inclinados (inclinados de capa fina). Normalmente estas estructuras presentan una profundidad de 15 a 20 cm (Figura 1.1, tipo a y b)

Se caracterizan por presentar un fácil funcionamiento ya que el cultivo transita por un circuito cerrado, como en un estilo de bucle sin fin, donde la impulsión del medio se realiza mediante un sistema mecánico para asegurar su constante movimiento, generar intercambio de nutrientes y evitar la sedimentación de las microalgas (Forjan et al., 2014). Su longitud debe quedar determinada por la potencia -y relación

productividad/gasto energético- de la agitación, de modo que se evite la sedimentación.

El diseño de estos tipos de cultivos depende, sobre todo, de los factores climáticos de la zona, ya que esto puede condicionar su profundidad, su longitud y los materiales de construcción, tales como arena, arcilla, ladrillo, cemento, fibra de vidrio o poliuretano o PVC (Forjan et al., 2014).

- Sistema cerrado

Como su nombre indica, los sistemas de cultivo cerrados son estructuras herméticas que permiten controlar y mantener las condiciones óptimas del cultivo dentro del fotobiorreactor (PBR) mejor que en un sistema abierto. Esto se debe principalmente a que el medio algal se encuentra aislado del exterior, por lo que su cultivo presenta menos problemas de contaminación y suelen ser más productivos y controlables. No obstante, comparando el sistema de cultivo abierto con el cultivo cerrado, este último requiere de una mayor inversión para la fase de construcción y operación, ya que en general todos los biorreactores están conformados por equipos especializados para mantener las condiciones óptimas de crecimiento: sistema de aireación, agitación e intercambio de gases, estabilización de pH, iluminarias e intercambio de calor, regulación de velocidad de flujo y materiales de vidrio con propiedades ópticas específicas (Figura 1.1, tipo c, d y e).

Existen tres grandes grupos de diseños de fotobiorreactores: planos o panelares, reactores tubulares (horizontales o verticales), y sistemas anulares que es una variación de los sistemas tubulares, puesto que en su interior presentan una fuente lumínica. Otros diseños de cultivos cerrados que se utilizan más que todo en los laboratorios y para producción de pequeña escala son los espirales y serpentines (Hernández & Labbé, 2014). El método más común de agitación que se aplica para los diferentes diseños es aireación en un tanque específico, burbujeo o impulsión del cultivo por bombeo, dependiendo del tipo de reactor.

La principal característica de los materiales implementados para la fabricación de fotobiorreactores es que sean transparentes con propiedades físicas rígidas o flexibles, como por ejemplo vidrio, plástico o policarbonato (Forjan et al., 2014). Adicionalmente, deben evitar, en lo posible, la adhesión celular de modo que se mantenga la transmisividad de luz a su través.

- Comparación Sistema Abierto-Sistema Cerrado.

Al considerar que los cultivos abiertos están expuestos a la atmósfera, es inevitable tener presente que estos sistemas están influenciados por factores medioambientales (evaporación y radiación solar) y elementos externos, como la contaminación por organismos heterótrofos de rápido crecimiento o por partículas químicas. En muchos de los casos, las especies de microalgas que se producen bajo este modelo son aquellas que requieren -o toleran- condiciones extremas para su crecimiento, como altas concentraciones de sal, acidez o alcalinidad, entre otras, que evitan la competencia de otros microorganismos oportunistas por los nutrientes disponibles en el cultivo (Forjan et al., 2014). Ejemplos sobresalientes son *Dunaliella* (cultivo en medio salino) y *Spirulina* (cultivo en medio alcalino).

Un aspecto limitante para los sistemas abiertos es la radiación solar que recibe el cultivo, ya que depende de la luz natural de la región geográfica. Si es una latitud con irradiancias y temperaturas medias adecuadas para el cultivo de microalgas, el uso de sistemas abiertos puede suponer un ahorro relevante en costes de instalaciones y también en gasto energético. Sin embargo, si la zona no presenta las condiciones óptimas de luz requeridas para el desarrollo de las actividades metabólicas de los microorganismos, la productividad se resiente y la relación respecto a costes de producción disminuye considerablemente (Norsker et al., 2011). También se suma a ello que, al estar expuesto a la intemperie, es difícil controlar la temperatura dentro del medio de cultivo y las pérdidas de CO₂ en la alimentación de gas al sistema. Desde otro punto de vista, la *Spirulina* se beneficia de esta condición ya que para su crecimiento es esencial mantener altos niveles de alcalinidad (Borowitzka, 1999).

Como el crecimiento de las microalgas está condicionado por las características ambientales de la zona, la elección de un sistema abierto quedaría restringida a latitudes templadas y con más horas anuales de insolación, por la dificultad en latitudes menos cálidas de mantener valores óptimos de parámetros clave en el crecimiento. En latitudes frías, como el norte de Europa, la tendencia en los últimos años es producir especies de microalgas extremófilas, aisladas de aguas muy frías y cultivadas bajo invernadero. Algunas de estas especies pueden crecer a temperaturas de 6-8°C con la facilidad de una microalga autóctona de una zona templada como Andalucía (Hulatt et al., 2017), salvando de ese modo la limitación de las bajas temperaturas.

Los sistemas cerrados requieren de una monitorización y regulación constante de los siguientes factores:

- Concentración de oxígeno: su acumulación en sistemas cerrados produce inhibición del crecimiento.
- Temperatura: puede requerir coste energético, pero asegura mantenimiento de la productividad, lo que en la obtención de moléculas de alto valor como moléculas para cosmética (compuestos fenólicos y terpenoides que absorben radiación UV) o alimentación (ácidos grasos poliinsaturados) puede compensar por el alto valor de mercado de extractos ricos en dichos productos.
- La necesidad de mantener una velocidad uniforme con flujo turbulento en el sistema cerrado igualmente se traduce en coste energético, de nuevo compensado si el producto es de alto valor.

La Tabla 1.6 muestra, en forma de resumen, los diferentes parámetros y condiciones que se deben tener en cuenta a la hora de seleccionar y desarrollar un sistema de cultivo de microalgas.

Tabla 1.6. Factores relevantes en la selección y desarrollo de un sistema de cultivo de microalgas.

Condición/Parámetro	Sistemas Abiertos (Tanques)	Sistemas Cerrados (PBRs)
Control de contaminación	Difícil	Fácil

Condición/Parámetro	Sistemas Abiertos (Tanques)	Sistemas Cerrados (PBRs)
Esterilidad	Ninguna	Realizable
Control del proceso	Realizable	Fácil
Mezclado	Muy pobre	Uniforme
Régimen de operación	Batch o semicontinuo	Batch o semicontinuo
Espacio requerido	Según la productividad	Según la productividad
Relación área/volumen	Baja (5-10 m ⁻¹)	Alta (20-200 m ⁻¹)
Densidad celular	Baja	Alta
Inversión	Baja	Alta
Costos de operación	Bajos	Altos
Eficiencia de utilización de la luz	Pobre	Alta
Control de temperatura	Difícil	Realizable
Productividad	Baja	2-3 veces más productiva
Perdida de agua	Depende del diseño (relación superficie/volumen) y del lugar	Depende del diseño de enfriamiento
Estrés hidrodinámico de las algas	Muy bajo	Bajo-Alto
Evaporación del medio de cultivo	Alto	Baja
Control de la transferencia de gases	Baja	Alta
Perdida de CO ₂	Depende del control de inyección y del pH.	Menor que en Tanques.
Inhibición de O ₂	PBRs > Tanques	Mayor problema en los PBRs
Concentración de la biomasa	PBRs > Tanques	3-5 veces en los PBRs

Fuente: (Jaramillo, 2011)

- Material de construcción

Un análisis crítico que se debe realizar a la hora de proponer los materiales de construcción de un sistema de cultivo es identificar el tiempo de vida útil de cada elemento y evaluar la resistencia de los mismos; ya que esto permite planificar las actividades de mantenimiento y cuantificar el periodo de renovación por desgaste o daños estructurales. Estas acciones generan residuos sólidos que pueden ser reciclados o catalogados como material inerte u orgánico, es decir que cuanto más resistentes sean, menor será la frecuencia de cambio y menor la producción de residuos.

De igual forma, la evaluación de los materiales debe ir de la mano con los objetivos del cultivo y el periodo de proyección del diseño de la nave (años de operabilidad del sistema del cultivo), puesto que esto permite determinar los materiales más idóneos para su fabricación.

Uno de los materiales a evaluar, particularmente en la construcción de sistemas abiertos tipo circuito agitado, es el cemento, cuya expectativa mínima de vida útil es de 50 años (Instituto Mexicano del Concreto, 2017). En aras de proponer una visión diferente y acorde con la economía circular, actualmente se están realizando estudios relacionados con la fabricación de cemento verde, donde el principal objetivo es lograr la descarbonización del cemento mediante la reducción del uso de combustibles fósiles usados en el proceso de fabricación.

Nuevas recetas proponen utilizar subproductos industriales como la escoria del acero, cenizas volátiles de las instalaciones de carbono y algunos tipos de arcillas (Chelsea Harvey, 2018). Se ha propuesto también crear hormigón mediante la captura de CO₂, la cual consiste en el reciclaje del dióxido de carbono mediante la técnica de carbonatación-calcinación. Debido a que cemento es catalogado como un residuo inerte se puede proponer su disposición final como relleno de canteras con el fin de reducir la necesidad de extracción de suelo para este fin.

Otro material que se utiliza comúnmente para la fabricación de biorreactores ya sea para cultivos cerrados o abiertos es la fibra de vidrio, la cual puede llegar a presentar un periodo de vida útil de 15 a 40 años. Este material se caracteriza por ser un buen aislante térmico, presenta una buena resistencia mecánica (mayor que el acero) y es considerado como un material de bajo peso. Sin embargo, hay que tener presente que al estar cubierto por una resina que tiende a desgastarse con el tiempo dejando al descubierto a la fibra de vidrio, por lo cual se recomienda cambiar la estructura o realizar acciones preventivas pintando con resina la estructura. Se puede añadir que a la fecha es posible reciclarlo, separando la resina con condiciones de temperatura y presiones bajas, por ende, el costo energético del proceso químico no es alto y podría considerarse como una actividad de bajo impacto ambiental (FIVIDRIO, 2020).

El policarbonato es otra alternativa para la fabricación de fotobiorreactores, y se caracteriza por ser considerado como uno de los plásticos más resistentes a los impactos, es transparente y puede soportar altas temperaturas hasta 130°C. Se aproxima que, en condiciones normales, el periodo de vida útil puede ser mayor a 20 años, pero si este material está en contacto permanente con el agua a una temperatura mayor a 60°C, su vida útil se reduce (Tecnología de los plásticos, 2011). El policarbonato presenta la problemática de su lixiviación por bisfenol A, compuesto que se utiliza para la síntesis de plástico de policarbonato y resinas epoxi, considerado como un agente tóxico, que puede generar impactos en el ecosistema en general, afectando la reproducción y metabolismo de las especies, y en la sociedad, ya que promueve el desarrollo de enfermedades como obesidad, tiroideos, trastornos hepáticos y resistencia a la insulina (Boscha et al., 2015). Por esta razón, en muchos países se ha tratado de limitar la producción de los policarbonatos y se han diseñado procesos de reciclaje del plástico (Ruiz, 2016).

- Productividad

A gran escala (>1 Ha), la relación de productividades entre reactor panelar-tubular-circuito abierto es de 3-2-1, suponiendo que operan produciendo el mismo microorganismo y en las mismas condiciones ambientales y climáticas (Norsker et al., 2011). No obstante, la decisión de utilizar uno u otro sistema depende de la aplicación deseada; la obtención de productos de alto valor requiere sistemas de cultivo que preserven la calidad de la biomasa (mejor en sistemas cerrados).

1.4 COSECHADO

La centrifugación es generalmente el método más utilizado en el cosechado de microalgas, a pesar de que el coste energético puede llegar a suponer hasta un 30% de los costes de producción (Norsker et al., 2011) debido a la baja densidad de biomasa en el medio acuoso de cultivo (entre 0,5 g/L para cultivos abiertos y 5 g/L en cultivos cerrados) (Vandamme et al., 2013). Otros métodos de cosechado han ido extendiéndose durante la última década en las plantas de producción: filtración mediante membrana porosa, floculación, flotación o sedimentación. El factor decisivo a la hora de seleccionar o combinar los métodos más adecuados para la recuperación de la biomasa es la relación costo beneficio con respecto al valor del producto deseado y el gasto energético (Castro et al., 2018). El tamaño de los microorganismos, que presentan un diámetro entre 1 a 20 μm , complica realizar la separación de la biomasa empleando el cribado (Castro et al., 2018). En conclusión, considerando las características variables de las microalgas y los requerimientos de las subsiguientes etapas del proceso de obtención de productos de microalgas, no existe un método de cosechado universal, ya que este depende de cada especie y de cada proceso (Forjan et al., 2014).

El cosechado se puede realizar con la combinación de dos etapas para una mayor eficiencia energética del proceso global, con los siguientes objetivos:

- (i) Recolección masiva -previa a centrifugación-, consistente en separar la fase líquida de la sólida, apartando la biomasa del medio acuoso, con factores de concentración de entre 100 y 800 veces (Vélez, 2013) para poder obtener un lodo algal con un rango de concentración de 10 a 450g/L (Castro et al., 2018). Las técnicas más comunes para esta etapa de cosechado son: la floculación (biofloculación, floculación inorgánica, autofloculación, floculación orgánica de generación de microburbujas y floculación electrónica), coagulación, sedimentación o flotación (flotación de aire disperso) y filtración (filtración al vacío, filtración a presión y filtración a flujo cruzado).
- (ii) Deshidratación, mediante la cual se busca concentrar una pasta algal hasta un 15-25% o un factor de concentración de 2-10 veces de sólidos totales suspendidos, mediante la aplicación de centrifugación y filtración.

La Figura 1.2 resume a grandes rasgos el sistema de producción de microalgas, donde se destacan las condiciones de concentración de la biomasa en un medio acuoso diluido (factor de concentración), en las fases de recolección y deshidratación.

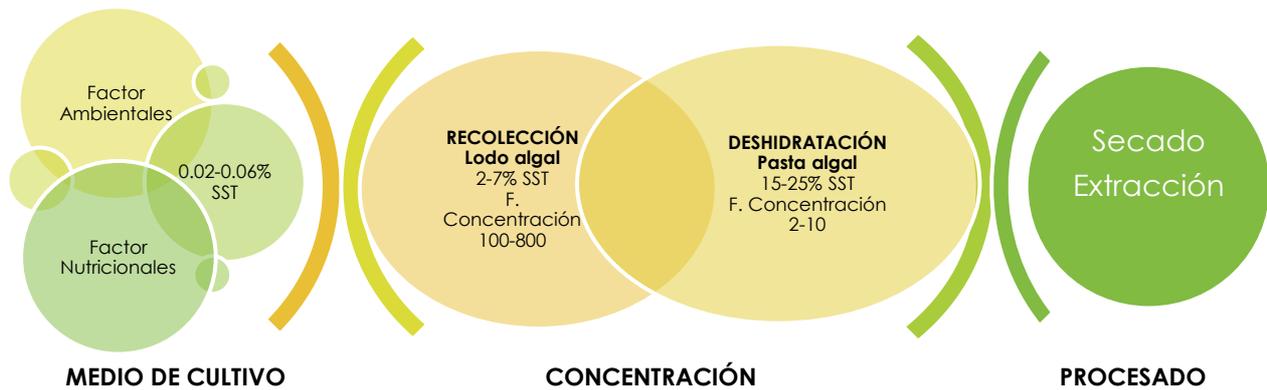


Figura 1.2. Concentración de sólidos totales suspendidos (SST) en las distintas fases del SM

1.5 PROCESADO DE LA BIOMASA

Después de obtener la pasta algal, con un 15-25% de sólidos suspendidos totales, se procede a realizar las últimas fases del sistema de producción, que son secado de la biomasa y extracción de los productos biotecnológicos.

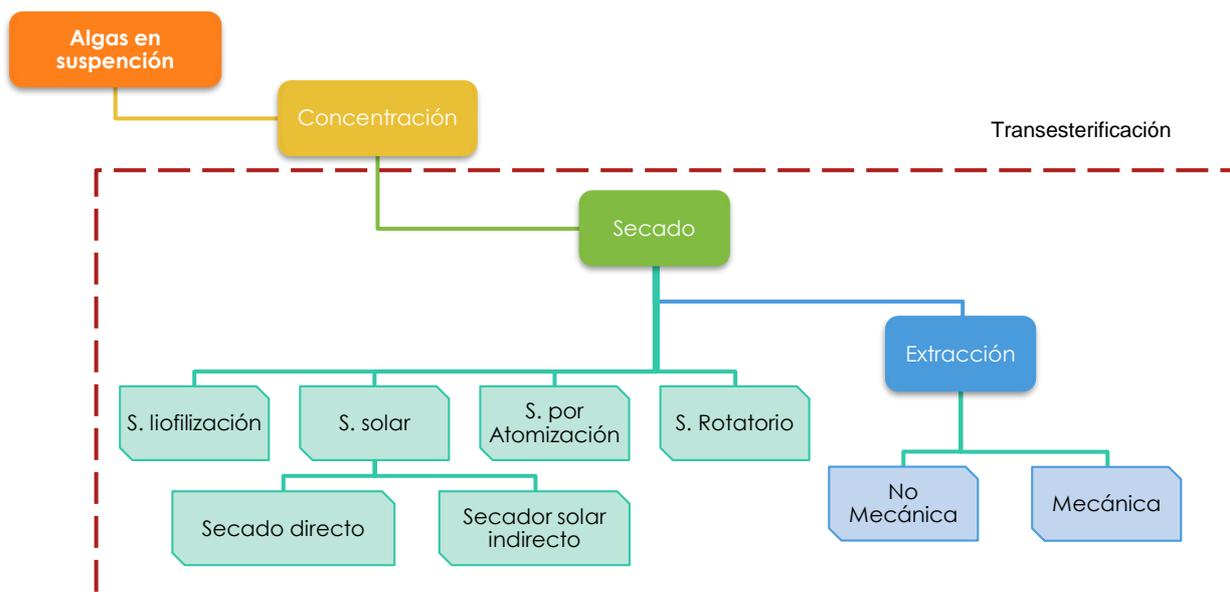


Figura 1.3. Métodos de secado de la biomasa

Fuente: Modificado de Palacios et al. (2013)

- Secado

Para seleccionar el tipo de secado se deben tener en cuenta dos condiciones críticas:

- (i) La humedad residual: dado que las microalgas son un producto natural perecedero se debe extraer con la mayor rapidez el porcentaje restante de agua (por debajo de un 7%), para así aumentar el periodo de conservación de la biomasa y evitar la contaminación de las microalgas a causa de crecimiento microbiano.

- (ii) El segundo factor crítico que se debe tener en cuenta para realizar la extracción de las biomoléculas es la temperatura de exposición, ya que, si se exceden el tiempo y la cantidad de calor a que somete la pasta algal, hay una ruptura en la pared celular y una degradación del producto biotecnológico.

Existen diferentes tipos de secado que se utilizan para la deshidratación de la biomasa, siendo los más aplicados: secado solar, secado por atomización y liofilización.

El secado solar, es un método antiguo y el más económico, para el cual se utiliza la radiación solar como única fuente de energía. Se practican dos tipos de secado solar: (i) Indirecto, mediante el cual la biomasa se introduce en una cámara de secado, que contiene un colector de radiación solar, el cual es capaz de generar un flujo de aire caliente, para eliminar la humedad presente en la sala; (ii) Indirecto, la radiación solar incide directamente en la biomasa, generando la evaporización del agua contenida en la biomasa (Monthieu, 2010). La desventaja de este proceso es que se debe someter la biomasa a largos periodos de exposición, lo que se traduce a una mayor probabilidad de contaminación y deterioro del producto biotecnológico. Además, la inversión inicial puede variar según la magnitud del proyecto y la cantidad de biomasa a procesar, que puede requerir grandes extensiones de terreno.

El secado por atomización, también conocido como aspersión o spray, es considerado como un secado rápido, puesto que el proceso no dura más que unos pocos segundos (Monthieu, 2010) , por ende es el más utilizado. Este método consiste en introducir un flujo constante de aire caliente en la cámara de secado, y como resultado la biomasa se convierte en un polvo seco y fácil de recuperar. La principal desventaja es que puede generar deteriorar pigmentos que son productos biotecnológicos valiosos. Por tanto, se aplica según el producto a obtener.

La liofilización, presenta una gran eficiencia a la hora de generar la deshidratación celular ya que es capaz de llegar hasta los intersticios celulares; esto ocurre gracias a que se logra evaporar el agua presente en la microalga por medio de tres fases: congelación, sublimación al vacío y deshidratación, pasando la humedad presente en la biomasa desde estado sólido al gaseoso. Es un proceso de secado muy efectivo, que preserva la calidad bioquímica de la biomasa. Sin embargo, es un método muy costoso, por lo cual sólo se recomienda para la obtención de productos con alto valor comercial (Forjan et al., 2014).

La Tabla 1.7 compara la eficiencia y los costos energéticos, que se requieren a la hora de implantar el método de secado solar, secado por aspersión y secado con tambor rotatorio.

Tabla 1.7. Características de métodos de secado

Aspecto	S. Solar	S. Aspersión	S. Tambor
Porcentaje de humedad vaporizado	90%	95%	70%

Aspecto	S. Solar	S. Aspersión	S. Tambor
Capacidad del equipo (kg/día)	2.400		417
Rendimiento diario (kg)	2.400		2.418,6
Consumo energético (kWh)	-	80	42
Costo energético (€/h)	0,60	4,80	2,50
Ventajas	Método muy económico.	Es muy utilizado.	No importa el tamaño de las microalgas.

Fuente: Monthieu (2010); Palacios et al. (2013)

Un nuevo método que se está desarrollando para el secado de microalgas consiste en la aplicación de una membrana semipermeable que permite el paso del agua y de algunas sales que son excretadas durante el crecimiento de las microalgas y que se encuentran en el medio de cultivo. Este método de secado por membrana semipermeable, funciona bajo el principio de presión osmótica: a un lado se adiciona glicerol (en el caso de fabricación de biodiesel, se puede reutilizar el glicerol residual del proceso de síntesis de biocombustibles) (Mazzuca-Sobczuk et al., 2016), mientras que al otro lado está el medio acuoso que se desplaza hacia la disolución de glicerol, sin que se requiera adicionar algún agente químico y sin necesidad de equipos que demanden un consumo energético. Esta técnica, aunque aún se encuentra en desarrollo, presenta una eficiencia del 75%, por ende, se considera como una tecnología innovadora, sostenible, y con un enfoque de economía circular, sin consumo energético, además se puede reutilizar el glicerol residual recolectado en la fase de la síntesis del biodiesel.

Aunque el método de secado por membrana semipermeable es una técnica experimental y en proceso de desarrollo, es la que mejor se adapta al enfoque de economía circular, permitiendo que el sistema de producción sea más sostenible. Sin embargo, por ahora no se considera económicamente rentable ya que es necesario aumentar los rendimientos de eficiencia a la hora de extraer la humedad de la biomasa para que esta tecnología pueda ser competitiva con las demás. Así que, por ahora, se recomienda continuar con la aplicación del secado solar, ya que presenta una alta eficiencia (90%) y no requiere de consumo energético, por esta razón es el método más viable a la hora de diseñar el sistema de producción de microalgas. Pero si el producto final requiere de ciertos criterios de calidad, es aconsejable utilizar el secado por aspersión, en el que el suministro de energía provenga de una fuente renovable con el fin de reducir la huella ecológica en el sistema de producción.

- Extracción

Bajo una perspectiva general, el proceso de extracción consiste en romper la pared celular y retirar los productos biotecnológicos, catalogados como compuestos de alto valor añadido (proteínas, pigmentos, carbohidratos, lípidos, antioxidantes y vitaminas), los cuales han sido sintetizados por las microalgas durante su desarrollo celular.

Los métodos de rotura celular habituales son mecánicos (prensas, ultrasonidos, molinos de perlas de vidrio, entre otros) y no mecánicos (hidrólisis enzimática, congelación, choque osmótico). Antes de proceder a seleccionar algún método para realizar el procesado final de la biomasa, es necesario conocer las características de la pared celular de la especie de microalga cultivada (rigidez y grosor) y el tipo de biomoléculas a recuperar. Otro aspecto importante que se debe tener en cuenta son las condiciones operativas en las que se desarrolla el método de rotura, como presión, temperatura, características de la biomasa (concentración, peso seco/húmedo, etapa de crecimiento) y la escala (Kim et al., 2016).

Un método no mecánico y coherente con los principios de economía circular - en aspectos de evitar consumo energético- es la hidrólisis enzimática de la pared celular. La adición de enzimas (celulasas o glicoproteínas) ayudan a la desintegración de la pared celular, y así favorecen la separación de lípidos y proteínas de la pared. Con este procedimiento se evita la adición de compuestos químicos que hayan de ser eliminados o neutralizados posteriormente, como ácidos o bases fuertes. Adicionalmente, estas enzimas son recuperadas y reutilizadas dentro del mismo proceso, por lo que la hidrólisis enzimática es un método que presenta un enfoque de economía circular. Sin embargo, al ser un proceso cuya actividad óptima depende de las condiciones de catálisis de las enzimas, es considerado como un método difícil de controlar por su alto grado de sensibilidad a los cambios de condiciones de operación (Monthieu, 2010).

Otra técnica para lograr la lisis celular es mediante la adición de productos químicos, generalmente lisis alcalina. Esta es muy utilizada para la extracción de lípidos ya que es eficaz, fácil de aplicar y no consume energía. Sin embargo, los productos intracelulares presentan problemáticas de bio-toxicidad (Kim et al., 2016), de tal forma que su aplicación está aprobada para aquellas actividades que no estén dirigidas para el consumo humano. Por otro lado, la recolección de proteínas está muy limitada con este método debido a los elevados valores de pH (Forjan et al., 2014).

Continuando con la misma línea química, se ha desarrollado una nueva técnica de extracción de lípidos (triglicéridos), para la producción de biodiésel, llamada transesterificación directa (Toro & Navia, 2013). Esta técnica permite producir metilésteres (biodiésel) directamente desde la biomasa recolectada, eliminando el paso de deshidratación y secado. Por tanto, se trata de un proceso simplificado (menos costoso) y eficiente. La transesterificación es una reacción química que se realiza con metanol (uno de los alcoholes más económicos del mercado), a una temperatura de 60°C (Toro & Navia, 2013) y un catalizador alcalino -NaOH o KOH-, presentando rendimientos promedio del 95%. Como resultado se obtiene una mezcla heterogénea de dos fases conformada por glicerol y ésteres metílicos de ácidos grasos (biodiesel) (Chisti, 2007).

Durante la producción del cultivo, las microalgas generan una gran cantidad de proteínas, pigmentos, carbohidratos, lípidos, antioxidantes y vitaminas, que son considerados como materia prima para la fabricación de diferentes productos. Por esta razón, se ha comenzado a desarrollar el concepto de biorrefinería de microalgas, como alternativas sostenibles a procesos industriales de síntesis de productos químicos similares (por ejemplo, disolventes y combustibles basados en material biológico).

La biorrefinería, consiste en la recuperación de una parte mayoritaria de los compuestos valiosos de las microalgas, sin afectar a su estructura ni a sus propiedades químicas. Esto es posible mediante la aplicación de tecnología que permita realizar una separación suave, sin generar altas presiones ni temperaturas, ni utilizar disolventes contaminantes, teniendo como objetivo preservar las propiedades químicas de las fracciones obtenidas. Para ello, se han desarrollado diferentes plataformas de transformación de la biomasa, que incluyen conversión termoquímica, conversión bioquímica, transesterificación y celdas biológicas de combustible (Wayne et al., 2017).

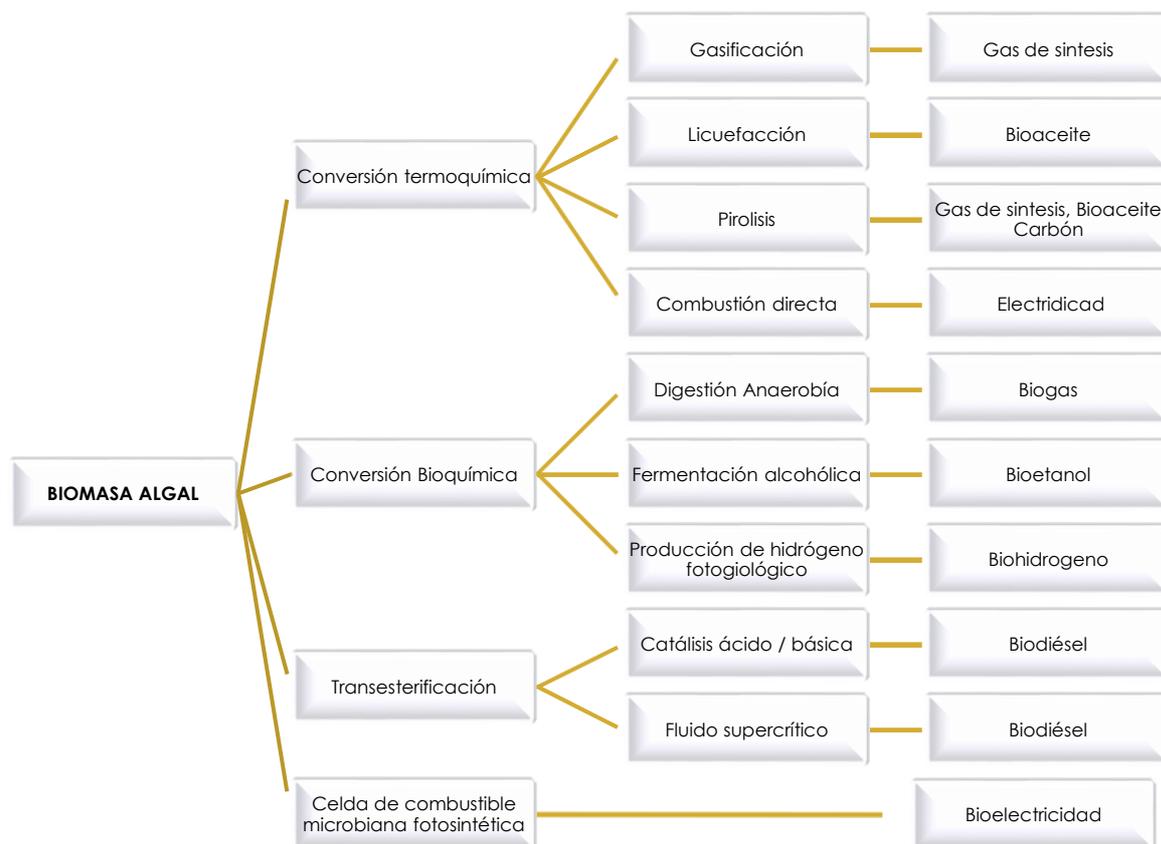


Figura 1.4. Procesado de biomasa de microalgas para la producción de biocombustible.
Fuente: Wayne et al. (2017).

1.6 APLICACIONES DE LAS MICROALGAS

En la última década las microalgas han despertado el interés de la industria, por ser un recurso renovable capaz de servir como factoría natural para la obtención de productos de valor para la salud humana y animal, la industria y la agricultura. Su eficacia como “biofactoría” ha sido científica y técnicamente probada y desarrollada, incluso, a escala industrial para la comercialización de algunos productos como pigmentos y ácidos grasos poliinsaturados.

La composición química de las microalgas varía dependiendo de la especie y las condiciones del cultivo, y las principales biomoléculas que presentan las microalgas durante su crecimiento celular son: proteínas, carbohidratos, lípidos (ácidos grasos), vitaminas (A, B1, B2, B6, B12, C, E) y elementos químicos en

diferentes formas (yodo, hierro, magnesio, potasio, calcio entre otros) (Salazar, 2012). Estos microorganismos también son considerados como fuentes de ácido fólico, biotina, nicotinato y ácido pantoténico.

Tabla 1.8. Composición bioquímica de cepas de microalgas y alimentos, expresan el %(p/p)*

Algas	Proteínas (%)*	Carbohidratos (%)*	Lípidos (%)
<i>Chlorella vulgaris</i>	51-58	12-17	14-22
<i>Scenedesmus obliquus</i>	50-56	10-17	12-14
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	48	17	21
<i>Dunaliella bioculata</i>	49	4	8
<i>Euglena gracilis</i>	39-61	14-18	22-38
<i>Spirulina platensis</i>	46-63	8-14	4-9
<i>Anabaena cylindrica</i>	43-56	25-30	4-7
<i>Isochrysis sp.</i>	44	9	25
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	33	24	10
<i>Dunaliella salina</i>	57	32	9
<i>Tetraselmis suecica</i>	39	8	7
Huevo	49	3	45
Carne	57	2	37
Pescado	55	-	37
Leche	27	38	30
Maíz	10	85	4
Trigo	14	84	2
Soja	47	41	7
Espinaca	12	5	0,3

Fuente: Salazar, (2012), Forjan et al.(2014), modificado.

La Tabla 1.8 muestra que las microalgas son fuente de proteínas, presentando un rango de concentración entre 39-60%, similar a la carne, el huevo y el pescado, mientras que el porcentaje de peso seco de carbohidratos en las microalgas es menor que en los cultivos de maíz, trigo y soja. Por lo tanto, muchas especies de microalgas presentan un alto potencial para diferentes industrias enfocadas hacia el bienestar humano tales como producción de nutracéuticos, productos farmacéuticos y cosméticos y nutrición y además nutrición animal, en especial en acuicultura. Además, la biomasa de microalgas presenta otros usos comerciales alineados con el cuidado

del medio ambiente, ya que sirven como biofertilizantes y presentan un alto potencial para la depuración de las aguas residuales y la fabricación de energías renovables, como biocombustibles y biometano.

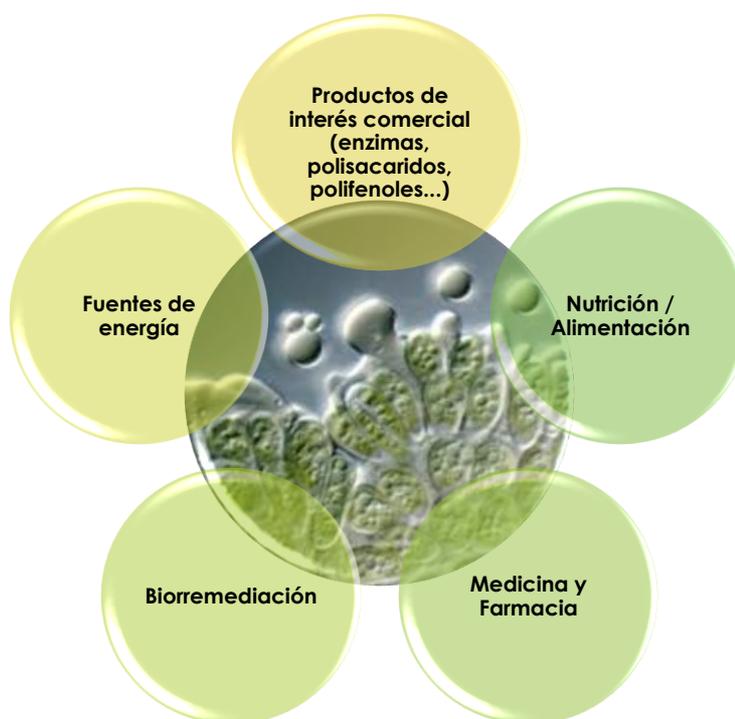


Figura 1.5. Principales usos de microalgas a nivel industrial

La Tabla 1.9, muestra la productividad [Kg/(Ha-año)] de diferentes tipos de cultivos tales como de microalgas o de tipo vegetal.

Tabla 1.9. Productividad de las microalgas.

Fuentes	Producción [Kg/(Ha-año)]
<i>Anactystis nidulans</i>	53.000
<i>Spirulina máxima</i>	39.530
<i>Chlorella vulgaris</i>	37.449
<i>Scenedesmus obliquus</i>	29.821
Diatomeas	22.886
Algas filamentosas	21.000
Cacahuates	470
Guisantes	395
Trigo	300

Fuente: Forjan et al. (2014), modificado.

El gran reclamo de las microalgas como alimento y como fuente de productos de valor comercial reside, particularmente, en la alta productividad de los cultivos en comparación con los agrícolas Tabla 1.9. Sin embargo, su producción aún no se ha extendido de forma global porque los costes de producción por kilogramo de biomasa seca son, aún, elevados (en promedio, entre los 2 y 10 eur). La automatización de la producción, el desarrollo de sistemas más económicos y productivos, y la mejora de la eficiencia energética son los mayores retos en esta década para el avance hacia la explosión global de esta tecnología productiva sostenible.

- Biocombustibles

El alto impacto medioambiental que genera la extracción y producción de petróleo, así como la reducción de reservorios naturales, crea la necesidad de diseñar nuevos productos provenientes de los recursos renovables que sean capaces de cubrir la demanda de combustibles fósiles.

Actualmente la producción de biodiesel a partir de microalgas no es rentable por sí sola, debido a los altos costes de producción (Valera, 2018), por lo que actualmente se investiga intensamente en la optimización de los sistemas de cultivo y la reutilización de insumos o subproductos provenientes de otras actividades industriales para así alcanzar la viabilidad económica.

Las microalgas son capaces de brindar una solución práctica a diferentes problemáticas ambientales y a su vez contribuir con el buen uso de los recursos, manteniendo un enfoque de economía circular. Un ejemplo de esto es el uso de cultivos de microalgas en procesos de depuración de aguas, ya que una de las características de las microalgas es que tienen alta capacidad de depurar iones metálicos, materia orgánica, fósforo y nitrógeno (estos últimos dos compuestos son característicos de aquellas aguas que provienen de cultivos vegetales debido al exceso de fertilizantes); la biomasa generada puede recuperarse y emplearse para, eventualmente, producir biocombustible (biodiésel o biometano) (Ramos Suárez, 2012) o como biofertilizante.

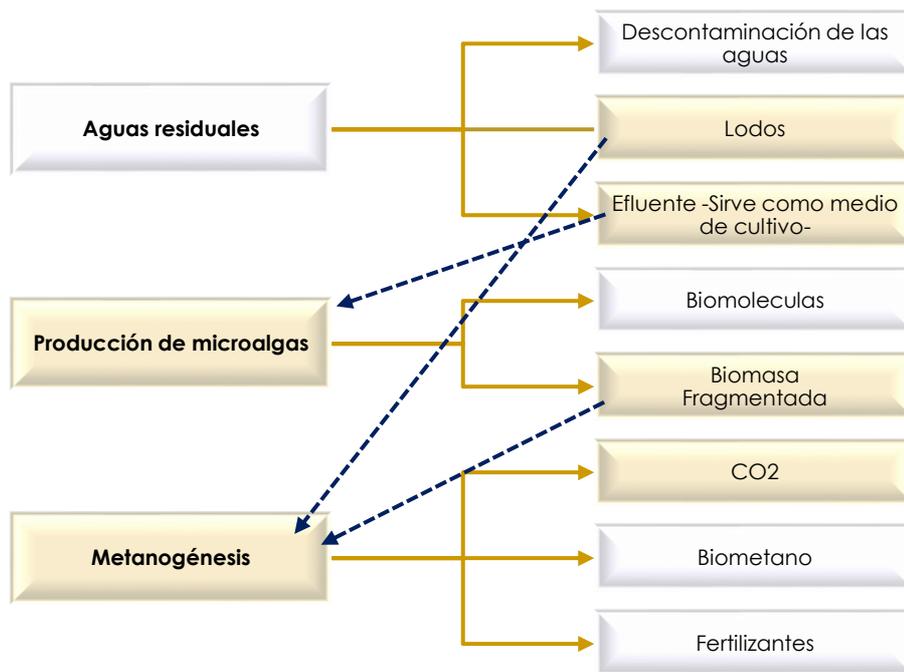


Figura 1.6. Producción de microalgas con enfoque de economía circular.

1.7 ESTACIÓN DEPURADORA DE AGUAS RESIDUALES EL ROCÍO.

Como se describe más abajo, en objetivo del trabajo, este TFM plantea la implementación de un sistema de producción de microalgas (SM) en una estación depuradora de aguas residuales (EDAR). Como se explica más adelante, el TFM concluye que la EDAR de El Rocío sería adecuada a tal fin. Por esta razón incluimos, en este apartado de introducción, información específica sobre dicha EDAR.

La Estación Depuradora de Aguas Residuales (EDAR) El Rocío se encuentra localizada en la provincia de Huelva, en el municipio de Almonte. La EDAR El Rocío presenta un caudal de entrada de 3.563 h.e (habitante equivalente), con una población de diseño de 4.025 h.e., si bien afronta puntas de población extremas en momentos puntuales del año, particularmente durante la semana de la peregrinación a la aldea de centenares de miles de personas, residentes temporales durante la celebración de Pentecostés.

Debido al incremento de volumen de aguas residuales como consecuencia de las referidas actividades de peregrinación que se realizan en la Aldea de El Rocío, se ha construido una balsa que se encuentra antes de la depuradora, con el fin de almacenar el agua en periodo de aumento de caudal abrupto. Posteriormente, la EDAR presenta los siguientes procesos unitarios, comunes a todas las plantas de tratamiento análogas Figura 1.7:

- i) Pretratamiento: Eliminación de sólidos suspendidos de gran tamaño.
- ii) Tratamiento Primario: Eliminación de grasas y aceites, así como la sedimentan los sólidos de menor tamaño.
- iii) Tratamiento Secundario: Mediante decantación y reducción de la materia orgánica por medio de la actuación de agentes microbiológicos.

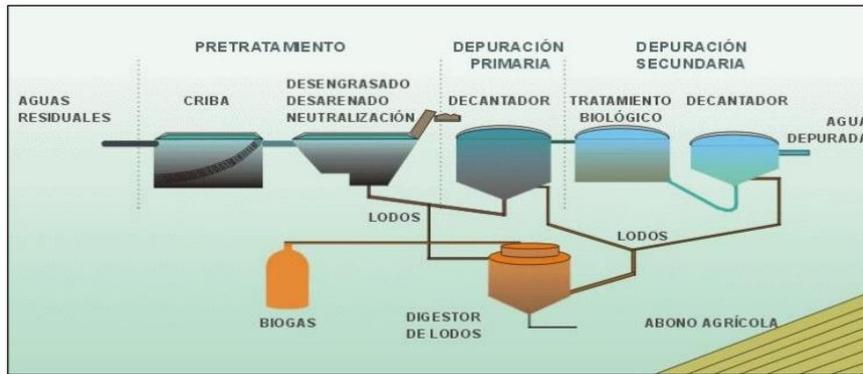


Figura 1.7. Esquema de tratamiento de aguas en una planta convencional.
Fuente: (Subirats, 2015)

En relación con el objetivo del presente TFM, es importante resaltar que la EDAR El Rocío no cuenta con un tratamiento terciario (destinado a eliminar nutrientes inorgánicos que aún permanecen en el agua tras las etapas de depuración) ya que según la Directiva 91/271/CE, considera que esta fase de tratamiento se debe aplicar a aquellas EDAR que se encuentren en zonas sensibles y/o que presenten una población de diseño de mayor a 10.000 h.e., donde el valor máximo permisible de nitrógeno total es de $15 \text{ mg N}\cdot\text{L}^{-1}$ y el valor máximo de concentración de fósforo que puede presentar el vertido es de $2 \text{ mg P}\cdot\text{L}^{-1}$.

Se ha realizado el análisis de los datos existente de la EDAR El Rocío para identificar niveles de N y P totales, necesarios para definir las características operacionales de la planta de producción de microalgas. El documento *“Estudio de Saneamiento y depuración en Andalucía: Estudio de las muestras analíticas del año 2017 y evolución desde el 2013”*, realizado por Ecologistas en Acción Andalucía, indica que de 12 muestras analizadas, 8 superaban los límites máximos permisibles de las concentraciones de P Total, y 9 muestras superaban las concentraciones de N Total, por lo cual se recomendaba la implementación de un tratamiento terciario (Ecologistas en Acción Andalucía, 2018) para eliminar o minimizar dicha carga química inorgánica.

En relación con lo anterior y por lo explicado en este apartado de Introducción, implementar un sistema de producción de microalgas para la eliminación del N y el P remanentes en el agua depurada es coherente con los principios de la economía circular, particularmente con el hecho de utilizar un recurso natural renovable, las propias microalgas, para retirar los contaminantes y reintegrarlos de nuevo a su ciclo natural tras obtener provecho de la biomasa producida.

1.8 OBJETIVOS

El objetivo del presente Trabajo Fin de Máster es evaluar, teóricamente y en base a la información científica y tecnológica conocida, la potencial implementación de un sistema de producción de microalgas (SM) acoplado a una EDAR en la provincia de Huelva, bajo un enfoque de economía circular y sostenibilidad, aplicando las conocidas 3R: Reduciendo contaminación, Reciclando nutrientes, y Reutilizando la biomasa producida.

1.9 JUSTIFICACIÓN

Estudiar la posibilidad de disminuir la evacuación, al medio ambiente, de nutrientes residuales procedentes del tratamiento de aguas en una EDAR, y la integración de estos en biomasa de microalgas aprovechable para otros usos.

Diferentes estudios, demuestran que la implementación de cultivos de microalgas en la depuración de aguas es viable y rentable, y se realiza con el objetivo de mejorar el sistema de depuración de las aguas residuales en base a las propiedades de los cultivos de microalgas, demostradas, de reducción en la generación de olores así como en la producción de fangos y la eliminación de nutrientes. En particular, los cultivos de microalgas reducen, de forma general, el 86% de nitrógeno total y 91% de fósforo total de las aguas tratadas (Iagua, 2016; Salgueiro, 2018). Además de la mejora en la eficacia de los sistemas de depuración, la propuesta se justifica en base a aspectos ambientales concretos: la disminución de riesgos de eutrofización posteriores en el medio natural -responsables de posibles cambios en la biodiversidad-, la capacidad de fijación de CO₂ para la producción de biomasa y la producción de oxígeno a la atmósfera y al medio acuoso (mejorando las condiciones iniciales del efluente recolectado). Por otro lado, no se contribuye al calentamiento global debido a que no se generan gases de efecto invernadero, por lo cual es evidente que su implementación genera un impacto ambiental positivo, al compararlos con las otras técnicas de depuración (Subirats, 2015). Por último, la biomasa que se genera es considerada subproducto con valor comercial ya que se podría utilizar principalmente para aprovechamiento energético (biodiesel, biometano, pellets), (Salgueiro, 2018).

Por otra parte La EDAR El Rocío, vierte sus aguas en el arroyo de la Cañada Martín, este cuerpo de agua desemboca en las marismas de Doñana (considerado como una zona sensible por el decreto 204/2005, de 27 septiembre), el cual se encuentra a una distancia de 2,7 km. Debido a la cercanía con Doñana, y en base a los resultados del análisis realizado en la primera sección del Capítulo de Resultados y Discusión, en este TFM se evalúa la eventual implantación en la EDAR El Rocío de un sistema de producción de microalgas que sirva, parcialmente, como tratamiento terciario; dicho tratamiento contribuiría a disminuir la cantidad anual total de fósforo y nitrógeno vertidos, gracias a la actividad fotosintética de las microalgas, ya que estos elementos son considerados como nutrientes esenciales para su crecimiento y desarrollo. Esta actuación también permitiría prevenir y mitigar los impactos ambientales que genera la contaminación de aguas superficiales, tales como la eutrofización, problemática que genera un aumento de biomasa acuática, y por ende una competencia por el oxígeno presente en el medio. Además, la sobrepoblación de biomasa acuática resultante de lo anterior limitaría la cantidad de radiación solar que penetra el cuerpo de agua, generando una pérdida en la calidad y abundancia de la biodiversidad acuática y terrestre.

2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 VARIABLES Y PRINCIPALES PARÁMETROS OBJETO DE ESTUDIO

Para este TFM se han utilizado un número de variables de distinta naturaleza, que se detallan a continuación clasificados en función de la tarea en la que se han empleado.

- Selección de la EDAR. Variables utilizadas: Distancia a espacio natural protegido próximo (radio a 800 mt), temperatura ambiental, temperatura del agua y horas reales de tiempo despejado. La distancia a espacio protegido se analizó mediante el software ArcGis, procediendo como se explica más adelante en este Capítulo 2. Los datos de temperatura y de horas de tiempo despejado, empleados en los criterios de selección de la EDAR según localización geográfica, se obtuvieron y utilizaron como se detalla más abajo.
- Implementación de un sistema de producción de microalgas (SM). Variables utilizadas: dimensiones del sistema (ancho, largo y altura de la columna de agua, en unidades del SI), concentraciones de nutrientes esenciales (C, N y P inorgánicos, en $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ó $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), tasa de crecimiento de las microalgas (en d^{-1}), concentración de biomasa en el SM (en $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de peso seco de biomasa), y contenido en lípidos de las microalgas (en % del peso seco de la biomasa). Estas variables han servido para obtener valores teóricos de, entre otros, los siguientes parámetros: Dilución del SM (en d^{-1}), productividad de biomasa del SM ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$), productividad de lípidos y de biocombustible del SM ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$).

2.2 FUENTES DE INFORMACIÓN CIENTÍFICA Y TÉCNICA

Este TFM se ha realizado mediante el análisis de información científico-técnica obtenida a través de diferentes bases de datos, las principales de las cuales se relacionan seguidamente.

Los datos de naturaleza científica se han obtenido, principalmente, de los artículos publicados en revistas indexadas y accesibles a través del Science Citation Index (www.webofknowledge.com), que han sido esenciales para seleccionar valores iniciales de parámetros biológicos y de proceso para el análisis de la producción de microalgas. La información se ha obtenido con la herramienta de búsqueda de la Web of Science, utilizando distintos perfiles de palabras clave.

El análisis de la ubicación de las EDAR y su relación de proximidad con espacios naturales protegidos en la provincia de Huelva se realizó utilizando el software ArcGis. Como se explica con más detalle en el apartado siguiente (sección 2.3), la citada aplicación es una herramienta que permite analizar una serie de datos con relación a la geolocalización de los mismos, para poder llegar a hacer un análisis de la información geográfica.

Detalles específicos de cada uno de los espacios naturales protegidos en la provincia de Huelva se obtuvieron del “Catálogo de Espacios y Bienes Protegidos en la Provincia de Huelva”, publicado por la Junta de Andalucía y disponible en acceso abierto, en documento pdf, en la siguiente dirección: https://www.juntadeandalucia.es/export/drupaljda/PEPMF_huelva.pdf .

El análisis de las condiciones climáticas -temperaturas medias de la atmósfera y del agua, horas reales de tiempo despejado y energía procedente de la radiación solar- se ha efectuado en base a datos obtenidos de estaciones meteorológicas de Aracena (Estación de El Campillo) y Almonte (Estación de Almonte) y de información pública accesible en la dirección web: <https://es.weatherspark.com/> y <http://www.agenciaandaluzadelaenergia.es/Radiacion/radiacion1.php> , que permite obtener dicha información para numerosos municipios de España.

2.3 MÉTODOS DE ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN

2.3.1 Preparación de Información con software Arcgis

La citada aplicación es una herramienta que sirve para organizar información con respecto a la localización geoespacial, y se utiliza en principio en temas relacionados con sistemas de información geográfica, para así identificar las características físicas, bióticas, medioambientales y sociales. Al reunir estos datos capas es posible realizar un análisis detallado de la zona que facilita la toma de decisiones a la hora de reconocer e identificar el territorio.

Para lograr la obtención de los datos, fue necesario dirigirse a las bases de datos que presenta el REDIAM (<https://descargasrediam.cica.es/repo/s/RUR>) en donde es posible descargar datos, vectores, bases de datos y documentos relacionados con temas relevantes en el ámbito ambiental de Andalucía.

En cuanto a la información que se descargó de la página fue:

- Localización de la EDAR
- Ubicación de los espacios protegidos presentes en Huelva
- Hidrografía del área de estudio

R: Descargas Rediam		
<input type="checkbox"/>	02_LOCALIZACION_GEOGRAFICA	1,4 GB hace 3 meses
<input type="checkbox"/>	03_UNIDADES_ADMINISTRATIVAS	1,6 GB hace 11 horas
<input type="checkbox"/>	04_RECursos_NATURALES	728,8 GB hace 12 horas
<input type="checkbox"/>	05_CALIDAD_AMBIENTAL	6,2 GB hace 3 meses
<input type="checkbox"/>	06_RIESGOS_NATURALES_TECNOLOG	127,6 GB hace 5 días
<input type="checkbox"/>	07_PATRIMONIO_NATURAL	53 GB hace 11 horas
<input type="checkbox"/>	08_AMBITOS_INTERES_AMBIENTAL	42,3 GB hace 11 horas
<input type="checkbox"/>	09_PLANIFICACION	72,4 GB hace 11 horas
<input type="checkbox"/>	10_SISTEMAS_PRODUCTIVOS	24,5 GB hace 7 días
<input type="checkbox"/>	11_ECONOMIA	38,3 GB hace 13 días

Figura 2.1. Descargas de información del REDIAM. Fuente: <https://descargasrediam.cica.es/repo/s/RUR>

Con base a la información recolectada por el REDIAM, se procedió a hacer el análisis geoespacial de las EDAR y su proximidad con espacios naturales protegidos en la provincia de Huelva y a los arroyos en donde se realizaban las respectivas descargas. Para posteriormente proceder a seleccionar las posibles áreas en donde se podría aplicar y desarrollar el presente TFM.

2.3.2 Herramienta de Gestión de Datos, Cálculo y Gráficos

El tratamiento de datos y obtención de gráficos de temperatura, horas de tiempo despejado y energía solar incidente, así como los cálculos de parámetros de crecimiento de microalgas y productividad del sistema de producción y los relativos a los balances de nutrientes esenciales para dicha producción, se efectuaron utilizando la herramienta Excel del paquete de software de Office.

Estos datos se organizaron según diferentes criterios como características climatológicas del municipio de Aracena y Almonte, producción de verano, producción de invierno y extracción del Biodiesel.

- Gestión de datos y gráficos de temperatura ambiente.

Los datos de temperatura ambiente, que se utilizaron como base para cálculos y representaciones gráficas fueron las temperaturas máxima y mínima del día 15 de cada mes del año; estos datos se tomaron como representativos de dichas máximas y mínimas promedio de cada mes del año. La amplitud térmica promedio de un día de cada mes se calculó, para el día 15 de cada mes, por diferencia entre la temperatura máxima y la mínima antes referidas.

- Gestión de datos y gráficos de horas reales de insolación

Con base al promedio mensual del porcentaje de horas despejadas de cada municipio y el tiempo promedio de horas de sol, se procede a cuantificar y graficar las horas reales de insolación que presentaba el área de estudio.

Donde:

$$Hri = \% Hd \cdot Hi \div 100\%$$

Siendo: % Hd, la hora despejada; Hi (h) la Hora promedio de Insolación; Hri (h) las Horas reales de insolación

- *Gestión de datos y graficos de radiación directa*

De igual forma se obtuvieron datos mensuales promedios de la radiación directa que presenta el área de estudio con respecto a las estaciones más cercanas (Estación Campillo en Aracena y Estación Almonte en Almonte), información suministrada por la Agencia Andaluza de la Energía. No obstante, para cuantificar la radiación real directa mensual se multiplica la radiación directa por las horas reales de insolación, esto con el fin de tener un dato más certero y preciso.

Donde:

$$RRd = Hri \cdot Rd$$

Siendo: Hri (h) las Horas reales de insolación; Rd (kWh/m²) la Radiación directa; RRd (kWh/m²) la Radiación Real directa.

2.3.3 Herramienta de Gestión de Información Geográfica

La implementación de un SM asociado a una EDAR en la provincia de Huelva implica, en primer lugar, la elección de la EDAR. Este proceso se ha realizado según la metodología que se describe seguidamente, y en base a los siguientes tres criterios: proximidad a espacios naturales, zona con rango de temperaturas adecuado al cultivo de microalgas y horas anuales reales de insolación.

Con base a la información que se encuentra en el repositorio del REDIAM, se procede a descarga de los datos que presentan la localización de las EDAR e información relevante de las mismas, en donde la principal característica era que se encontraran dentro de la provincia de Huelva. Este mismo procedimiento se realizó para los espacios naturales protegidos de la provincia de Huelva.

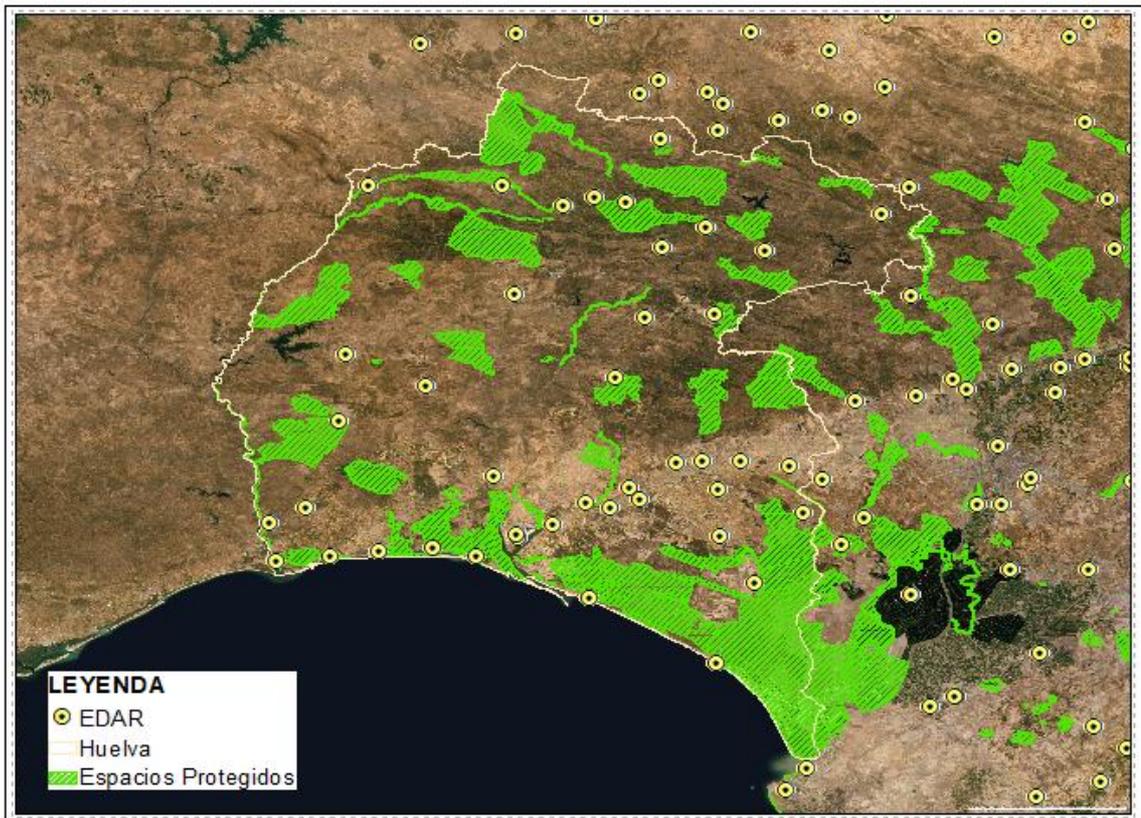


Figura 2.2. EDAR y Espacios protegidos.
Fuente: REDIAM

Para seleccionar aquellas EDAR que estuvieran en las proximidades de espacios naturales protegidos y que, por tanto, pudiesen llegar a afectarlos por el vertido de aguas, se aplicó un criterio restrictivo de proximidad. Para ello, se incluyó en la selección sólo aquellas EDAR cuyos entornos, dentro de un círculo de 800 m de radio que tomase como centro del mismo las propias EDAR, incluyesen parte de los límites geográficos de un espacio natural. Este proceso se realizó con el Software de ArcGis mediante la herramienta de Buffer o área de influencia. Dando como resultado el siguiente mapa:

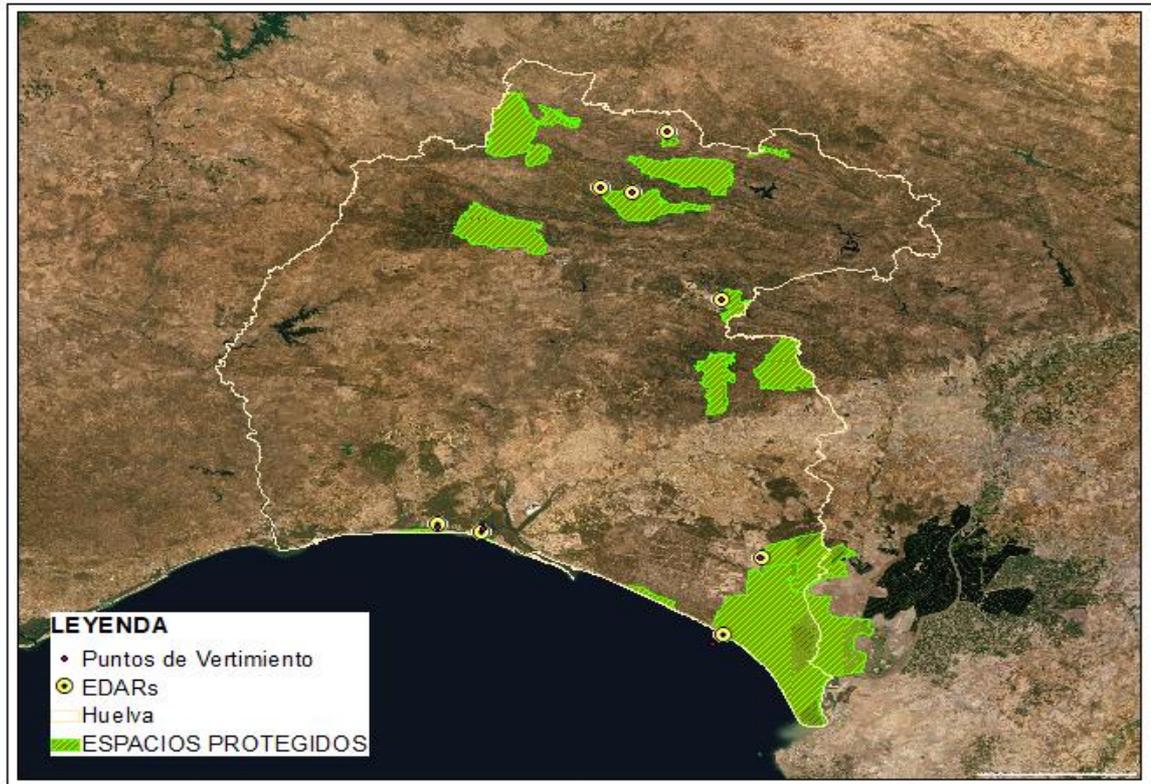


Figura 2.3. Espacios protegidos que presentan EDAR en un radio de influencia de 800 m.

2.4 CÁLCULOS DE PARÁMETROS DEL SM.

2.4.1 Tasa de Crecimiento Promedio.

Según la Tabla 3.5, la tasa de crecimiento de *C. minutissima* oscila entre 0,12 y 0,66 d⁻¹, dependiendo de condiciones de cultivo. El establecimiento de la tasa de crecimiento es únicamente posible mediante procedimientos experimentales; no obstante, se realizó una aproximación en base a la información científica publicada. Se establecieron dos valores de dicha tasa de crecimiento, uno para la “época de calor” y otra para la “época de frío”. La justificación se detalla en el Capítulo de Resultados. Establecidos los valores de tasa de crecimiento, se calcularon la tasa de dilución y las productividades según se describe seguidamente.

2.4.2 Tasa de Dilución

El sistema de producción de microalgas (SM) operaría en modo semicontinuo, es decir, retirando con frecuencia parte del cultivo y reemplazándolo con medio rico en nutrientes. El volumen de cultivo retirado en cada dilución contendría una cantidad de biomasa igual a la producida por crecimiento en el tiempo transcurrido desde la dilución previa. Por lo tanto, una aproximación para el cálculo de la dilución es asumir que, una vez realizada esta, no se ha producido incremento neto de biomasa en el SM. Por ello, debería cumplirse la siguiente ecuación, para cada ciclo de dilución, transcurrido un tiempo determinado:

$$\text{Biomasa extraída (efluente SM)} - \text{biomasa generada por crecimiento en el SM} = 0$$

Donde:

$$\text{Biomasa extraída (por unidad de tiempo)} = F \cdot X ,$$

Siendo F ($L \cdot h^{-1}$) el flujo de salida del SM, X ($g \cdot L^{-1}$) la concentración de biomasa en el SM;

$$\text{Biomasa generada por crecimiento (por unidad de tiempo)} = \mu \cdot X \cdot V$$

Siendo μ (h^{-1}) la tasa específica de crecimiento de la microalga, X ($g \cdot L^{-1}$) la concentración de biomasa en el SM, y V (L) el volumen del SM.

Por tanto, igualando ambos términos, queda:

$$F \cdot X = \mu \cdot X \cdot V ; F = \mu \cdot V ; \mu = F \cdot V^{-1}$$

De donde se deduce que:

$$\mu = D , \text{ siendo } D \text{ (} h^{-1} \text{) la dilución del SM.}$$

De acuerdo con ello, la dilución del SM coincide con la tasa de crecimiento específica de la microalga elegida, como se indica más adelante en el Capítulo de Resultados.

2.4.3 Caudal de Salida del SM y Productividad de Biomasa

Los valores de ambos parámetros se obtienen con términos expresados anteriormente:

Caudal de salida del SM: Se calcula, en cada situación, despejando F a partir de la ecuación:

$$D = F \cdot V^{-1} ; F = D \cdot V$$

Conociendo la tasa específica de crecimiento en cada situación se tiene el valor de la dilución, D , y el volumen del sistema es igualmente conocido y fijo, lo que permite calcular el flujo (F) de salida del SM.

Productividad de biomasa: Se corresponde con el término $\mu \cdot X$, y expresa la cantidad de biomasa producida por unidad de tiempo y de volumen del SM, generalmente en $g \cdot L^{-1} \cdot d^{-1}$.

La cantidad de biomasa que contiene el SM en cualquier instante se calcula sencillamente multiplicando la concentración de biomasa del SM (X , $g \cdot L^{-1}$) por el volumen del SM (V , en L).

2.4.4 Cálculos de Requerimientos Nutricionales

Los datos de los requerimientos nutricionales de C, N y P del SM que se incluyen en el Capítulo de Resultados, se obtienen mediante las fórmulas de cálculo que se exponen seguidamente.

- Requerimientos de carbono (CO₂)

Según la fórmula de la biomasa de *Chlorella* (CH_{1,78}O_{0,36}N_{0,12}) (Cuaresma et al., 2009), 1 mol de biomasa (21,22 g) contiene 1 mol átomos de C, al igual que 1 mol de CO₂. Por tanto, los requerimientos de dióxido de carbono para producir una cantidad de biomasa, M (g), en el SM, en un tiempo determinado, se calculan según la expresión:

$$\text{Requerimientos de CO}_2 \text{ (g)} = M \text{ (g)} \cdot PM_{\text{CO}_2} \div PM_{\text{Biomasa}}$$

Siendo PM_{CO₂} la masa molecular del dióxido de carbono, y PM_{Biomasa} la correspondiente a un mol de biomasa de microalgas del género *Chlorella*, ambas en gramos.

- Requerimientos de Nitrógeno (N)

Para determinar el requerimiento de nitrógeno, se realiza de la misma forma que con el carbono, es decir, se tiene en cuenta la relación molar de N en la Fórmula de la biomasa (CH_{1,78}O_{0,36}N_{0,12}), que es de **0,12/1 en moles y 0,079/1 en gramos**. Los requerimientos de nitrógeno dentro del SM para producir una cantidad de biomasa, M (g), en un tiempo determinado, se calculan según la expresión:

$$\text{Requerimientos de N (g)} = M \text{ (g)} \cdot PM_{\text{N}} \div PM_{\text{Biomasa}}$$

Siendo PM_N la masa de un mol de átomos de nitrógeno, y PM_{Biomasa} la correspondiente a un mol de biomasa de microalgas del género *Chlorella*, ambas en gramos.

Como se proyecta el suministro de nitrógeno mediante nitrato (NO₃⁻), cuya masa molecular es 62 g, se procede a cuantificar el requerimiento de nitrato dentro del SM, en un tiempo determinado, con la siguiente expresión:

$$\text{Requerimientos de NO}_3^- \text{ (g)} = \text{Requerimientos de N} \cdot PM_{\text{NO}_3^-} \div PM_{\text{N}}$$

- Requerimientos de Fosforo (P)

Según se describe en la Introducción, el contenido promedio en P de la biomasa de microalgas se estima en el 1%. Los requerimientos de fosforo para producir una cantidad de biomasa, M (g), en el SM, en un tiempo determinado, se calculan según la expresión:

$$\text{Requerimientos de P (g)} = M \text{ (g)} \cdot \mathbf{0,01}$$

Como se proyecta el suministro de fosforo mediante anhídrido fosfórico (P₂O₅), cuya masa molecular es 142 g, se procede a cuantificar el requerimiento de anhídrido fosfórico dentro del SM, en un tiempo determinado, con la siguiente expresión:

$$\text{Requerimientos de P}_2\text{O}_5 = \text{Requerimientos de P} \cdot PM_{\text{P}_2\text{O}_5} \div 2PM_{\text{P}}$$

Siendo $PM_{P_2O_5}$ la masa molecular del anhídrido fosfórico y PM_P la masa de un mol de átomos de fósforo, ambas en gramos.

3 RESULTADOS

3.1 SELECCIÓN DE LA EDAR MÁS ADECUADA

En base a la información analizada conforme a la metodología descrita en el apartado de Materiales y Métodos, en este primer apartado de resultados se ha determinado qué EDAR sería más adecuada para implementar el sistema de producción de microalgas. La EDAR se seleccionó tras los resultados derivados del análisis referido, basado en los siguientes criterios:

- i. Situación geográfica: proximidad a espacios naturales.
- ii. Situación geográfica: rango de temperaturas adecuado al cultivo de microalgas.
- iii. Situación geográfica: horas reales de insolación.

Se detallan, seguidamente, los resultados del análisis que llevan al resultado obtenido.

3.1.1 Proximidad a Espacios Naturales.

La adecuación de la situación geográfica de las EDAR de la provincia de Huelva se analizó utilizando como criterio la proximidad de estas a espacios naturales de especial valor. La propuesta de este TFM consiste en situar la potencial instalación de producción de microalgas en una EDAR que vierta las aguas tratadas a flujos de agua circulantes por alguno de dichos espacios, o que por proximidad pudieran llegar a afectarlos, por lo tanto, con potencial para generar algún impacto, sea a medio o a largo plazo y al margen de su magnitud, en la calidad de sus aguas y en el equilibrio natural de las especies propias de aquellos.

Como muestra el siguiente mapa generado mediante la herramienta ArcGis como se detalla en Materiales y Métodos, la provincia de Huelva alberga un total de 42 EDAR. Estas Estaciones Depuradoras, se distribuyen por los cuatro puntos cardinales de la provincia. Algunas de ellas se encuentran en poblaciones próximas a espacios naturales calificados como protegidos definidos por las distintas administraciones españolas. La relación de tales espacios naturales bajo alguna figura administrativa de protección se incluye en la Tabla 7.1 del Anexo, en la que se han incluido también las poblaciones del entorno. En este TFM, Se ha dirigido el análisis geográfico hacia los denominados “Complejos litorales excepcionales” (41.454 Has) y “Complejos serranos de interés ambiental” (48.198 Has) (Tabla 7.1 del Anexo). Estos espacios protegidos suponen un total de unas 89,652 Has, aproximadamente un 43,8 % del total de 204.700 Has incluidas en el Catálogo de Espacios y Bienes Protegidos en la Provincia de Huelva. Se han elegido tales espacios por ser los de mayor valor, de acuerdo con lo descrito en dicho Catálogo.

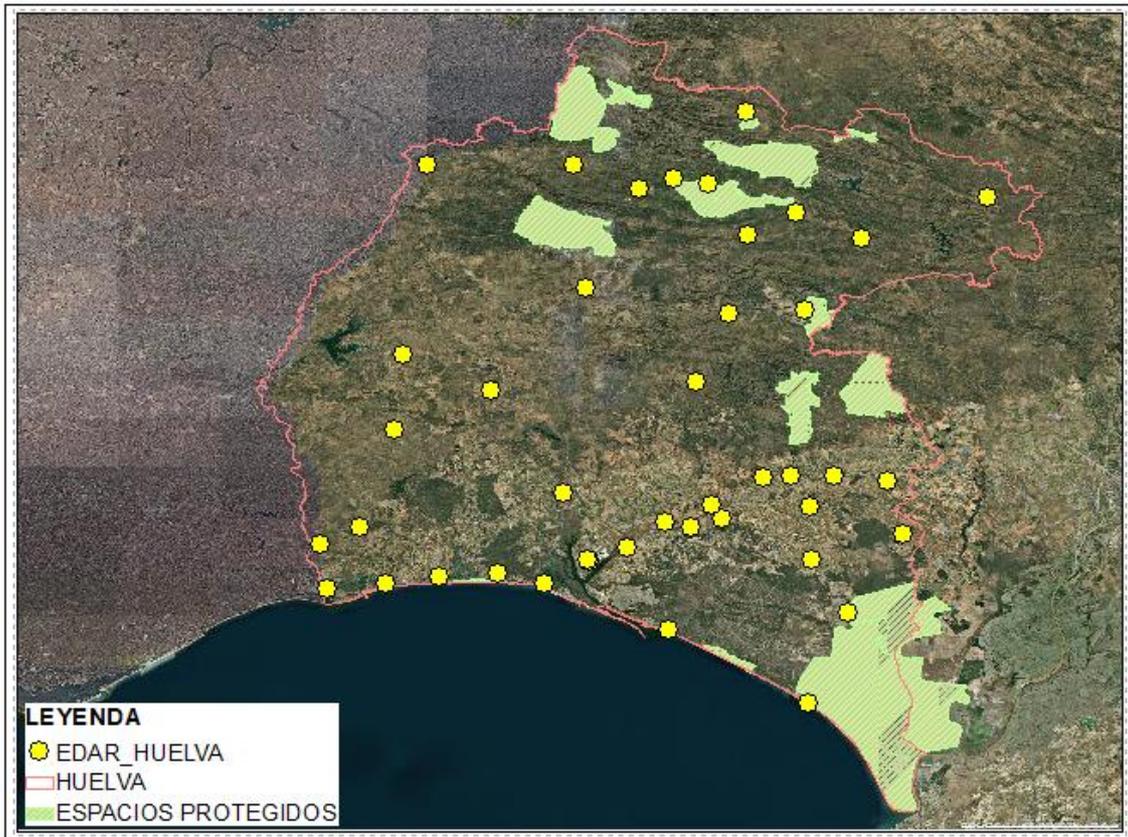


Figura 3.1. Mapa de las EDAR, presentes en el territorio de Huelva.

Mediante el software ArcGis (sección de MATERIALES Y MÉTODOS) se ha determinado lo siguiente:

- Se han situado los ríos y otros flujos de agua que nacen, terminan o atraviesan los diferentes espacios naturales.
- Se han identificado las EDAR que se encuentran próximas a un radio de 800 m de los citados espacios naturales.
- La Tabla 3.1 resume dicha información, incluyendo el nombre de la EDAR, cauce de agua al que vierte y espacio natural que puede afectar.

Tabla 3.1. Resumen de las EDAR seleccionadas en función de proximidad a espacios naturales protegidos de alto valor en la provincia de Huelva.

Nombre EDAR	Cauce/efluente	Espacio natural
El Rocío	Cañada Marín	Entorno del Parque Nacional de Doñana
Nerva-Rio Tinto-El Campillo	Arroyo de Enmedio	Pinares de Nerva
Punta Umbría	Caño De Melilla La Honda	Enebrales de Punta Umbría
Matalascañas	Golfo De Cádiz	Parque Nacional de Doñana
El Rompido	Río Piedras	Flecha del Rompido
Galaroza	Rio Múrtigas	Sierra del Castaño

Nombre EDAR	Cauce/efluente	Espacio natural
Jabugo	Rio Caliente	Sierra del Castaño
Cumbres Mayores	Barranco De Riofrio	Sierra del Viento

La Figura 3.2 relaciona la Tabla 3.1, en donde se puede observar gráficamente la localización de las 7 EDAR, que se encuentran en un radio menor de 800 metros de los espacios protegidos (Complejos litorales excepcionales y los Complejos serranos de interés ambiental).

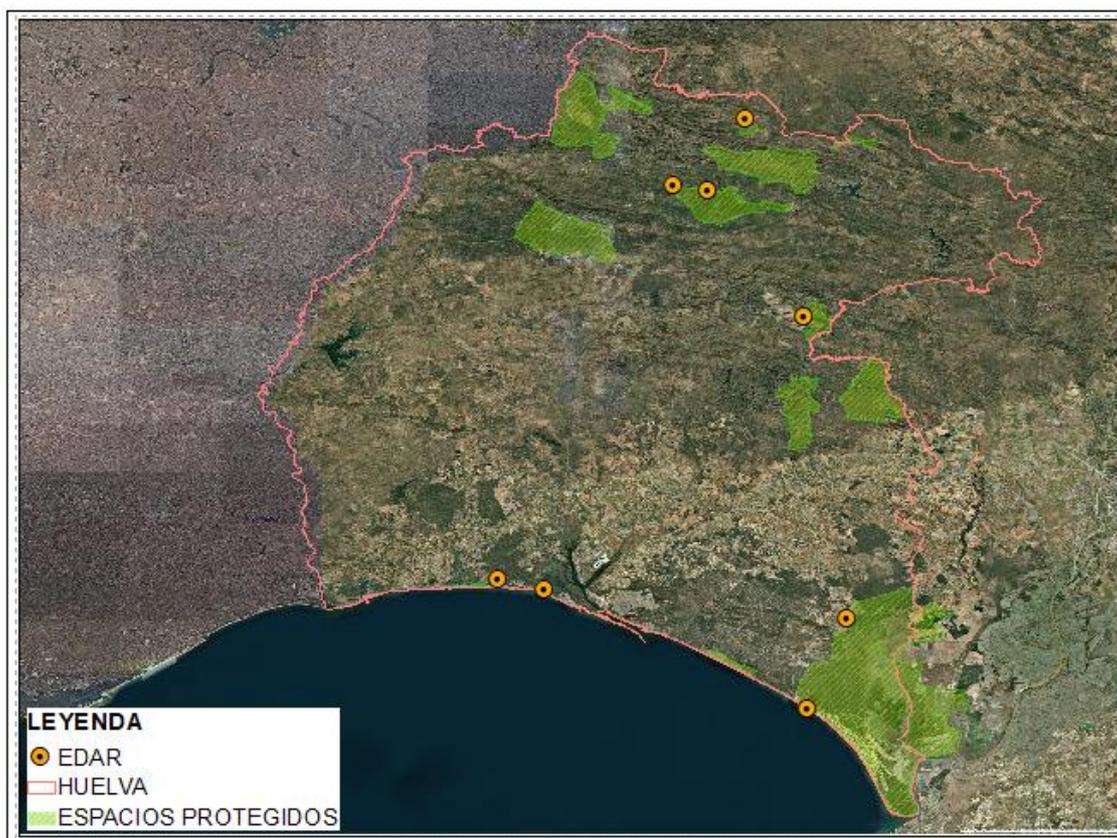


Figura 3.2. Mapa de las EDAR, seleccionadas.

3.1.2 Rango de Temperaturas Adecuado al Cultivo de Microalgas.

Como ya se ha analizado en la sección de Introducción de este TFM, los cultivos de microalgas pueden proliferar en rangos de temperaturas muy amplios, ya que las microalgas extremófilas pueden hacerlo desde temperaturas cercanas a los 0°C y las termófilas incluso por encima de 50°C. La implantación de un sistema de microalgas en la EDAR utilizaría, como se resolverá posteriormente en este TFM, una microalga mesófila propia de la zona, es decir: un microorganismo que prolifere de forma óptima a temperaturas entre 20 y 45°C (propias de la zona geográfica) y que colonice de forma natural el medio de cultivo.

La decisión del rango de temperaturas más adecuado es determinante para obtener cultivos productivos de la microalga y, por tanto, será clave para elegir la EDAR en una u otra zona de la provincia. Los criterios que se aplicarán en el análisis de la temperatura son:

- Menor amplitud térmica diaria promediada a lo largo del año.
- Menor diferencia entre los extremos de temperaturas máximas, y entre los extremos de temperaturas mínimas, a lo largo del año.
- Mayor temperatura promedio del agua y menor amplitud térmica de la misma.

En base a la información previamente analizada en el apartado 3.1.1., se han seleccionado dos municipios para analizar la zona geográfica más conveniente de cara a la implementación de un sistema de producción de microalgas (SM) asociado a una EDAR: Almonte, en la zona de la costa atlántica onubense, y el entorno de Aracena, en la zona de la sierra de Huelva. Se ha asumido, para la Sierra de Aracena y Picos de Aroche, que la climatología de Aracena será representativa de la que habitualmente tiene lugar en un entorno de, aproximadamente, 20 km alrededor de dichos municipios. Por su parte, la estación meteorológica de Almonte se encuentra situada junta a la EDAR de El Rocío.

Para realizar el análisis, se han representado en gráficos (Figura 3.3, Figura 3.4 y Figura 3.5) la amplitud térmica diaria promedio, temperaturas máximas y mínimas promedio a lo largo del año, y temperatura promedio del agua a lo largo del año. La procedencia de los datos se especifica en la sección de Materiales y Métodos.

La zona donde se en cuenta localizada el EDAR El Rocío, presenta unos veranos muy calientes durante los meses de junio y septiembre, con temperaturas máximas promedio diarias superiores a 30°C, mientras que los periodos frescos se presentan en los meses de noviembre a marzo, con temperaturas máximas promedio de 19°C y con una temperatura mínima promedio de 6°C. En el municipio de Aracena también se registran máximas promedio diarias en verano superiores a los 30°C, con mínimas promedio de 2°C en la época más fría del invierno. Como se deduce de la Figura 3.3, las temperaturas máxima y mínima promedio, a lo largo del año, en el municipio de Almonte, son 26,5 y 10,5°C, respectivamente, con una amplitud térmica promedio de 16°C, un 9,9% inferior a la calculada para el municipio de Aracena. En este último, por su parte, las temperaturas máxima y mínima promedio, a lo largo del año, son 26,5 y 8,5°C, respectivamente, con una amplitud térmica promedio de 18°C.

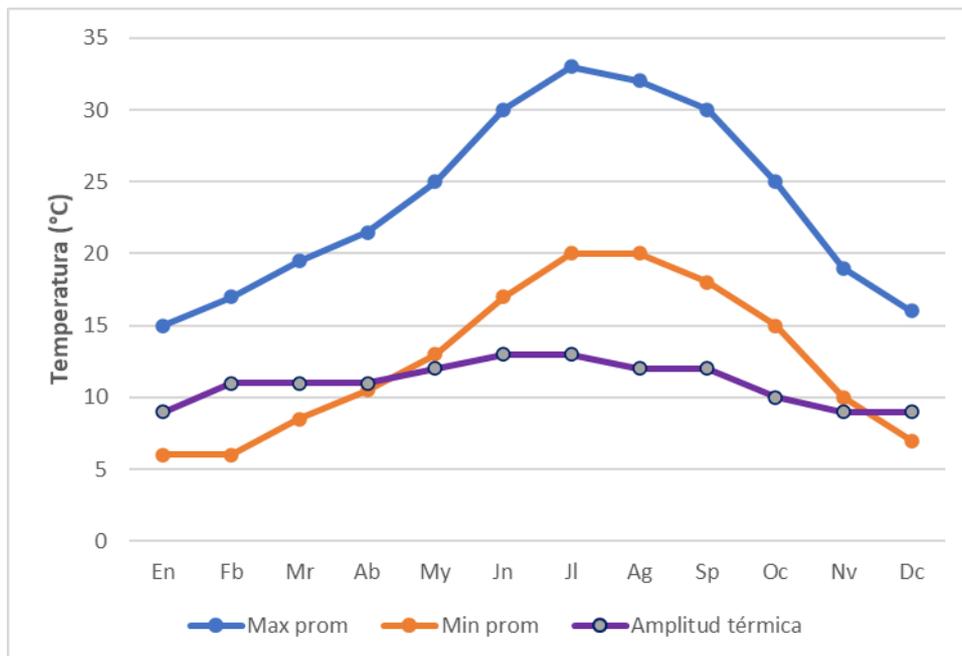


Figura 3.3. Temperaturas máximas y mínimas promedio, y amplitud térmica, en Almonte.

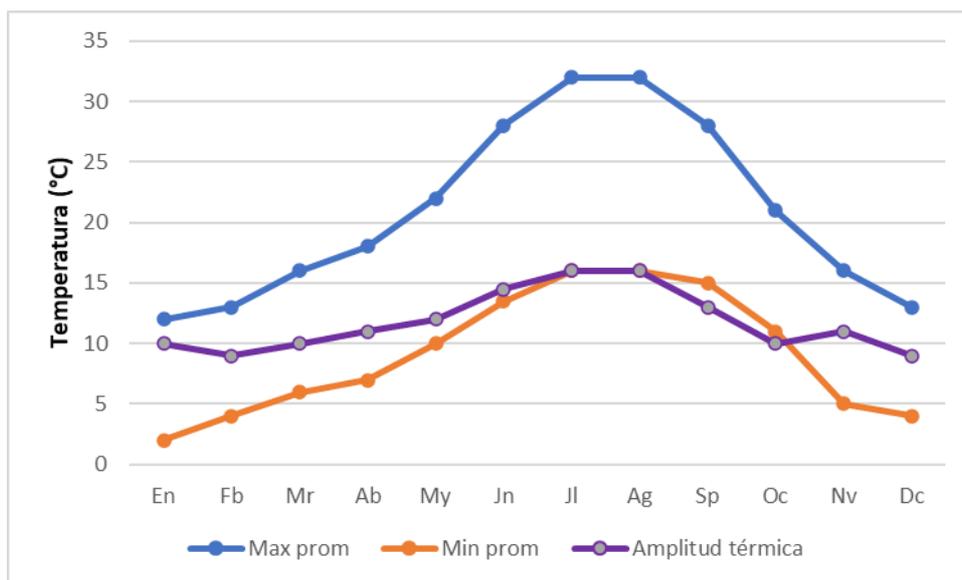


Figura 3.4. Temperaturas máximas y mínimas promedio, y amplitud térmica, Arcena.

Del análisis de datos cabe destacar las siguientes observaciones principales:

- a) De una parte, las medias anuales máximas y mínimas en el municipio de Almonte son más suaves que en Arcena, hasta 3,45°C más alta en el caso del promedio de mínimas y 1,29°C más alta en el caso del promedio de las máximas. El cultivo masivo de microalgas a la intemperie está sujeto a las fluctuaciones de la temperatura ambiental; un descenso en la temperatura media mínima supone una ralentización de las constantes de velocidad de las reacciones metabólicas que se trasladaría en proporción similar al crecimiento y a la productividad de biomasa. Dicho descenso no sería lineal, sino exponencial, de acuerdo con la ecuación establecida por Arrhenius para la relación entre constante de velocidad de una reacción y la temperatura:

$$k = A \cdot e^{-E_a/RT}$$

Donde A es el factor de frecuencia; E_a , la energía de activación; R, constante universal de los gases; T, temperatura absoluta.

- b) De otra parte, la amplitud térmica diaria promedio en Almonte, en el año, es 2°C inferior en el municipio de Almonte comparada con la de Aracena. La menor amplitud térmica en la temperatura ambiental puede producir también menor amplitud térmica en la temperatura del agua, lo que supondría una ventaja para el crecimiento de las microalgas al mejorar la eficiencia de la fotosíntesis. No obstante, la amplitud térmica del agua a lo largo del año en Almonte (8°C), y la de Aracena (7,5 °C) son prácticamente idénticas, con temperaturas máximas de 23°C y 22°C, respectivamente, y mínimas de 15°C y 14,5°C, respectivamente (Figura 3.5). Sin embargo, debe tenerse en cuenta que estos datos están tomados normalmente en cuerpos de agua de mayor volumen y profundidad que un sistema de cultivo de microalgas, lo que en el caso de las localizaciones de la Sierra de Aracena y Picos de Aroche puede dar lugar a una asunción errónea de las condiciones de temperatura del agua de los cultivos en invierno. En cuerpos de agua de poca profundidad y en la naturaleza, las temperaturas mínimas en pleno invierno pueden aproximarse con frecuencia a valores inferiores a 5°C, consecuencia de los 2°C de mínima de la temperatura ambiental en Aracena, mientras que en Almonte estas situaciones sólo se producirán de manera puntual.

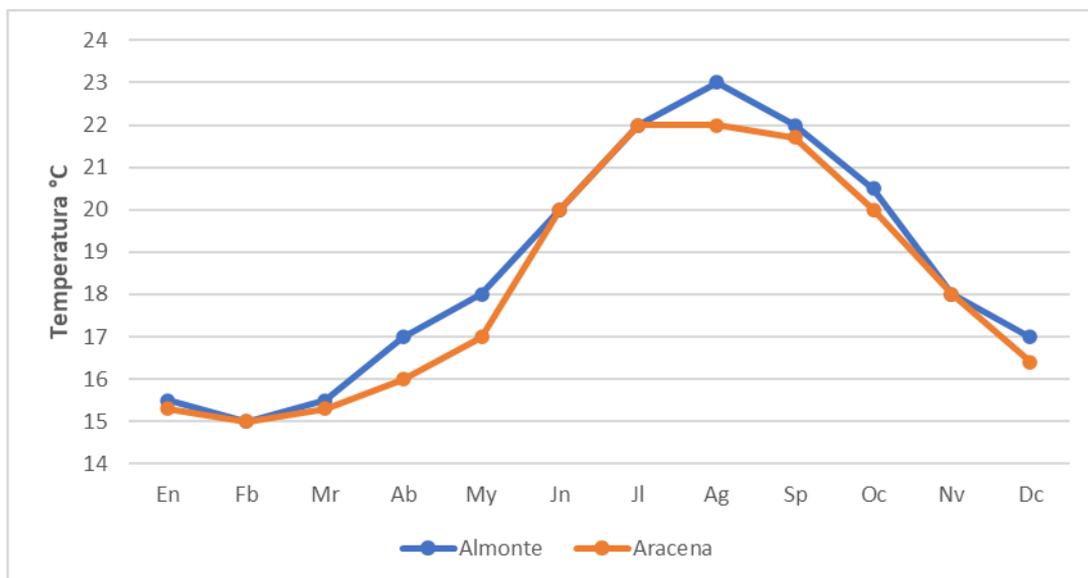


Figura 3.5. Temperatura promedio del agua en Almonte y Aracena a lo largo del año.

3.1.3 Horas Reales de Insolación.

Como ya se detalló de forma exhaustiva en la sección de Introducción, la productividad de los cultivos de microalgas depende directamente de la cantidad de luz recibida en el espacio dedicado al cultivo durante su producción. Los datos de energía solar que alcanza la superficie terrestre en los municipios de Almonte y Aracena a lo largo del año (Figura 7.1y Figura 7.2, Anexo), muestran que, todos los meses del año, existe una diferencia notable entre ambas localizaciones, variando

entre el 30% y el 50%, aproximadamente. Con base a los valores mensuales registrados por la estación de Almonte, localizada en las coordenadas: Longitud: -6,47 y Latitud: 37,15 (monitorizada por la Agencia Andaluza de la Energía), se define que el periodo de mayor calor o de mayor incidencia solar, ocurre en los meses de mayo hasta agosto, con una incidencia máxima en el mes de junio de 258.7 kWh/m², mientras que los meses con menor radiación directa van desde noviembre a enero, donde el mes con menor incidencia solar es diciembre con un valor de 63.6 kWh/m². Por su parte, en Aracena (Longitud: -6,59; Latitud:37,66.), los valores de energía solar incidente registrados en los mismos periodos anteriores son 189,6 kWh/m² y 24,4 kWh/m², respectivamente. La diferencia en energía total incidente en un año, 252,83 kWh/m², calculada a partir de la radiación directa mensual acumulada, (Tabla 7.2 del Anexo), existente entre los municipios de Aracena y Almonte, debería tener un impacto significativo en la actividad de los cultivos de microalgas (y, por tanto, en la productividad de la biomasa), asumiendo igual número de horas anuales de insolación real en ambas localizaciones.

La productividad de un SM depende directamente de las horas reales de insolación del cultivo y de la cantidad de radiación directa que recibe el cultivo. Se dispone de datos relativos a la frecuencia de nubosidad en ambas localizaciones por la radiación directa mensual de cada sector. La Figura 3.7, muestra la radiación directa total de Aracena y Almonte con base a la frecuencia de tiempo despejado a lo largo del año, datos que se representan en la Figura 3.6.

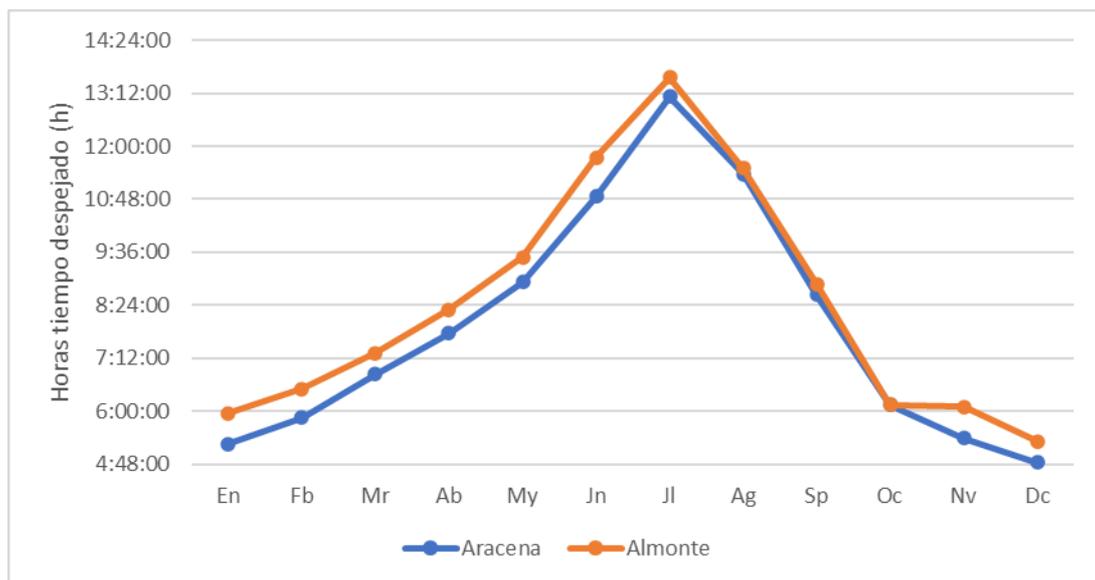


Figura 3.6. Horas de insolación.

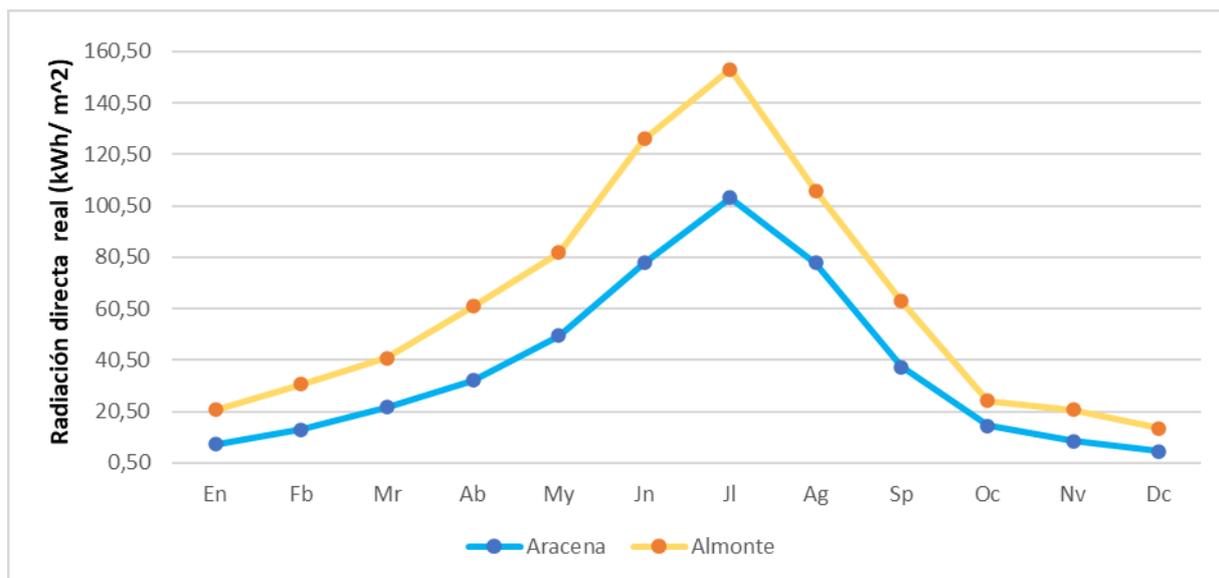


Figura 3.7. Radiación directa mensual por las horas reales de insolación.

Los datos representados muestran que las horas de insolación sobre un cultivo de microalgas no serían las mismas según la instalación se ubique en Aracena o en Almonte. La Figura 3.7 muestra que un SM ubicado en la EDAR de El Rocío recibiría, en promedio, un 39 % más de radiación directa a lo largo del año en comparación con un SM ubicado en Aracena.

Para una mejor comprensión de las diferencias existentes en valores de parámetros climáticos relevantes de cara al establecimiento de un sistema de producción de microalgas, en las zonas geográficas correspondientes a las poblaciones de El Rocío (Almonte, proximidad a la costa) y Aracena (norte de la provincia), en la Tabla 3.2 se han resumido los principales datos agrupados en dos épocas del año: la que se ha denominado “época fría” (desde enero hasta abril, inclusive, y de noviembre a diciembre, inclusive) y “época de calor” (desde mayo hasta octubre, inclusive). Los valores recogidos para cada época del año se obtienen promediando los correspondientes a los meses incluidos en cada periodo.

Tabla 3.2. Condiciones Climatológicas. Promedios de los valores de cada parámetro obtenidos en los 6 meses de cada uno de los dos periodos indicados: “Época de frío”, desde enero hasta abril y de noviembre a diciembre, todos inclusive; “Época de calor”: desde mayo hasta octubre, ambos inclusive.

Parámetro	Almonte		Aracena	
	E. frío	E. calor	E. frío	E. calor
Temperatura ambiente promedio (°C)	13	23,16	10,25	21,16
Temperatura del agua promedio (°C)	16,33	20,91	16	20,45
Rad. solar directa promedio (kWh/m²)	31,7	92,85	14,94	60,54
Rad. solar directa acumulada (kWh/m²)	190,22	557,10	89,61	363,22
Horas totales cielo despejado	6h, 34 min	10h, 13 min	5h, 59 min	9h, 51min

En conclusión, en base a los resultados obtenidos del análisis anteriormente descrito, se decidió seleccionar la EDAR de El Rocío, en el municipio de Almonte, como la más adecuada para la implementación de un sistema de producción de microalgas, por aunar en su localización geográfica la proximidad a un espacio natural de valor excepcional ecológico y ambiental, y las características climáticas más apropiadas para la producción de microorganismos fotosintéticos. La EDAR de El Rocío se encuentra en el término municipal de Almonte, situada a 529 m del Pre-Parque Nacional y Natural de Doñana.

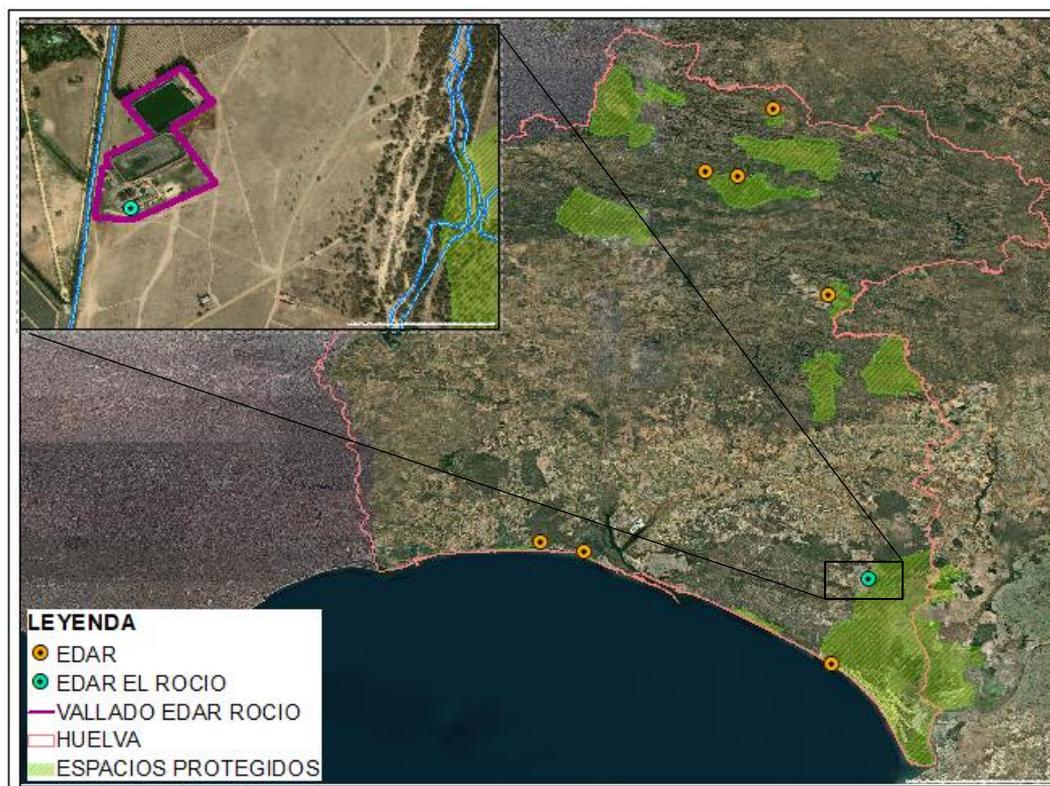


Figura 3.8. Localización de la EDAR de El Rocío, colindante con el Parque Nacional de Doñana.

En función de la clara diferencia en el clima entre la época más fría y la más cálida del año, se ha decidido considerar, en adelante, a efectos del planteamiento del modelo de producción y para facilitar los cálculos en la aproximación de este TFM, dos periodos de producción: la denominada “época fría”, los meses comprendidos entre enero hasta abril y de noviembre a diciembre, todos inclusive, y la “época cálida”, los meses comprendidos entre mayo hasta octubre, ambos inclusive.

3.2 IMPLEMENTACIÓN DE UN SISTEMA DE PRODUCCIÓN DE MICROALGAS

Una vez seleccionada la EDAR de El Rocío, se procede a dimensionar y evaluar teóricamente la productividad de un sistema de producción de microalgas, bajo el enfoque de economía circular y sostenibilidad previamente comentado en el Resumen, y en Objetivos y Justificación del trabajo.

3.2.1 Sistema de Producción.

La producción de microalgas acoplada a la EDAR requiere agua con nutrientes y una microalga adecuada. El agua se obtendría del efluente de la EDAR El Rocío. Los balances de nutrientes (disponibles en el agua más los aportados con fertilizantes) se realizarán una vez elegido y dimensionado el sistema de producción, conforme a los siguientes criterios específicos:

- **Elección del tipo de sistema de producción:** Para la selección del sistema de producción se tienen en cuenta los siguientes criterios: inversión inicial, costes de operación, productividad, riesgo de contaminación y densidad celular. En base a la información expuesta y discutida en el Capítulo de Introducción sobre los aspectos mencionados anteriormente, y teniendo en cuenta el análisis de condiciones climáticas de la zona, se determina que el sistema de cultivo que mejor se adapta, es un cultivo abierto de tipo circuito agitado. Al ser una estructura sencilla y de fácil funcionamiento a la hora de operarlo, no requiere de grandes inversiones durante la fase de construcción y funcionamiento, como se discutió en la Introducción. Por otra parte, el sistema se utilizará para aprovechar aguas depuradas, por lo que las aplicaciones del producto obtenido estarían limitadas, en principio, a ámbitos más económicos, como la obtención de biocombustibles o la biofertilización.
- **Elección de termostatación:** El circuito abierto y agitado está muy limitado en lo que respecta a la densidad celular y al control de contaminación por microorganismos oportunistas. Para mitigar y controlar las problemáticas anteriormente mencionadas se propone instalar un invernadero, con el fin de regular los cambios de temperatura, particularmente en la época más fría del año, con mínimas promediadas de 6°C (meses de enero y febrero) y mínimas puntuales de 2 ó 3°C, que afectan al crecimiento ralentizándolo.
- **Elección de iluminación continua:** Ya se discutió en la primera sección de este Capítulo de Resultados que la radiación solar directa diaria que presenta la zona no supone limitación alguna con respecto a los requerimientos de los microorganismos fotosintéticos. Sin embargo, si el sistema de cultivo se ciñe a los ciclos naturales de luz y oscuridad, la productividad disminuirá considerablemente. Por ello, se propondría mantener iluminación continua para mantener la productividad de las microalgas durante 24 horas diarias, para lo cual se propondría instalar LEDs en el sistema de producción de microalgas. La forma más eficiente de suministrar al cultivo fotones de la longitud de onda adecuada sería instalarlos dentro del propio seno del cultivo líquido, en el fondo de circuito agitado, aprovechando la ventaja de que esto es realizable fácilmente con LEDs. De esta forma se evitan pérdidas de luz por reflexión en la superficie del agua.

Al instalar los LEDs, se puede asegurar al sistema una longitud de onda máxima de 630nm (Kommareddy & Anderson, 2003), la cual es adecuada para estimular la fotosíntesis en las microalgas (Forjan et al., 2014). Además, se estima que un LED presenta un periodo de vida útil de 50.000 horas. Por lo tanto, se proyecta que un LED funcione dentro del sistema 417 días, es decir un año y 84 días de producción.

Al proponer un sistema de iluminación artificial, se proyecta instalar paneles solares que sean capaces de suministrar los requerimientos energéticos de todas las iluminarias a instalar dentro de cada biorreactor, durante las dos épocas del año. Para cada biorreactor se instalarían 50 LEDs. Por consiguiente, se requieren 94 paneles solares, para abastecer los dos módulos en la época de frío, (considerada como la época de menor irradiancia y mayor consumo energético).

- **Elección de material de construcción:** Al tratarse de una instalación implementada que podría ser de uso temporal, o cuya ubicación en la instalación de la EDAR podría variar por una ampliación, se descartan materiales de construcción permanentes, como ladrillo, hormigón u otros similares. El material con el que se plantearía realizar la construcción del sistema de cultivo es la fibra de vidrio, que es ligero, permite la retirada del sistema o su cambio de emplazamiento con facilidad y tiene un periodo de vida útil de 15 a 40 años (FIVIDRIO, 2020).
- **Dimensiones del circuito abierto agitado:** En base a la información de la literatura científica analizada (Capítulo de Introducción), se propone utilizar dimensiones convencionales en el diseño de un sistema del tipo referido; se proponen sistemas de 50 m de longitud máxima, manteniendo una relación 1/10 entre el ancho y el largo del circuito (Domínguez, 2018). Se propone una columna de agua tendrá 0,15 m, dentro del margen descrito en la literatura científica como adecuado (Domínguez, 2018). La elección de la longitud de la columna de agua se basa en el análisis de dos tipos de datos:
 - La relación entre irradiancia y longitud de la columna de agua (Figura 7.4, Anexo).
 - La relación entre tasa de crecimiento promedio en microalgas y la longitud de la columna de agua (Figura 7.3, Anexo)

Según la Figura 7.4 del Anexo, a una profundidad de 0,15 m se produce una pérdida de irradiancia de, aproximadamente, el 60% de la que alcanza la superficie del cultivo. Dicha pérdida será mayor en presencia de las células de la microalga debido al efecto pantalla de unas sobre otras, lo que reduce la irradiancia en el fondo de la columna de agua hasta el 95% de la inicial (datos no mostrados, obtenidos en la Planta Experimental de Microalgas de la Universidad de Huelva, en CIDERTA). Esta limitación de luz para el microorganismo se solventa mediante una agitación adecuada del cultivo, de modo que las células estarán sometidas a ciclos cortos de luz-oscuridad, según accedan a la parte alta de la columna de agua y vuelvan seguidamente al fondo de la misma (Forjan et al., 2014). En un sistema tipo circuito abierto agitado, pueden ajustarse la velocidad de agitación y la longitud del canal para conseguir minimizar la sedimentación y, por tanto, mantener la homogeneidad en el cultivo de modo que cada célula esté sometida a ciclos cortos, constantes, de luz-oscuridad. De esta forma se asegura la máxima tasa de crecimiento posible para la microalga producida. Conseguido esto, según el análisis de la Figura 7.3 del Anexo la tasa de crecimiento promedio para la microalga cultivada en un sistema abierto con una columna de agua de 0,15 m será, como máximo, un 85% de la teórica máxima (Romagnoli et al., 2020).

De cara a la elección de microalga, deberá tenerse en cuenta la selección de algún género tolerante a alta irradiancia, pues la columna de agua de 0,15 m asegurará a cada célula, en un sistema con baja concentración celular y una agitación homogénea, mayores dosis de PAR que en un sistema de mayor profundidad.

- **Agitación mecánica:** El sistema se agitará mecánicamente para asegurar un constante movimiento, facilitar el intercambio de nutrientes y evitar la sedimentación de las microalgas (Richmond, 2003). El sistema de agitación es el habitual en este tipo de sistemas.

La Tabla 3.3 hace referencia a las características y dimensiones den posible módulo de producción.

Tabla 3.3. Dimensiones del biorreactor.

PARÁMETRO	VALOR
Largo (m)	50,0
Ancho (m)	5,0
Profundidad (m)	0,15
Volumen total (m ³)	37,5
Área superficial (m ²)	250
Área transversal (m ²)	7,5
Numero de LED por biorreactor	50
Distancia de ubicación LED (m)	5

En la Figura 3.9, se puede observar de una forma gráfica las dimensiones expuestas en la Tabla 3.3.

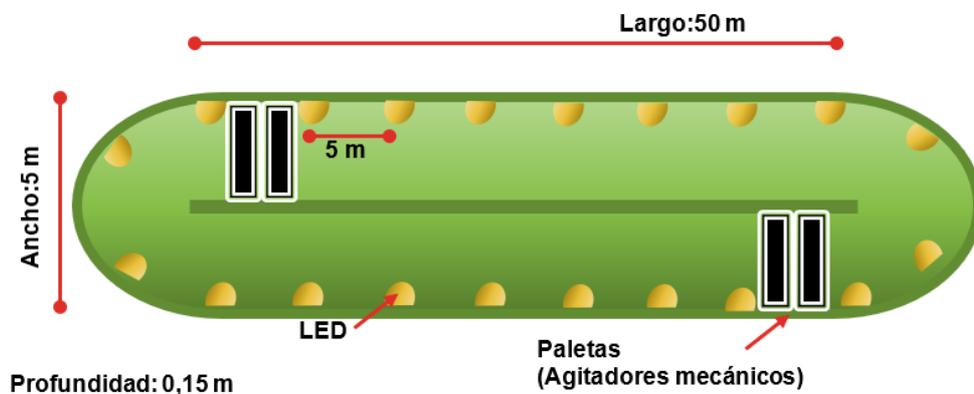


Figura 3.9. Diseño de un biorreactor del tipo circuito abierto agitado.

3.2.2 Elección de la Microalga.

Como se refirió en la Introducción, existen centenares de miles de especies de microalgas. Sin embargo, una vez elegido y justificado el uso de un sistema abierto y teniendo como objetivo transferir nutrientes del agua de la EDAR a biomasa de forma rápida, la elección de la microalga adecuada se apoyaría, según nuestra propuesta, en los criterios que se resumen en la Tabla 3.4.

Tabla 3.4. Criterios conducentes a la selección de una microalga adecuada al proceso propuesto.

Criterio	Justificación	Fuente de datos para análisis
Mesófilo	Temperaturas propias de la latitud de la provincia de Huelva	Figura 3.3
Alta afinidad por N y P	Capacidad de crecer con niveles muy bajos de N y P presentes en aguas depuradas.	(Martins et al., 2010; Romero-Morales et al., 2018; Subirats, 2015)
Crecimiento rápido	Alta productividad. Capacidad de tolerar las altas dosis de PAR de la ubicación.	(Castillo et al., 2017; Ilevina & Romagnoli, 2020; S. P. Singh & Singh, 2015)
Crecimiento robusto	Tolerancia frente a posibles competidores fotoautótrofos por uso de sistema abierto.	(Abalde et al., 1995; Hernández & Labbé, 2014)
Crecimiento unicelular	Evitar alto gasto energético en sistema abierto, necesario para especies que agregan.	(Abalde et al., 1995)
Alto contenido en lípidos	Ventaja para productividad biodiésel.	(Qiu et al., 2017; Salazar, 2012)

Como premisa para la actividad propuesta, se sugiere en este TFM utilizar microalgas aisladas del propio entorno geográfico, microorganismos que pueden proliferar de manera autónoma en un medio mineral rico en nutrientes propios de microalgas. Cualquier especie de laboratorio que crezca en un medio de cultivo poco selectivo, es decir, cuyas condiciones no extremas permitan el crecimiento de especies locales oportunistas, estaría en principio condenada a presentar con frecuencia problemas de contaminación que podrían producir el colapso del cultivo. Podría seleccionarse un monocultivo de una especie local, o incluso desarrollar cultivos mixtos, con dos o más especies en equilibrio a lo largo del año (Abalde et al., 1995).

No obstante, en la aproximación realizada en este trabajo se ha analizado exhaustivamente la literatura científica en búsqueda de especies que cumplan los criterios expuestos en la Tabla 3.4. Para ello, se han analizado datos de Tablas y Figuras de un número de revisiones bibliográficas y artículos de los últimos años.

Al realizar el análisis de la información científica conforme a lo expuesto en el Capítulo 1, se determina que el género de microalga que mejor puede adaptarse para realizar la depuración de las aguas de la EDAR El Rocío atendiendo a los criterios

expuestos en la Tabla 3.4, es *Chlorella*, ya que las especies de este género se caracterizan por presentar una alta tasa de crecimiento, alta adaptabilidad a entornos de condiciones fluctuantes, alta tolerancia a alta irradiancia PAR, bajos requerimientos nutricionales y una baja sensibilidad a la contaminación. Los principales resultados obtenidos del análisis de la literatura se exponen en la Tabla 3.5.

Tabla 3.5. Parámetros de crecimiento de *Chlorella* sp. Especies del género *Chlorella* que cumplen con los criterios expuestos en la Tabla 3.4 para ser candidatas para su producción en la EDAR El Rocío.

Especie	Temperatura (°C)	Irradiancia ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	Tasa de crecimiento (d^{-1})	Lípidos (% peso seco alga)
<i>C. vulgaris</i>	25 a 28*	2400	1,09	5 - 40 *
	<15** y > 30**			58 **
<i>C. sorokiniana</i>	36 a 40	750 *	0,3	37
	<20** y >42**	2500**		
<i>C. protothecoides</i>	25 a 37*	50*	3,4	48,7*
				55,2 - 57,8**
<i>C. minutissima</i>	10-30*	30 – 550	0.12-0.66	57**
	35**	1500**		

*Condiciones óptimas; ** Condiciones de estrés

Fuente: (Ilevina & Romagnoli, 2020; S. P. Singh & Singh, 2015), Modificado.

Después de analizar las características y las condiciones de la zona de influencia directa, el área del término municipal de Almonte, se identifica que la mejor especie de microalga -de las analizadas- que se puede adaptar para el desarrollo del proyecto es la *Chlorella minutissima*, ya que la temperatura óptima para su crecimiento está dentro del rango de 10-30°C, y la zona de El Rocío presenta una temperatura mínima de 19°C y máxima de 30°C. Un factor clave en esta selección es la capacidad de dicha especie para adaptarse a temperaturas fuera del citado rango, adaptándose a 35°C, temperaturas puntualmente altas durante la época cálida en la costa onubense. Otro factor limitante para el crecimiento de las microalgas es la incidencia de la luz; se propone a la microalga *C. minutissima* como la más apropiada al no requerir una alta irradiancia (máxima de 550 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) para alcanzar su tasa de crecimiento máxima de 0,6 (Tabla 3.5). El uso de invernadero amortiguaría la variabilidad e impacto de la temperatura sobre el cultivo a lo largo de los ciclos naturales día-noche. *Chlorella vulgaris* y *Chlorella sorokiniana* serían, igualmente, candidatas potencialmente adecuadas para su producción en la latitud y condiciones discutidas en este trabajo.

3.2.3 Características Operacionales del Sistema de Producción.

El SM acoplado a la EDAR operaría, según la propuesta de este TFM, del siguiente modo:

- a) El SM contiene un volumen constante de agua depurada, tomada de la EDAR.
- b) La microalga elegida crece dentro un rango de tasas de crecimiento descrito anteriormente, y lo hace en base a nutrientes (N y P, principalmente) que proceden del agua de la EDAR y de formulaciones NPK comerciales. Durante la operación del SM, la biomasa total que contiene se mantendrá aproximadamente constante.
- c) El incremento diario de biomasa debido al crecimiento es evacuado del SM diariamente. Para ello, cada día el SM se diluye mediante la extracción de una fracción de su volumen determinada por la tasa de crecimiento de la microalga. El volumen retirado se repone con volumen de agua de la EDAR de El Rocío.
- d) Como se explicó al final del primer apartado de este Capítulo 3, para realizar una primera aproximación a los cálculos de operación del SM -este es el objeto de este TFM- se han considerado separadamente dos épocas del año con diferente climatología: la que se ha denominado “época de frío”, entre desde enero hasta abril y desde noviembre hasta diciembre, todos inclusive, y la denominada “época de calor”, que incluye los meses comprendidos entre mayo y octubre, ambos inclusive.

Como se ha descrito anteriormente en este TFM, la EDAR de El Rocío alimentará el sistema de producción de microalgas con agua depurada, conteniendo N y P inorgánicos. En este apartado se muestran los resultados de los cálculos realizados para determinar los principales parámetros de operación del sistema de producción, lo que incluye principalmente:

- Dimensionar los flujos de agua entre la EDAR y el SM.
- Dimensionar la productividad de la biomasa.
- Dimensionar las masas de N y P de la EDAR recicladas en biomasa de microalgas.
- Dimensionar el volumen de triglicéridos y, por tanto, de biodiésel obtenido.

Como premisa, se hace constar la necesidad, en la práctica, de analizar diariamente los parámetros fisicoquímicos del agua de la EDAR, con objeto de poder ajustar, cuando proceda, los nutrientes y características fisicoquímicas del sistema de producción de microalgas a los valores de operación que se establezcan.

Debido a que, durante las dos épocas del año definidas, las condiciones climáticas cambian, particularmente la temperatura, por ende, también lo hará la tasa de crecimiento de la microalga, por lo cual es necesario calcular los valores de los parámetros relevantes a la hora de estimar la producción del sistema del cultivo para estos dos periodos del año. Aunque se propone el uso de invernadero para amortiguar el impacto de las temperaturas más frías del invierno en el agua del SM, los cálculos se han realizado para el escenario menos positivo, sin contabilizar el efecto amortiguador. Es decir, considerando una tasa de crecimiento para la época de frío y otra mayor para la época de calor

Seguidamente se muestran los resultados obtenidos de los principales parámetros del SM para ambas épocas del año. Para el cálculo, se han fijado determinadas características del sistema que incluyen alto, ancho, profundidad y volumen útil del SM (ya discutidos en este TFM, Tabla 3.3), así como otros datos necesarios para obtener datos anuales del SM que incluyen días de operación por semestre y anuales, y el número de unidades de producción de microalgas en cada época. Todos ellos se resumen en la Tabla 3.6.

Tabla 3.6. Principales parámetros del SM.

Características	Valor
Largo (m), ancho (m), profundidad (m)	50 ; 5 ; 0,15
Volumen total	37,5 m ³ (37.500 L)
Numero de biorreactores implementados	1 época de calor, 2 época de frío
Días de operación semestral/anual	167 ; 334

Se ha determinado que en la época de frío operen 2 unidades del SM, para compensar en esta aproximación la pérdida de productividad del SM como consecuencia de las temperaturas más bajas en invierno. Se ha considerado también que el SM no operará durante 1 mes al año (31 días), incluyendo en este periodo tareas de limpieza de los reactores, posibles necesidades de mantenimiento que requieran parada del SM (maquinaria: bombas, palas agitadoras, reparaciones en la fibra de vidrio) o eventos que supongan un colapso del crecimiento.

Época de Calor

Para calcular los flujos de agua de la EDAR al SM y los del propio SM, se han prefijado los valores de los parámetros que se recogen en la Tabla 3.7: la tasa de crecimiento y la densidad celular.

La tasa de crecimiento promedio de *C. minutissima* para la época de calor se ha fijado en 0,3. Debe aclararse en este punto que no existe ningún modelo que prediga con exactitud y precisión la tasa de crecimiento de una microalga, ya que las condiciones experimentales o de producción son únicas en cada caso, incluyendo en ello variación de temperatura, de irradiancia, paso de luz en el cultivo, composición nutricional del medio de producción, parámetros de ingeniería del proceso, etc. No obstante, se pueden realizar aproximaciones a la tasa de crecimiento dentro de unos márgenes habituales de valores esperables según condiciones de producción habituales. En este sentido, asumimos una tasa de crecimiento de 0,3 d⁻¹ para la época de calor, en base a una pérdida del 55% de la tasa de crecimiento máxima del microorganismo descrita en condiciones óptimas de crecimiento en laboratorio (0,66 d⁻¹). La pérdida se justifica en la disminución de un 15% de reducción natural de irradiancia en la columna de agua (calculada para 0,15 m, Figura 7.3 y Figura 7.4 del Anexo) (Romagnoli et al., 2020), y un 40% añadido en base a dos factores: la relativamente alta concentración de biomasa seleccionada (3 g·L⁻¹), que apantalla el paso de luz en el cultivo, y las condiciones subóptimas de luz y temperatura naturales a lo largo de la mayor parte del día (Cuaresma et al., 2009; Cuaresma et al., 2011). Se

ha asumido, para la época de calor, una concentración de microalgas en el SM de 3 g·L⁻¹, aceptada en la literatura como razonable para operar un SM del tipo circuito abierto.

Para mantener el SM con una concentración de biomasa aproximadamente constante, ha de operarse diluyendo cada día para extraer del SM el exceso de biomasa producida con consecuencia del crecimiento en las 24h previas. Con este planteamiento y como se describe en el Capítulo 2, la tasa de dilución -fracción de volumen del SM que se retira diariamente del mismo y se reemplaza por volumen de agua de la EDAR- se iguala a la de crecimiento del microorganismo (Wen et al., 2014). De esta forma, $D = 0,3 \text{ d}^{-1}$, como se recoge en la siguiente Tabla.

Tabla 3.7. Parámetros iniciales de Época de Calor

Parámetro	Época de Calor
Tasa calculada de crecimiento (d^{-1})	0,3
Dilución (d^{-1})	0,30
Densidad celular ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	3,00
Producción de biomasa (kg d^{-1})	33,75

Como se describe en el Capítulo 2, a partir de la tasa de dilución, que depende por tanto de la tasa de crecimiento del microorganismo, y de la densidad celular del SM obtenemos con facilidad la productividad (tasa diaria de retirada de biomasa) del SM ($0,9 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$).

Si se mantiene constante el valor de dilución del SM -así lo asumimos en este TFM-, el volumen del SM permanece constante (37.500 L, Tabla 3.6) y permite establecer la cantidad de biomasa que teóricamente se genera (y retira) diariamente en el SM ($33,7 \text{ kg}\cdot\text{d}^{-1}$) y la cantidad de biomasa que se mantiene constantemente (y activa) dentro del biorreactor (112,5 kg).

El último dato permite conocer la cantidad de biomasa que, según el modelo de operación propuesto, se produciría -sería extraída del SM mediante dilución diaria- durante todo el periodo de calor (167 días), operando en las condiciones descritas: 5,64 toneladas.

Igualmente, relevante es el flujo de salida, o caudal de salida, del SM, ya que determinará el volumen de agua de la EDAR que se desvía diariamente hacia el sistema de producción de microalgas. El cálculo, que se describe en el Capítulo 2, es inmediato utilizando la dilución y el volumen útil del SM, dando lugar a 11.250 L diarios, lo que se traduce en $1.878.750 \text{ L}$ ($1.878,7 \text{ m}^3$) del efluente de la EDAR desviados al SM durante la época de calor.

Época de Frío

Para calcular los flujos de agua de la EDAR al SM y los del propio SM, se han prefijado los valores de los parámetros que se requieren para el funcionamiento de un

(1) biorreactor en la época de frío, los cuales se recogen en la Figura 3.8, la tasa de crecimiento (obtenida del análisis previo realizado en la sección 3.2.2 de este Capítulo 3) y la densidad celular. La tasa de dilución se obtiene en función de la tasa de crecimiento, como se indicó para la época de calor.

La tasa de crecimiento promedio de *C. minutissima* para la época de frío se ha fijado en 0,15. Como se indicó anteriormente, no existe ningún modelo que prediga con exactitud y precisión la tasa de crecimiento de una microalga, ya que las condiciones experimentales o de producción son únicas en cada caso. No obstante, y siguiendo la misma aproximación en el cálculo que para la época de calor, se ha obtenido un valor de tasa de crecimiento asumido como promedio para la época de frío, calculado como el 50% de la tasa obtenida para la época de calor, consecuencia del efecto de la temperatura más baja (Richmond, 2003). Se ha asumido, para la época de frío, una concentración de microalgas en el SM de 2 g·L⁻¹, también aceptable, según la literatura, para operar un SM del tipo circuito abierto.

Al igual que en apartado anterior, se asume para el SM una concentración de biomasa aproximadamente constante, diluyendo cada día el sistema para extraer el exceso de biomasa producida por crecimiento en las 24h previas. De esta forma, siguiendo el modelo de cálculo usado en la época de calor, la tasa de dilución sería $D= 0,15 \text{ d}^{-1}$. Por tanto, a la hora de determinar el peso de biomasa total producida en la denominada época de frío se utilizan los datos incluidos en la siguiente Tabla.

Tabla 3.8. Parámetros iniciales de Época de Frío

Parámetro	Época de Frío
Tasa de diseño de crecimiento (d^{-1})	0,15
Dilución (d^{-1})	0,15
Densidad celular ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	2,00
Producción de biomasa por biorreactor (kg d^{-1})	75
Producción de biomasa total (kg d^{-1})	11,25

A partir de la tasa de dilución y de la densidad celular del SM se ha obtenido la productividad (tasa diaria de producción) de biomasa del SM ($0,3 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$).

Asumiendo, de nuevo, un valor de dilución constante para el SM, el volumen del sistema permanece constante (37.500 L, Tabla 3.6), y a partir del mismo se calcula -en este caso para la época de frío- la cantidad de biomasa generada diariamente en un biorreactor en el SM ($11,2 \text{ kg}\cdot\text{d}^{-1}$), así como la cantidad de biomasa que se mantiene dentro del biorreactor (75 kg).

Con estos datos se calcula la cantidad total de biomasa que se produciría -extraída del SM mediante dilución diaria- durante la época de frío (167 días), operando en las condiciones descritas: 1,88 toneladas por biorreactor. En la aproximación a la planta de producción realizada en este TFM se han contemplado 2 SM operando

simultáneamente en la época de frío, por lo que se estima una producción total de 3,76 toneladas.

Como se detalló anteriormente para la época de calor, utilizando la dilución y el volumen útil del SM se obtendrá el caudal de salida del SM, y por lo tanto el volumen de agua de la EDAR que sería necesario desviar cada día hacia dicho sistema. Así, se obtienen 5.625 L diarios -234,38 L por hora, caudal de salida-, lo que se da lugar a 939.375 L (939,37 m³) del efluente de la EDAR desviados al SM durante la época de frío para uno sólo de los SM; así que durante el funcionamiento completo del SM en la época de frío, con dos biorreactores (SM) funcionando a la par, se necesita introducir un caudal constante de 5.625 L, por biorreactor, dando un total de 11.250 L diarios provenientes de la EDAR, por consiguiente se supone que semestralmente se están destinando 939.375 L por biorreactor, es decir que para los dos biorreactores se requieren 1.878.750 L (1.878,7 m³) de la EDAR para el desarrollo del sistema de producción .

3.2.4 Balance de Nutrientes Principales

En esta sección se analizan los balances de los elementos químicos esenciales en la nutrición de un cultivo de microalgas, teniendo en cuenta las condiciones de operación antes descritas y discutidas. Los citados elementos son C, N y P, como se detalló en el Capítulo 1.

Con base a los cálculos detallados que se exponen en el Capítulo 2, se procede a estimar de forma teórica, las concentraciones nutricionales que requiere un SM de *C. minutissima*. Para el desarrollo del presente TFM sólo se tiene en cuenta los principales nutrientes mayoritarios: carbono, nitrógeno y fósforo.

- Carbono

Para cuantificar el requerimiento de una microalga que se desarrolla dentro del SM, primero se debió asumir una tasa de pérdidas del 30% de CO₂, porcentaje que se refiere al exceso de CO₂ inyectado al SM y no utilizado por las microalgas. La cantidad de CO₂ consumida por las células de la microalga durante el crecimiento en el SM se calcula directamente a partir de la relación estequiométrica entre el gas y el carbono transferido a biomasa, a partir de la fórmula de la biomasa (Cuaresma et al., 2009):



De acuerdo con dicha expresión, la producción de 1 g de biomasa requiere el consumo e incorporación efectiva de 2,07 g de CO₂. Como asumimos una pérdida del 30% del dióxido de carbono inyectado al sistema (Barajas & Castellanos, 2017), el total de gas que es necesario inyectar para producir 1 g de biomasa es de 2,70 g. La Tabla 3.9 expone la cantidad de gramos iniciales que requiere una microalga, el porcentaje de pérdidas asumido dentro del SM y los gramos totales de CO₂ que se deben inyectar al tener en cuenta las pérdidas que se presentan dentro del sistema.

Tabla 3.9. Principales parámetros CO₂ en SM, referidos a la producción de 1g de biomasa de microalga.

Parámetros	Valor
CO ₂ requeridos por las microalgas (g) para producir 1g biomasa	2,07
Pérdidas asumidas en el sistema (%)	30
CO ₂ total requerido (g)	2,70

En el Capítulo 2 se establecen los cálculos para obtener los requerimientos nutricionales de CO₂ para la microalga *C. minutissima*, en las dos épocas del año, con el fin de conseguir una producción más eficiente, ya que cada periodo maneja condiciones específicas de crecimiento y por lo tanto la cantidad de biomasa recolectada es diferente.

Época de Calor

Para mantener una producción de biomasa de 33,75 kg d⁻¹ (Tabla 3.7), es necesario inyectar al SM diariamente 90,9 kg de CO₂, es decir, que, para obtener los objetivos de rendimiento teórico según la tasa de crecimiento de las microalgas, en necesario suministrar al SM 15.192,9 kg por semestre.

Época de Frío

Para mantener una producción de biomasa de 11,25 kg d⁻¹ por biorreactor (Figura 3.8), es necesario inyectar al SM diariamente 30,3 kg de CO₂; por tanto, para obtener los objetivos de rendimiento teórico para la época de frío, es necesario inyectar en el SM (en cada biorreactor) 5.064,3 kg del gas por semestre, y por ende, al poner en funcionamiento los dos biorreactores durante la época de frío se requiere 10.128,61 kg de CO₂.

A modo de resumen, para abastecer al SM del carbono necesario en las diferentes épocas del año, se necesita adicionar por biorreactor lo referido en la siguiente Tabla:

Tabla 3.10. Requerimientos de CO₂ para el cultivo.

Requerimiento de CO ₂	Época de calor	Época de frío
Producción de biomasa total (kg d ⁻¹)	33,75	11,25
Requerimiento CO ₂ al día (kg)	90,97	30,3
Requerimiento de CO ₂ semestral (kg)	15.192,91	5.064,3
Requerimiento de CO ₂ semestral total (kg)	15.192,91	10.128,61

De manera general, según el REDIAM se estima que el municipio de Almonte presenta una huella de carbono promedio anual de 118,8 t CO₂ eq y tiene una

capacidad de sumidero media anual de 62,121 t CO₂eq. Por lo tanto, si se pone en funcionamiento el SM es posible reducir 25,32 t de CO₂ al año – requerimiento anual de CO₂ del SM-, si bien de esa cantidad realmente un 70% (17,73 ton) sería incorporada a biomasa de microalgas. Es decir, que se podría lograr, anualmente, una reducción adicional de CO₂ ambiental en el municipio de un 15%.

- Nitrógeno

Partiendo de las aproximaciones a la concentración de nitrógeno presente en la biomasa -1,68 g Nitrógeno en cada mol de biomasa- expuestas en el capítulo anterior, se procede a exponer los requerimientos de nitrógeno dentro del SM en las diferentes épocas del año, según la producción de biomasa calculada.

En cuanto al modo de suministro de nitrógeno, se propone de dos maneras simultáneamente: la primera y más relevante es mediante la adición de fertilizantes que contengan nitrato, ya que se ha demostrado que los fertilizantes son menos costosos que los medios de cultivos convencionales (Silva, 2016). La otra forma, como se plantea en este TFM, es complementar la cantidad de nitrógeno que requiere el SM mediante uso del vertido que realiza la EDAR El Rocío. Para este último caso se asumen las siguientes condiciones iniciales del vertido, según la normatividad legal vigente española

Tabla 3.11. Características de las aguas residuales urbanas antes ser descargadas.

Requerimiento de CO ₂	Concentración del vertido
Nitrógeno Total (mg N/l)	15 mg/l
Fósforo Total (mg P/l)	2 mg/l

Fuente:(Mart et al., 2006)

Seguidamente se muestran los resultados del análisis de necesidades de N para mantener el SM al máximo rendimiento.

Época de calor

Con el fin de lograr una producción de 33,75 kg d⁻¹ de biomasa (Tabla 3.7), es necesario inyectar al SM **2,67** kg d⁻¹ de N, los cuales se introducirán mediante un fertilizante que contenga nitrato (NO₃⁻), denominado coloquialmente NPK. Por lo tanto, se necesita adicionar al medio 11,8 kg d⁻¹ de nitrato diarios, contenido en un fertilizante NPK. Es decir, se necesitan para la época de calor (167 días) 1,98 t de nitrato contenido en el fertilizante.

Ahora bien, la demanda de fertilizante disminuye en el momento en el que se abastezca el biorreactor con el efluente de la EDAR, donde se estima que el vertido presenta una concentración media aproximada de 0,015 g L⁻¹ de nitrógeno total. Con lo anterior se determina que la EDAR es capaz de compensar los requerimientos diarios de nitrógeno en el SM en un 6,32%, es decir que por cada litro de agua que ingresa a la planta, el efluente contiene 0,07 g Nitrato. Finalmente, se concluye que el

efluente provee diariamente 0,74 kg N, es decir, que durante toda la campaña de la época de calor es posible eliminar 124,8 kg del N contenido en el agua de la EDAR.

Época de Frio

Con el fin de lograr una producción de 11,25 kg d⁻¹ de biomasa por reactor (Tabla 3.8) es necesario inyectar al SM 0,89-kg d⁻¹ de N, los cuales se introducirán mediante el referido fertilizante NPK. Por lo tanto, se necesita adicionar al medio de cada biorreactor 5,9 kg d⁻¹ de nitrato diarios, contenido en un fertilizante NPK. Es decir, se un biorreactor necesitan para la época de frío (167 días) 0,66 t de nitrato contenidas en un fertilizante; en total, para el funcionamiento de los dos fotobiorreactores en dicha época se necesitarían 1,32 t de nitrato contenidas en un fertilizante NPK.

De nuevo, en el momento en el que se abastezca el biorreactor con el efluente de la EDAR se reducirá la demanda de fertilizante. Como se ha estimado una concentración media aproximada de 0,015 g L⁻¹ de nitrógeno total en el efluente de la EDAR, éste es capaz de compensar los requerimientos diarios de nitrógeno en el SM en un 9,47%. Finalmente, se concluye que el efluente provee diariamente a cada biorreactor con 0,37 kg N, luego durante toda la campaña de la época de frío es posible eliminar 124,8 kg N de efluente de la EDAR si se mantienen los dos biorreactores funcionando.

Se resumen, a continuación, los principales datos relativos a los requerimientos y uso de N en el SM.

Tabla 3.12. Requerimientos de N para el cultivo.

Requerimiento de N ⁻	Época de calor	Época de frío
Requerimiento N ⁻ al día (kg)	2,67	0,89
Requerimiento de NO ₃ ⁻ al día (kg)	11,83	3,94
Requerimiento de NO ₃ ⁻ por biorreactor semestral (kg)	1.976,14	658,71
Requerimiento de NO ₃ ⁻ total semestral (ton)	1,98	1,32
Concentración del NO ₃ ⁻ (g·L ⁻¹)	1,05	0,70
Aporte de N proveniente de la EDAR		
Aporte de N diario de la EDAR (kg)- por biorreactor	0,74	0,37
Aporte de N semestral (kg)- por biorreactor	124,8	62,4
Aporte total de N semestral (kg)	124,8	124,8
Concentración de N aportado de la EDAR (%)	6,32	9,47

- Fósforo

Con base a la información recolectada de la concentración de fósforo presente en la biomasa -0,01 g fósforo por gramo de microalgas secas- expuesto en el Capítulo 2, se procede a mencionar los requerimientos de fósforo dentro del SM en las diferentes épocas del año, según la producción de biomasa.

En cuanto al modo de suministro de fósforo, se proponen los mismos dos procedimientos que para el nitrógeno: la primera y más relevante, la adición de fertilizantes que contengan anhídrido fosfórico (P_2O_5) -los referidos NPK-, y la segunda, mediante el vertido que realiza la EDAR El Rocío. Para este último caso se asumen las siguientes condiciones iniciales del vertido, según la normatividad legal vigente española expuestas en la Tabla 3.11:

Época de Calor

Con el fin de lograr una producción de 33,75 kg d⁻¹ de biomasa (Tabla 3.7), es necesario inyectar al SM 0,34 kg d⁻¹ de P, los cuales se introducirán mediante un fertilizante que contenga anhídrido fosfórico (P_2O_5), siendo necesario adicionar para ello al medio 0,77 kg d⁻¹ P_2O_5 . Por ello, para la época de calor se necesita 0,13 t de P_2O_5 que estén contenidos en el fertilizante.

De nuevo, el efluente de la EDAR, con una concentración media aproximada de 0,002 g L⁻¹ de fósforo total, reducirá la demanda de P_2O_5 . Con lo anterior se determina que la EDAR es capaz de compensar los requerimientos diarios de fósforo en el SM en un 6,67%. Se concluye que el efluente provee diariamente 22,5 g P, para un total de 3,75 kg P durante, los 167 días de la denominada época de calor.

Época de Frio

Con el fin de lograr una producción de 11,25 kg d⁻¹ de biomasa (Tabla 3.8), es necesario inyectar al SM 0,11 kg d⁻¹ de P los cuales se introducirán mediante un fertilizante que contenga anhídrido fosfórico (P_2O_5), siendo necesario adicionar para ello al medio 0,26 kg d⁻¹ de P_2O_5 diarios. Por ello, un biorreactor para para la época de frio se necesita 0,04 t de P_2O_5 que estén contenidos en el fertilizante, es decir que para lograr el funcionamiento de los dos se requieren 0,04 t de P_2O_5 durante toda la época de calor.

Considerando que el agua de la EDAR contenga aproximadamente los citados 0,002 g L⁻¹ de fósforo total, el efluente de la EDAR sería capaz de compensar los requerimientos diarios de fósforo en el SM en un 10,0%. Se concluye que el efluente provee diariamente al SM con 11,25 kg P, lo que durante toda la campaña de la época de frio supondría un total de 1,8 kg P en cada biorreactor y un total 3,75 kg P para los dos.

Se resumen, a continuación, los principales datos relativos a los requerimientos y uso de P en el SM

Tabla 3.13. Requerimientos de P para el cultivo por biorreactor.

Requerimiento de P₂O₅	Época de calor	Época de frío
Requerimiento P ⁻ al día (kg)	0,37	0,11
Requerimiento de P ₂ O ₅ al día (kg)	0,77	0,26
Requerimiento de P ₂ O ₅ semestral por biorreactor (kg)	129,09	43,03
Requerimiento de P ₂ O ₅ semestral total (ton)	0,13	0,09
Aporte de P proveniente de la EDAR		
Aporte de P diario de la EDAR (g)- por biorreactor	22,50	11,25
Aporte de P semestral (kg)- por biorreactor	3,76	1,88
Aporte total de P semestral (kg)	3,76	3,76
Concentración diaria total de P (%)	6,67	10

Se concluye que al introducir en el SM el efluente proveniente de la EDAR El Rocío, se pueden obtener los siguientes beneficios económicos y medioambientales: reducción en los gastos en cuanto a la compra de materia prima (fertilizante que contengan NPK) en el SM y mejora en la calidad de las aguas receptoras, ya que se está disminuyendo la concentración de la carga contaminante al realizar un aprovechamiento del vertimiento que se recolecta para posteriormente introducirlo al sistema de cultivo de microalgas. Además, el agua con nutrientes resultante de la producción de microalgas podría destinarse a fertilización de producciones intensivas de “berries”, propias de la zona. Para esto se requerirían ensayos experimentales que demostrasen la eficacia del agua en la fertilización.

Tabla 3.14. Condiciones de Producción por época.

Parámetro	Época de Calor	Época de Frío
Numero de biorreactores	1	2
Tasa de diseño de crecimiento (d ⁻¹)	0,3	0,15
Dilución (d ⁻¹)	0,30	0,15
Densidad celular (g·L ⁻¹)	3,00	2,00
Flujo por biorreactor (L·d ⁻¹)	11.250	5.625
Renovación (% v/v)	30	15
Flujo total (L·d ⁻¹)	11.250	11.250
Biomasa cosechada por biorreactor (Kg d ⁻¹)	33,75	11,25
Biomasa constante por biorreactor (Kg)	112,5	75,0

Parámetro	Época de Calor	Época de Frio
Biomasa producida por biorreactor (kg)	5.636,25	1.878,75
Biomasa total producida (Ton)	5,64	3,76

3.2.5 Extracción

Según lo planteado en el Capítulo 2 de Materiales y Métodos, el proceso de extracción que se desarrollará se combina simultáneamente con el de transesterificación, que se efectúa según lo descrito en dicho capítulo. Se exponen, a continuación, los resultados obtenidos para la obtención de lípidos transesterificables en las épocas de calor y de frío.

Época de calor

Se estima que, durante el periodo de funcionamiento de la época de calor del SM, se producen 5,64 toneladas de biomasa, de las cuales sólo el 35% en promedio son lípidos, es decir 1,97 toneladas.

Además, aproximadamente 50% del total de lípidos corresponde al peso total de triglicéridos (Yang et al., 2020), producidos durante la época de calor (0,99 t). Por lo tanto, se puede concluir que de todo el proceso de producción del cultivo de microalgas planteado durante el presente TFM, sería razonable obtener 1 tonelada de biocombustible cada año.

Ahora bien, para procesar y extraer el biodiesel, se requieren 0,69 toneladas de metanol, y como resultado de la reacción se obtienen 0,34 toneladas de glicerol - durante toda la época de calor -. Cabe resaltar que el glicerol, es considerado materia prima para la fabricación de cosméticos, fármacos y lubricantes, entre otros productos; por lo tanto, se concluye que la aplicación de este método de extracción conlleva una reducción de residuos, ya que estos pueden ser implementados en otros procesos productivos.

Época de frío

Teniendo en cuenta la metodología implementada para la extracción del biocombustible de la biomasa producida en la de época de frío (3,76 toneladas), se procede a exponer las cantidades de peso que se obtienen durante en este proceso, entendiendo que el SM implementado en la época de frío presenta dos (2) biorreactores, y que los valores calculados hacen referencia al funcionamiento total del SM.

Para la época de frío se obtienen 1,32 toneladas de lípidos, los cuales aproximadamente corresponden a un 35% de la biomasa producida en dicha época anual. Una revisión de la literatura determina que, por lo general aunque dependiendo de especies y condiciones de incubación, un 50% de lípidos son triglicéridos (Yang et al., 2020), es decir, que el SM produce 0,66 toneladas de triglicéridos. Por último, se determina que la cantidad de biocombustible que se puede lograr fabricar en esta

época es de 0,67 toneladas de biocombustible, es decir que en todo el año se produce 1,67 Ton de biodiesel.

Finalmente, para alcanzar la máxima extracción de los esteres metílicos fabricados por las microalgas en la época de frío, se requieren 0,46 toneladas de metanol en el semestre. Además, esta reacción química, aparte de generar biocombustible (esteres metílicos), también da lugar a un total de 0,22 toneladas de glicerol.

La siguiente Tabla resume los valores más importantes obtenidos durante la fase de extracción en un año.

Tabla 3.15. Resumen de extracción y producción de biodiesel

Parámetros	Valor
Peso de lípidos (Ton)	3,29
Peso de triglicéridos (Ton)	1,64
Peso de biocombustible (Ton)	1,67
Tasa de producción de biocombustible (Ton m ³)	0,04
Consumo de metanol (Ton)	1,16
Glicerol producido (Ton)	0,56
Aporte de la EDAR para producción de biodiesel (g L ⁻¹)	1,24

De manera general se ha definido que las condiciones de secado para extraer la mayor cantidad de lípidos y evitar ruptura celular o degradación del producto biotecnológico de la microalga *Chlorella* sp., es mantener una temperatura no superior a 60°C, con la relación masa/aire de 1.01 (Gaibor, 2014). En cuanto a las condiciones de la biomasa, se recomienda una concentración del 30% de sólidos en su peso seco (Palacios et al., 2013), donde la cantidad de grasa en el sólido seco es de 2.07% . para el desarrollo del secado de la biomasa se recomienda.

4 DISCUSIÓN

4.1 SELECCIÓN DE LA EDAR MÁS ADECUADA

4.1.1 Proximidad a Espacios Naturales

Como se indicó al inicio del Capítulo 3 de Resultados, la elección de la EDAR para el caso práctico de este TFM se realizó en función de su proximidad a espacios naturales de especial valor y que, por ello, su vertido de aguas depuradas tenga potencial para afectar equilibrio de especies que habitan en él. Las aguas depuradas de EDAR que no han sido sometidas a tratamiento terciario pueden contener, aún, niveles de nitrógeno y fósforo inorgánicos en niveles permitidos por la legislación y así sucede con la EDAR de El Rocío y las EDAR que se encuentran próximas al municipio de Aracena (niveles de $15 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de N y $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de P). El vertido de agua con compuestos que contienen estos elementos es una aportación de nutrientes a la flora de microorganismos del espacio natural al que se vierte, en este caso el espacio natural Sierra de Hinojales y Sierra del Castaño y el entorno del Parque Nacional de Doñana, el espacio natural más excepcional de la provincia de Huelva. Los niveles mencionados de estos nutrientes favorecen la producción de microorganismos fotosintéticos, microalgas y cianobacterias; las constantes de semisaturación de los sistemas de incorporación de N y P para la mayoría de las microalgas son muy inferiores a los citados valores del orden de unidades de concentración micromolar (Richmond, 2003), lo que supone que en aguas remansadas (como pueden ser las de lagunas o embalses) crezcan rápidamente, sobre todo en la superficie del agua, para disponer de luz, y pueden agotar el oxígeno por debajo de esta. El agotamiento de oxígeno favorece la actividad anaeróbica, produce desequilibrio de especies de microorganismos del ecosistema y también altera por eso la cadena trófica.

En la elección final de la EDAR de El Rocío influyó, entre otros datos analizados, tanto su ubicación junto al espacio natural de mayor valor de la provincia como también el hecho de que el agua vierte a una amplia zona de marisma situada frente a la aldea de El Rocío, con aguas remansadas y que, potencialmente, podrían resultar afectadas por los desequilibrios mencionados. Finalmente, y como se discute más adelante, este TFM demuestra que la misma capacidad de las microalgas para usar rápidamente los citados niveles de N y P se puede transformar en ventaja, utilizándolas de forma controlada en un sistema de cultivo asociado a la EDAR para conseguir dos objetivos: eliminar N y P, y obtener un producto reutilizable.

4.1.2 Rango de Temperaturas Adecuado al Cultivo de Microalgas.

La temperatura es otro parámetro de gran relevancia en el análisis para la selección de la EDAR a la que se asociaría el SM. De los resultados obtenidos en la sección 3.1.2. que analiza la variación de temperatura ambiental y del agua en los municipios de Aracena (norte de la provincia de Huelva) y Almonte (sur, cercanía a la costa atlántica) a lo largo del año, la diferencia en amplitud térmica media entre Aracena y Almonte (Figura 3.3 y Figura 3.4) debería tener un impacto medible en las tasas de crecimiento y, por ende, en la productividad de los cultivos de microalgas. Así, una mayor amplitud térmica diaria en el ambiente afectaría a la amplitud térmica del agua del SM, teniendo en cuenta la poca profundidad de la columna de agua (0,15 m) y el mantenimiento de la agitación en el medio. La magnitud de esa influencia, no

se puede valorar con precisión pues dependería de la inercia térmica de los cultivos - capacidad de rápida adaptación de la microalga a los cambios rápidos de temperatura- y supondría pérdidas de rendimiento en la eliminación de contaminantes y en la cantidad de biomasa producida cada año por el SM.

Esta debilidad del SM podría corregirse mediante el calentamiento del medio de cultivo durante las horas de temperaturas más bajas; esto supondría un gasto energético que no se justificaría con el valor económico de la biomasa producida. Conforme a la legislación existente en Materia de uso de biomasa de microalgas (Enzing et al., 2014), la biomasa no se podría destinar a consumo humano ni a la obtención de productos de alto valor para la salud humana (cosmética, farmacia), quedando como posibles usos más realistas la obtención de energía (biocombustibles) y la biofertilización. Por ello, se optó por proponer el uso de invernadero para resguardar los SM de las variaciones de temperatura, particularmente durante las noches en la época de frío.

4.1.3 Horas Reales de Insolación.

En la sección 3.1.3 del Capítulo 3, de Resultados, se determinó que la diferencia en energía solar total incidente entre los municipios de Aracena y Almonte a lo largo del año es de 24,54 KWh/m², calculada a partir de la radiación directa mensual acumulada (Tabla 7.227, del anexo). Dicho cálculo incluye la diferencia en horas reales de insolación entre ambas localizaciones, debida a tiempo nublado. Se afirmó que dicha diferencia en energía solar incidente podría tener un impacto significativo en la actividad de los cultivos de microalgas (por tanto, en la productividad de la biomasa). Para comprender esta afirmación es necesario explicar que la eficiencia máxima promedio de la fotosíntesis es, aproximadamente, de un 6% (Cuaresma et al., 2009) respecto al total de radiación PAR absorbida por los pigmentos fotosintéticos que realizan el papel de antena para la captura de la radiación solar.

La energía emitida por el sol es de radiación de onda corta (IDEAM, 2014), y corresponde en esencia a las bandas de ultravioleta, visible e infrarrojo cercano. Las longitudes de onda se sitúan entre 0,2 y 3,0 micrómetros (200 nm a 3.000 nm). Prácticamente toda la radiación que llega a la Tierra desde el sol (alrededor del 99%) se encuentra en la región del espectro de la luz comprendida entre 0,2 y 3,0 μm , encontrándose la de onda larga en la región entre 3,5 y 50 μm Figura 4.1. La radiación de onda corta contiene la región del espectro utilizada en la fotosíntesis (región visible, entre 400 y 700 nm), a la cual corresponde una fracción del 47,2% del total de la energía que incide en las capas superiores de la atmósfera. Esta fracción varía ligeramente dependiendo de las condiciones meteorológicas (lluvia, tiempo parcial o totalmente nublado) y de la altitud (Jacovides et al., 2003).

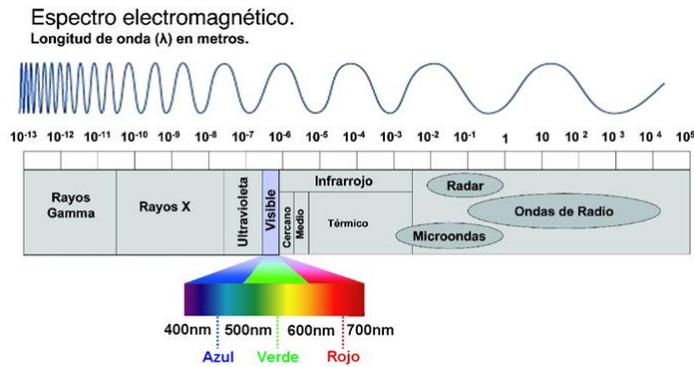


Figura 4.1 Espectro electromagnético de la radiación solar.
Fuente:(IDEAM, 2014)

Calcular la fracción de energía de PAR absorbida por los pigmentos fotosintéticos es realmente complejo y depende de algunas variables como la concentración de pigmentos fotosintéticos, la abundancia de los distintos pigmentos, el porcentaje de aquellos que realmente no transfieren energía a los centros de reacción y las condiciones meteorológicas, entre otros factores. Por ello, los datos de la bibliografía indican que la fracción de PAR absorbida por los pigmentos fotosintéticos varía entre un 4% y un 70% de PAR (Tilzer 1983)., si bien se ha calculado que la eficiencia de la fotosíntesis en microalgas (energía finalmente almacenada como biomasa) no supera el 5,5% respecto al total de la energía solar incidente. Asumiendo entonces un 47% de PAR en la radiación incidente y una eficiencia aproximada del 5,5% en el uso fotoquímico de la energía solar incidente (Hall & Rao, 1999), podría calcularse, de forma aproximada, cuanta energía solar incidente útil para fotosíntesis se perdería para el crecimiento de la microalga en un SM ubicado en Aracena, en comparación con el mismo sistema ubicado en Almonte:

$$\text{PEF (anual)} = \text{DEI}_{\text{Almonte}} \cdot \text{EF} = 16,29 \text{ kWh} \cdot \text{m}^{-2}$$

Donde PEF es “Pérdida de Energía para la Fotosíntesis”; $\text{DEI}_{\text{Almonte}-\text{Aracena}}$ es la Diferencia anual en Energía solar Incidente entre ambas localidades; EF es la eficiencia de la fotosíntesis; y $\text{EI}_{\text{Almonte}}$ es la Energía solar Incidente anual en el término de Almonte.

El valor obtenido sería la energía potencialmente perdida para la fotosíntesis, anualmente, en Aracena por la menor incidencia de radiación solar.

En función de esta discusión, puede concluirse que la pérdida de productividad de un sistema de producción de microalgas, en la Sierra de Aracena y Picos de Aroche, atendiendo sólo a la menor cantidad de energía solar no utilizada anualmente para fotosíntesis debido a la latitud, sería apreciable de acuerdo con los datos obtenidos.

La nubosidad afecta a la radiación solar incidente sobre la superficie de la Tierra. La atenuación de la radiación solar debido a la nubosidad tendrá un efecto directo sobre la energía total de la radiación solar que incide sobre los cultivos de microalgas. En este trabajo se ha calculado una diferencia en horas de insolación por año de 176,4 horas, (7,3 días) entre los municipios de Aracena y Almonte, en favor de este último término municipal. Según los trabajos clásicos de Harwitz (1945), la

nubosidad produce una atenuación variable entre el 5% y el 20% de la radiación solar, aunque esta limitación puede alcanzar el 80% con nubosidad muy densa. Resulta complejo por ello calcular, aunque sea de forma aproximada, el impacto de los días nublados sobre la energía total de la radiación solar incidente. En este TFM solamente incluimos los datos anteriores para demostrar que, en consecuencia, la radiación PAR total anual incidente sobre un SM en el municipio de Aracena es inferior, en un porcentaje significativo respecto al total, a la incidente en la localización de la EDAR de El Rocío. En el menos negativo de los escenarios (5% de atenuación por nubosidad y 100% de transmitancia para la luz PAR a través de las nubes), un SM ubicado en Aracena recibiría, en promedio anual, 294,49 kw·h m⁻² de PAR (Tabla 3.2), menos que uno ubicado en El Rocío, lo que significa un 39% menos de energía disponible para la fotosíntesis.

4.2 IMPLEMENTACIÓN DE UN SM

4.2.1 Sistema de Producción

- Elección sistema cultivo

Se seleccionó un sistema de producción del tipo tanque abierto agitado. Al ser una estructura sencilla y de fácil funcionamiento a la hora de operarlo, no requiere de grandes inversiones durante la fase de construcción y funcionamiento, como se explicó en la Introducción. Por otra parte, si bien la contaminación pudiera estar favorecida en un sistema abierto limitando aplicaciones de alto valor comercial, en la propuesta de este TFM el SM se utilizará para aprovechar aguas depuradas, por lo que las aplicaciones del producto obtenido estarían limitadas, en principio, a ámbitos más económicos, como la obtención de biocombustibles o la biofertilización. Estas aplicaciones son coherentes con lo publicado en la literatura científica de este ámbito para biomasa de microalgas producida con aguas residuales depuradas (Castro et al., 2016).

De acuerdo con los datos publicados por Norsker et al. (2011), los costes de instalación y producción de un SM tipo tanque abierto agitado son superiores a los de un fotobiorreactor tubular; en concreto, para una instalación de 1 ha, el modelo publicado estima un coste de 1,7 eur por kg de biomasa seca producido en tanque abierto agitado frente a 1 eur en fotobiorreactor tubular. Los costes de trabajo necesarios para la operación del SM suponen el 90% de esta diferencia, por lo que - como refiere el mismo autor- el factor de escala tiene una importancia fundamental en el abaratamiento de costes. En este sentido, como el SM se integraría en la EDAR, entendemos que sería posible optimizar las tareas de operación y mantenimiento de toda la instalación de modo que los costes derivados de la operación y mantenimiento del SM se redujesen en parte.

- Termostatación

Un invernadero permite incrementar las temperaturas mínimas y regular las pérdidas por evapotranspiración, así como reducir la probabilidad de contaminación que puede afectar la productividad e, incluso, la viabilidad de los cultivos. En una situación ideal, se podrían implementar equipos que permitan monitorizar y controlar las condiciones ambientales y del medio de cultivo (temperatura, irradiancia

controlada por mallas, filtración del aire, humedad del aire) generando un microclima ideal constante para el desarrollo de las microalgas (Mendoza et al., 2011). Sin embargo, ello sólo sería rentable para un producto de muy alto valor comercial, como antioxidantes o ácidos grasos poliinsaturados de uso en alimentación y cosmética, y este no sería el caso.

Considerando, como se ha explicado en este TFM, el alto impacto de las temperaturas bajas sobre la tasa de crecimiento de las microalgas, se propone utilizar invernaderos que se denominarán “templados”, que pueden mantener temperaturas mínimas de unos 13°C. Este tipo de invernaderos son estancos, con cubierta de plástico térmico que mantiene propiedades físicas estables durante varios años. El empleo de doble techo forma una cámara de aire capaz de amortiguar la bajada de temperatura nocturna en invierno.

En todo caso, el uso de paneles fotovoltaicos para acumular energía durante las horas de luz justificaría la calefacción del invernadero en noches muy frías si fuese necesario, mediante agua caliente o aire caliente. También del mismo modo podría calentarse, en los días más fríos del año, el agua con nutrientes que diariamente se inyectaría al SM para su dilución. La elección de la EDAR de El Rocío, con temperaturas medias más altas y menor amplitud térmica promedio que en Aracena, en la Sierra de Huelva, disminuiría los costes de calefacción, en el caso de que esta hubiese de ser aplicada.

- Iluminación artificial

Se ha propuesto utilizar LED acoplados al fondo del tanque abierto agitado, para facilitar iluminación nocturna del SM, por tanto, 24h/día. El impacto negativo de la oscuridad en la productividad de un SM es muy notable y puede variar dependiendo de numerosos factores, que van desde la propia especie de microalga hasta las condiciones de producción durante las horas de iluminación. Distintos autores han calculado que las pérdidas de productividad en oscuridad, debidas a la actividad respiratoria, pueden variar entre un 25% y un 45% de biomasa que se deja de producir (Kazbar et al., 2020). Sin abundar en razones fisiológicas, la oscuridad cumple una función relevante en la contención del estado oxidativo de la microalga y en la regulación del metabolismo primario (Edmundson & Huesemann, 2015). No obstante, el uso de LEDS, que permite regulación de la intensidad de luz, y la homogeneización del cultivo deben ser suficientes para asegurar que el cultivo mantenga una productividad estable durante 24h/día mediante la optimización de la intensidad de luz de LED aplicada durante las horas de oscuridad natural.

La eficiencia de la utilización de luz por las microalgas depende de la densidad celular que se maneja dentro del reactor; si es elevada, limita la penetración de los fotones en el SM debido al apantallamiento de las células que están más cercanas a la superficie en un instante determinado. Por ende, los fotones pueden alcanzar una mayor trayectoria dentro de la estructura si se maneja una densidad celular baja, es por esto que se plantea una concentración celular moderada para la época de calor y frío ($3 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ y $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ respectivamente). Ha de tenerse en cuenta que el SM tipo tanque abierto agitado, presenta valores de eficiencia fotosintética y productividad que son, aproximadamente, un 50% inferiores a las de fotobiorreactores tubulares (Norsker et al., 2011), por lo que el uso de LED en el SM de la EDAR de El Rocío durante la noche

estaría justificado para minimizar dichas pérdidas de productividad. El coste se reduciría por el valor de los productos que se obtengan (biodiésel y, por ejemplo, biomasa para fertilización).

- Material

En cuanto a las propiedades inherentes al material, la fibra de vidrio es considerado como un buen aislante térmico, posee una resistencia mecánica mayor que el acero y, además, se trata de un material reciclable (FIVIDRIO, 2020), lo que minimizaría las pérdidas de calor gracias a la baja conductividad, favoreciendo a la inercia térmica del cultivo cuando desciende la temperatura en la noche, beneficiando la productividad.

Por tanto, las actividades de mantenimiento y cambio por desgaste o fisura son mínimas, evitando además la generación de residuos derivada de un eventual reemplazamiento de elementos del sistema. Con respecto a la disposición final, la fibra de vidrio se puede reciclar siempre y cuando se realice un proceso de separación de la resina con condiciones de temperaturas y presiones bajas, actividades que no requieren de un gasto energético alto y con un bajo impacto ambiental (FIVIDRIO, 2020),

- Profundidad de la columna de agua

Se ha determinado una profundidad de 15 cm en la columna de agua como adecuada para la producción de microalgas en el SM. Una profundidad mayor del sistema de cultivo permitiría reducir la superficie del sistema de producción al aumentar su volumen. Por ejemplo, si se mantiene el mismo volumen del biorreactor (37,5 m³) pero aumentando la columna de agua hasta los 25 cm podría reducir las dimensiones del reactor hasta los 38,7 m de longitud y 3,87 m de anchura. Sin embargo, se ha tomado la decisión de no proponer una columna de agua de mayor longitud porque la pérdida de productividad, conforme a la Figura 7.4 del Anexo, alcanzaría valores muy superiores; como ejemplo, nuestros cálculos -a partir de los datos de la Figura 7.4 del Anexo- indican que un incremento en la longitud de la columna de agua de 10 cm, hasta los 25 cm (es decir, un sistema con un 66% más de profundidad) implicaría, potencialmente, una pérdida media de productividad del 19% (en base a disminución de tasa crecimiento) respecto a la obtenida en el caso propuesto, lo que significaría un descenso en la contribución de agua de la EDAR de, igualmente, un 19% del volumen total aportado en el año. Solamente en latitudes muy cálidas, donde la pérdida de agua por evaporación es muy elevada, sería aconsejable asumir columnas de agua de mayor longitud (Moreno, 2008) para evitar gasto de agua sólo para dilución.

4.2.2 Elección de Microalga

Para la operación del SM se propone una microalga del género *Chlorella*. En este TFM se enfatiza, en la relevancia del género, ya que la producción en un tanque abierto y con un control limitado de las condiciones de producción (especialmente luz, temperatura y contaminación biológica) requiere de especies pertenecientes a un género genéticamente robusto, resistente a la competencia de microorganismos oportunistas y, en lo posible, también a cambios bruscos en factores clave para el

crecimiento, como la temperatura. En este sentido, *Chlorella* destaca sobre otros géneros de microalgas, presentando crecimiento en un amplio rango de temperaturas hasta por encima de 40°C (Castillo et al., 2017; Qiu et al., 2017). De esta forma se minimiza el riesgo de que el cultivo sea colonizado y reemplazado por otra especie oportunista.

El género *Chlorella* destaca, en general (con variaciones, dependiendo de especies), por presentar alta afinidad por compuestos inorgánicos de N y también por fosfato (Castro et al., 2016; Romero-Morales et al., 2018), ambos son objeto de eliminación del efluente de la EDAR. Además, las especies del género *Chlorella* son reconocidas como tolerantes a puntas de alta irradiancia incidente sobre los cultivos (Cuaresma et al., 2009), condición adecuada para su producción en el sur de España, en Huelva. El género *Chlorella* presenta altas tasas de crecimiento en comparación con otras especies de microalgas producidas masivamente (Ivina & Romagnoli, 2020), lo que permite, al menos, aproximar el SM a las productividades máximas que se puedan alcanzar bajo las condiciones de operación existentes.

Chlorella es unicelular y raramente crece en agregados, lo que favorece mantener los cultivos en suspensión sin tener que emplear sobrecostos de energía en agitación, necesarios para evitar la sedimentación en cultivos de otras microalgas que sí crecen en agregados (Abalde et al., 1995).

Finalmente, bajo ciertas condiciones de cultivo *Chlorella* podría aumentar el contenido en lípidos, particularmente en ácidos grasos, útiles para la obtención de biodiésel. Si bien el SM se ha diseñado y dimensionado para crecer y producir biomasa, el contenido de la biomasa en ácidos grasos que se ha considerado realista en esas condiciones, a partir del análisis bibliográfico, es de aproximadamente un 17% (Li et al., 2011). No obstante, numerosos trabajos publicados en la última década muestran condiciones de cultivo bajo las cuales el contenido en ácidos grasos podría duplicarse respecto a ese valor, en particular, la incubación de las microalgas bajo limitación o carencia de nitrógeno inorgánico en cultivos iluminados (Varela et al. 2017). En el marco de la propuesta de TFM, el aumento de ácidos grasos en la microalga elegida podría conseguirse trasvasando el cultivo, retirado diariamente del SM, a un tanque auxiliar en el que se mantenga en agitación, sin adición de nutrientes, durante dos o tres días. De esta forma se podría asegurar la permanencia del cultivo durante un tiempo en un medio que agota el nitrógeno inorgánico, incrementando el contenido intracelular de ácidos grasos. Así, concluimos que existiría margen – alrededor del doble de lo calculado en este TFM- para mejorar el rendimiento de biodiésel obtenido de la transesterificación de los ácidos grasos acumulados por la microalga.

- Balance de nutrientes principales

Las microalgas tienen la capacidad metabólica de consumir carbono inorgánico (dióxido de carbono), nitrógeno inorgánico (nitrato, nitrito, amonio) y fósforo inorgánico (fosfato) en altas tasas en comparación con otros organismos fotosintéticos como las plantas. De hecho, las productividades de cultivos masivos de microalgas pueden llegar, en una latitud como la del sur de España, a un promedio de entre 20 y 30 toneladas por hectárea y por año, frente a las 2-3 toneladas de numerosos cultivos vegetales agrícolas (Chisti, 2007; Mazzuca et al., 2016).

Se puede considerar que el SM actúa como un pequeño sumidero de dióxido de carbono, ya que en el año se necesitan 25,5 ton de CO₂ para mantener la producción en los SM, lo cual contribuye con dicho consumo a la reducción de la huella de carbono. Por lo tanto, otro enfoque con el cual se podría promover el desarrollo del proyecto, es el establecimiento de alianzas estratégicas con sectores industriales considerados proveedores de CO₂ ; según el registro estatal de emisiones estratégicas y fuentes contaminantes de España -PRTR-, estima que la Provincia de Huelva presenta un total de 93 industrias -posibles proveedores de CO₂- que se sectorizan en 39 actividades económicas potenciales de generación de emisiones - como lo son la fabricación de productos químicos, extracción de recursos naturales y agroindustria, entre otros- (PRTR España, 2021). La calidad del CO₂ producido por estas industrias es adecuada para ser suministrado a un cultivo de microalgas; bastaría un proceso de filtración del gas y una unidad de compresión para tener sustrato de carbono inorgánico adecuado para su inyección al SM (Salgueiro, 2018; Singh & Ahluwalia, 2013).

Las microalgas han sido consideradas como potenciales sumideros de CO₂ y capaces de contribuir a la disminución del aumento de dicho gas en la atmósfera si se cultivan masivamente (Chisti, 2007; Singh & Ahluwalia, 2013). Sin embargo y en base a los cálculos que muestran la tasa de dióxido de carbono consumida por tonelada de microalgas producida (aproximadamente 2 toneladas, referidas a peso seco), no puede sostenerse categóricamente dicha afirmación a nivel global; utilizar la producción de microalgas exclusivamente con el fin principal de disminuir CO₂ no es realista, es costoso y requeriría un uso inasumible de suelo para los cultivos, probablemente compitiendo directamente con el uso agrícola del mismo. Basta un ejemplo para entender las proporciones de dicha actividad: utilizando la tasa de consumo del gas antes mencionada, para abatir por completo la producción de CO₂ de una sola planta industrial de tamaño medio que puede generar al año entre 300.000 y 500.000 ton del gas -aproximación basada en datos reales-, se necesitarían, aproximadamente, entre 3.000 y 5.000 hectáreas de cultivos de microalgas. Dicha extensión de terreno equivale, por ejemplo, a una décima parte de la superficie del Parque Nacional de Doñana. Otro ejemplo ilustrativo sería el de la superficie necesaria para producir toda la biomasa de microalgas requerida para generar el mismo volumen de biodiésel que se consume cada año, en la actualidad, en los países de la Unión Europea; dicha superficie sería equivalente a la de Portugal. Por lo tanto, desde la perspectiva ambiental la producción de microalgas presenta la ventaja de ayudar a abatir una parte menor del volumen de dióxido de carbono emitido globalmente a la atmósfera, pero no puede concebirse como una solución al problema. Sin embargo, como se ha demostrado, sí puede ejercer un efecto significativo en entornos locales, particularmente en el ámbito rural, contribuyendo a la sostenibilidad de su actividad.

El consumo de N y P llevado a cabo por la microalga en el SM no es la solución para retirar todo el N y P remanente en efluentes depurados de una EDAR. Los cálculos realizados en este TFM han permitido evaluar que el SM propuesto eliminaría el N y P contenidos en un 2% del efluente depurado generado anualmente por la EDAR de El Rocío. En este sentido, el potencial de la tecnología ambiental de las microalgas como depuradoras de N y P debe contemplarse en términos relativos. Este TFM muestra que una instalación de 3 unidades de tanque abierto agitado podría servir para eliminar el N y P de dicho 2% de efluente de la EDAR. De manera proporcional, se calcula que una instalación con 15 unidades de tanques abierto-

agitados, que ocuparía, aproximadamente, un 75% de una hectárea, serviría para depurar el N y P del 10% del efluente anual de la EDAR.

Como ya se ha comentado con anterioridad, en relación con la errónea consideración que se ha dado en la bibliografía especializada a la producción de microalgas como posible solución al incremento de CO₂ en la atmósfera, no parece sostenible -por variados argumentos- tener que ocupar una extensión de más de 0,750 hectáreas (cálculos propios, relativos a los datos anteriores) para depurar el N y P remanentes de una EDAR que gestiona una pequeña población. Sugerimos en este TFM, por tanto, que la tecnología de producción de microalgas supone una herramienta útil para apoyar la transferencia de contaminantes desde agua a biomasa, en localizaciones que así puedan requerirlo por una casuística particular como la proximidad a un espacio de valor ecológico. La tecnología aporta sostenibilidad al proceso completo, y la comercialización de productos de la biomasa, como biodiésel o biofertilizante, o su empleo en digestores anaeróbicos para recuperar carbono en forma de metano (combustible), permitirían, en el futuro, compensar parcialmente los costes de operación del SM.

4.3 EXTRACCIÓN

A pesar de que existen diferentes métodos que no requieren consumo de energía para realizar el proceso de extracción (hidrolisis enzimática y adición de productos químicos), no obstante, para ejecutar estos métodos se debe realizar previamente la deshidratación y el secado de la biomasa algal. En cambio el método de Transesterificación presenta una ventaja con respecto a los otros métodos de extracción, ya que la biomasa se puede recolectar de forma directa eliminando la fase del secado (Toro & Navia, 2013).

Otro punto a favor para seleccionar el método de Transesterificación, es el tiempo de ejecución ya que solo se requiere 90 min, manteniendo a una temperatura de 60°C (Toro & Navia, 2013), condiciones que no requieren de altos consumos energéticos, (comparado con otros procesos). Como resultado se obtiene una mezcla heterogénea de dos fases (ésteres metílicos de ácidos grasos -biodiesel- y glicerol), (Chisti, 2007).

Se estima una producción de 6,11 toneladas de residuos de biomasa resultantes de la Transesterificación durante un periodo de operación de 334 días. Este subproducto es rico en nitrógeno orgánico, donde más del 50% de la biomasa puede ser proteína, de ahí que un uso potencial de la biomasa seca sería la comercialización como biofertilizante. Otro uso es el biogás, bioetanol, pellets (Salgueiro, 2018).

En la Tabla 4.1 se expone los cálculos más relevantes obtenidos durante las dos épocas del año -cada con 167 días de operación- y de forma total -334 días de operación-.

Tabla 4.1. Resumen de datos principales en la estimación de producción de biomasa y subproductos del SM vinculado a la EDAR.

Parámetros	E. Calor	E. Frio	Anual
Biomasa producida por metro cúbico de agua de EDAR (Ton m ⁻³)	52,61	17,535	70,14
Cantidad total de biomasa producida anualmente (Ton)	5,64	3,76	9,39
Volumen total aportada por la EDAR (m ³)	1.878,75	939,38	2.818,13
% Volumen total aportada por la EDAR (%)	2,3%	1,2%	1,77%
Número de unidades de raceways	1	2	3
Superficie ocupada para depurar volumen total aportado por la EDAR (m ²)	250,00	500	750,00
Producción de Biodiésel (g)	1,00	0,67	1,67
Distancia recorrida por un autobús usando el biodiésel producido (km)	2.067,8	1.378,5	3.446,3
Cantidad de biomasa residual destinada a biofertilización (Ton)	3,66	2,44	6,11
Rendimiento de biometano (g mL ⁻¹)	9.769,5	6.513	16.282,50

El núcleo urbano de Almonte tiene una superficie aproximada de 4 km², en una configuración aproximadamente circular. De esta forma, el perímetro de la localidad es prácticamente de unos 7 km. Diversos estudios demuestran que un autobús de EMT requiere 55 L de biodiésel para recorrer 100 km, es decir, que un autobús urbano podría recorrer 3.446 Km con el volumen total anual de biodiésel producido en el SM. Teniendo en cuenta que la velocidad media de un autobús urbano es aproximadamente de 12 km·h⁻¹, el biodiésel teóricamente producido por el SM de la EDAR de El Rocío generaría unas 287h de servicio de un autobús urbano, alrededor de 40 días (casi un mes y medio) de servicio a razón de 7,5h diarias, lo que permitiría recorrer perimetralmente la localidad casi unas 500 veces.

Finalmente, se realiza una proyección de los principales datos del SM, incluyendo el biodiésel potencialmente obtenible, si desde la EDAR se aportase al SM anualmente un 10% del volumen de agua gestionado por la planta depuradora. Los resultados de la proyección se muestran en la siguiente Tabla.

Tabla 26. Proyección de datos operacionales del SM y biodiésel producido con una aportación anual del 10% del caudal de la EDAR.

Parámetro	Valor Anual
Caudal de la EDAR (m ³ d ⁻¹)	475,39
Proyección de producción (%)	10

Parámetro	Valor Anual
Volumen total aportada por la EDAR (m ³ d ⁻¹)	47,54
Número de unidades de raceways	15
Superficie ocupada para depurar volumen total aportado por la EDAR (m ²)	4.225,72
Producción de Biodiésel (Ton)	3,95

Se concluye que, si se desea proyectar un SM que sea capaz de depurar el 10% del caudal generado por la EDAR El Rocío, se requieren 17 biorreactores, los cuales ocuparían un total de 0,4 Ha, obteniéndose una producción anual teórica de 3,95 Ton de biodiesel. El biodiésel que se produciría permitiría operar el citado autobús urbano el Almonte durante 94 días, algo más de 3 meses

5 CONCLUSIONES

Del presente TFM, titulado “Propuesta de producción de microalgas en la Economía Circular”, se han obtenido las siguientes conclusiones:

1. Del análisis de datos publicados sobre las características de los géneros más comunes en la producción de microalgas, se ha concluido que el género *Chlorella* es adecuado para su producción en la provincia de Huelva, y particularmente en localizaciones próximas a la zona de la costa onubense.
2. Se ha concluido que la EDAR de la aldea de El Rocío, en el término municipal de Almonte, reúne condiciones climáticas y de proximidad a un espacio natural protegido adecuadas para implementar un sistema de producción de microalgas. Dicho sistema reaprovecharía parte del N y del P inorgánicos presentes en el efluente de la EDAR integrándolos en la biomasa producida, la cual podría tener una posterior aplicación.
3. El sistema de producción de microalgas que se propone, del tipo circuito abierto agitado y compuesto por un módulo para los meses más cálidos y dos módulos para los meses fríos, podría teóricamente aprovechar el N y el P contenidos en un 2% del volumen anual del efluente de la EDAR. Un incremento del número de módulos, hasta 5 en los meses cálidos y 12 en los meses fríos, con una ocupación de 0,4 Ha, podría eliminar teóricamente el N y P contenidos en un 10% del volumen anual del efluente de la EDAR.
4. La biomasa de microalgas teóricamente producida en un año por el sistema básico indicado anteriormente (9,39 toneladas), permitiría la absorción de 17,7 toneladas anuales de CO₂ , reduciendo en un 15 % la huella de carbono del municipio de Almonte.
5. La citada cantidad de biomasa de microalgas serviría para producir 1,67 toneladas teóricas de biodiésel, obtenidas a partir de los triglicéridos extraídos de la biomasa. Dicho biodiésel podría mantener la actividad de un autobús urbano durante 3.446 km.
6. EL TFM ha pretendido plantear la posibilidad de aprovechamiento de la producción de microalgas para mitigar potenciales impactos ambientales de nutrientes como el N y el P en una EDAR de la provincia de Huelva, enfocando esta tecnología ambiental hacia los principios de la economía circular (Figura 5.1). La viabilidad económica de estos procesos es una cuestión compleja que depende de numerosas variables y que habría de abordarse de manera detallada y rigurosa en cada localización geográfica donde se pudiera implantar.

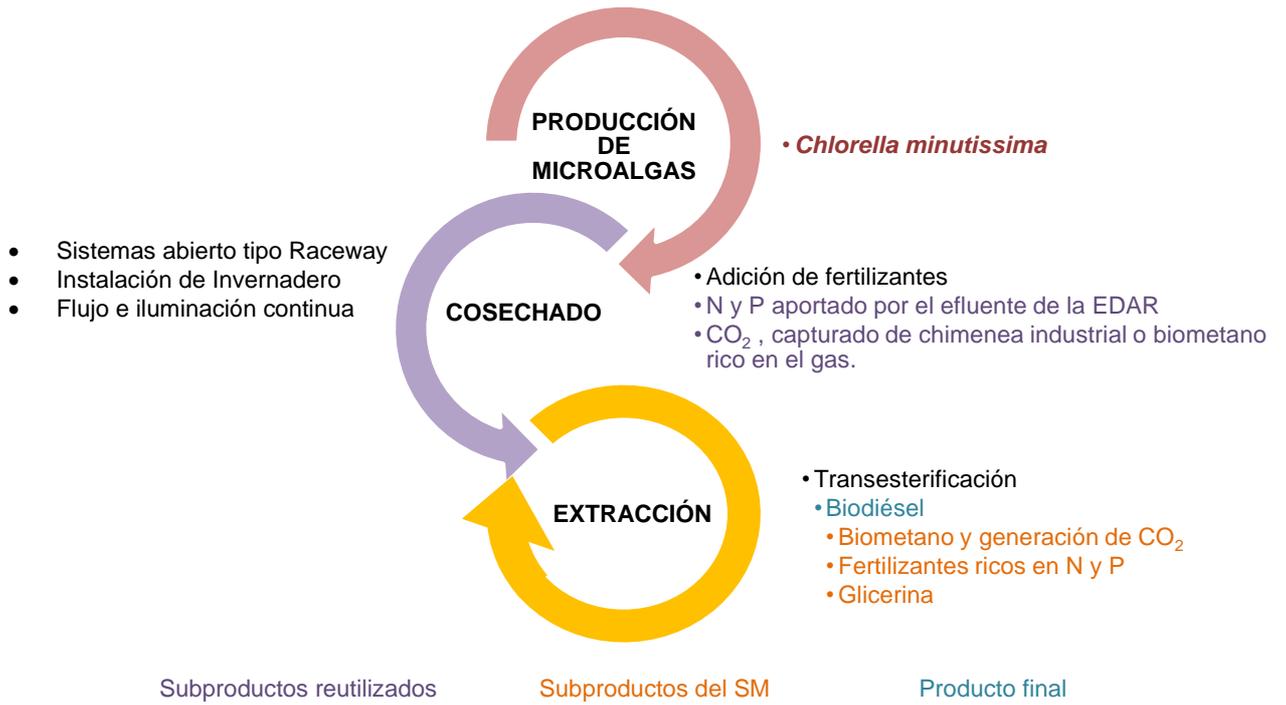


Figura 5.1 SM enfocado en la economía circular

6 REFERENCIAS

- Abalde, J., Cid, A., Fidalgo, P., Torres, E., & Herrero, C. (1995). *Microalgas : Cultivo y Aplicaciones*. Universidad de A Coruña.
- Barajas, A., & Castellanos, E. (2017). Evaluación De Procesos Necesarios Para Captación Y / O Almacenamiento De Co 2 Como Una Medida De Reducción Al Impacto Ambiental. *Revista Fuentes: El Reventón Energético*, 15, 79–88.
- Benavente, Montañez, Aguilar, Méndez, & Valdivia. (2012). Tecnología De Cultivo De Microalgas En Fotobiorreactores. *Revista Científica de La Universidad Autónoma de Coahuila*.
- Junta de Andalucía. (2007). Plan Especial de Protección del Medio Físico y Catálogo de la Provincia de Huelva.
- Borowitzka, M. (1999). Commercial production of microalga: ponds, tanks, tubes and fermenters. *J. Biotechnol.* 70, 313–321.
- Boscha, R. J., Quiroga, B., & Muñoz-Moreno, C. (2015). El bisfenol A: un factor ambiental implicado en el daño nefrovascular. *Nefrología*. 36, 5-9. <https://doi.org/10.1016/j.nefro.2015.08.007>
- Castillo, O. S., Torres-badajoz, S. G., Núñez-colín, C. A., Peña-caballero, V., Méndez, C. H. H., & Rodríguez-núñez, J. R. (2017). Producción de biodiésel a partir de microalgas : avances y perspectivas biotecnológicas. *Hidrobiológica*. 27(3), 337–352.
- Castro, P., Ferreira, A. F., & Silva, C. M. (2016). Microalgae biomass production using wastewater : Treatment and costs Scale-up considerations. *Algal Research*. 16, 167–176. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.03.010>
- Castro, Y. P., Rosa, L., Rivera, C., Lozano, J. T. (2018). *Desarrollo y Adaptación de Tecnologías de Producción de Biomasa de Microalgas*. <http://hdl.handle.net/20.500.12010/8835> 121–135.
- Chelsea Harvey. (2018). *Cement Producers Are Developing a Plan to Reduce CO2 Emissions* - *Scientific American*. <https://www.scientificamerican.com/article/cement-producers-are-developing-a-plan-to-reduce-co2-emissions/>
- Chisti, Y. (2007). Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*, 25(3), 294–306. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.02.001>
- Contreras-Flores, C., Peña-Castro, J. M., Flores-Cotera, L. B., & Cañizares-Villanueva, R. O. (2003). Avances en el diseño conceptual de fotobiorreactores para el cultivo de microalgas. *Interciencia*, 28(8), 450-456-488.
- Cuaresma, M., Janssen, M., Vílchez, C., & Wijffels, R. H. (2009). Productivity of *Chlorella sorokiniana* in a short light-path (SLP) panel photobioreactor under high irradiance. *Biotechnology and Bioengineering*, 104(2), 352–359. <https://doi.org/10.1002/bit.22394>
- Cuellar-Bermudez, S. P., Aguilar-Hernandez, I., Cardenas-Chavez, D. L., Ornelas-Soto, N., Romero-Ogawa, M. A., & Parra-Saldivar, R. (2015). Extraction and purification of high-value metabolites from microalgae: Essential lipids, astaxanthin and phycobiliproteins. *Microbial Biotechnology*, 8(2), 190–209. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12167>.
- Domínguez, M. (2018). *Optimización De Un Reactor HRAP para la depuración de aguas residuales urbanas*. Trabajo Fin de Máster. <http://hdl.handle.net/10498/20814>.
- Ecologistas en Acción Andalucía. (2018). Estudio de las muestras analíticas del año 2017 y evolución desde el 2013. *Saneamiento y Depuración en Andalucía*.

- https://revistaelobservador.com/images/stories/envios_19/enero/edar.pdf.
- Edmundson, S. J., & Huesemann, M. H. (2015). The dark side of algae cultivation: Characterizing night biomass loss in three photosynthetic algae, *Chlorella sorokiniana*, *Nannochloropsis salina* and *Picochlorum* sp. *Algal Research*, 12, 470–476. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.10.012>
- El-Sheek, M. M., & Rady, A. A. (1995). Effect of phosphorus starvation on growth, photosynthesis and some metabolic processes in the unicellular green alga *Chlorella kessleri*. *Phyton - Annales Rei Botanicae*, 35, 139–151.
- Enzing, A. C., Ploeg, M., & Barbosa, M. (2014). *Microalgae-based products for the food and feed sector: an outlook for Europe*. European Commission. <https://doi.org/10.2791/3339>
- Esteves, A. F., Soares, O. S. G. P., Vilar, V. J. P., Pires, J. C. M., & Gonçalves, A. L. (2020). *The Effect of Light Wavelength on CO2 Capture, Biomass Production and Nutrient Uptake by Green Microalgae: A Step Forward on Process Integration*. *Energies* 13, 333. <https://doi.org/10.3390/en13020333>.
- FIVIDRIO. (2020). *Reciclar toneladas de fibra de vidrio ya es posible | Fividrio*. <https://fividrio.es/reciclar-toneladas-de-fibra-de-vidrio-ya-es-posible/>
- Forjan, E., Vílchez, C., & Vega, J. (2014). *Bioteología de Microalgas*. CEPESA & Autores (eds.). Cátedra CEPESA, Universidad de Huelva.
- Gaibor, E. (2014). Diseño de un secador discontinuo para la especie de alga *Chlorella*. Trabajo Fin de Grado. <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/3495>.
- Hall, D. O., & Rao, K. (1999). Photosynthesis. *Journal of Experimental Botany* 50. <https://academic.oup.com/jxb/article/50/341/1869/518852>.
- Haurwitz, B. (1945). Insolation in relation to cloudiness and cloud density. *Journal of Meteorology*, 2, 154–166. <https://doi.org/10.1175/1520-0469>.
- Hernández, A., & Labbé, J. (2014). Microalgas: cultivo y beneficios. *Rev. biol. mar. oceanogr.* 49, 157–173. <https://doi.org/10.4067/S0718-19572014000200001>.
- Hulatt, C. J., Berecz, O., Skarstad, E., Wijffels, R. H., & Kiron, V. (2017). Polar snow algae as a valuable source of lipids? *Bioresource Technology*, 235, 338–347. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.03.130>.
- IDEAM. (2014). Radiación solar. Marco Nacional de Servicios Climáticos, Colombia. <http://www.ideam.gov.co/web/tiempo-y-clima/radiacion-solar-ultravioleta>
- Levina, B., & Romagnoli, F. (2020). Potential of chlorella species as feedstock for bioenergy production: A review. *Environmental and Climate Technologies*, 24(2), 203–220. <https://doi.org/10.2478/rtuect-2020-0067>
- Instituto Mexicano del Concreto. (2017). Patología y durabilidad del concreto. *Revistacyt* 6(12), 60. <http://www.revistacyt.com.mx/>
- Jacovides, C. P., Tymvios, F. S., Asimakopoulos, D. N., Theofilou, K. M., & Pashiardes, S. (2003). Global photosynthetically active radiation and its relationship with global solar radiation in the Eastern Mediterranean basin. *Theoretical and Applied Climatology*, 74, 227–233. <https://doi.org/10.1007/s00704-002-0685-5>
- Jiang, Y., Zhang, W., Wang, J., Chen, Y., Shen, S., & Liu, T. (2012). Utilization of simulated flue gas for cultivation of *Scenedesmus dimorphus*. *Bioresour. Technol.* 128, 359-364. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.119>
- Kazbar, A., Marec, H., Takache, H., Ismail, A., & Pruvost, J. (2020). Effect of design dark fraction on the loss of biomass productivities in photobioreactors. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 43, 207–216. <https://doi.org/10.1007/s00449-019-02217-3>.
- Kim, D. Y., Vijayan, D., Praveenkumar, R., Han, J. I., Lee, K., Park, J. Y., Chang, W.

- S., Lee, J. S., & Oh, Y. K. (2016). Cell-wall disruption and lipid/astaxanthin extraction from microalgae: *Chlorella* and *Haematococcus*. *Bioresour. Technol.* 199, 300–310. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.107>.
- Kommareddy, A., & Anderson, G. (2003). Study of Light as a parameter in the growth of algae in a Photo-Bioreactor (PBR). *Conference paper at The Society for Engineering in Agricultural, Food, and Biological Systems*. DOI:10.13031/2013.13868.
- Kumar, R., Ghosh, A. K., & Pal, P. (2020). Synergy of biofuel production with waste remediation along with value-added co-products recovery through microalgae cultivation: A review of membrane-integrated green approach. *Science of the Total Environment*, 698. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134169>
- Li, Z. S., Yuan, H. L., Yang, J. S., & Li, B. Z. (2011). Optimization of the biomass production of oil algae *Chlorella minutissima* UTEX2341. *Bioresource Technology*, 102, 9128–9134. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.07.004>
- López-Vaquera, A., Villarreal-Chiu, J., & López-Chucken, U. (2020). Estudio de la acumulación de polifosfatos en microalgas floculantes nativas de Nuevo León para el desarrollo de tecnología alternativa para el reciclaje de fósforo. *Revista de Ciencias Farmacéuticas y Biomedicina*. <http://www.rcfb.uanl.mx/index.php/rcfb/article/view/310>.
- Martín, I., Rosa, J., Rodríguez, B., et al. (2006). Guía sobre tratamiento de aguas residuales urbanas para pequeños núcleos de población. *CENTA y Junta de Andalucía*. <https://www.cienciacanaria.es/files/Guia-sobre-tratamientos-de-aguas-residuales-urbanas-para-pequenos-nucleos-de-poblacion.pdf>.
- Martins, A., Caetano, N. S., & Mata, T. M. (2010). Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14, 217–232. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2009.07.020>
- Mazucca, T., Ibáñez, M. J., Molina, E., Urrutia, A., & Chisti, Y. (2016). Concentración de cultivos de microalgas por un proceso de eliminación osmótica del medio utilizando disoluciones de glicerol. *Patentes de la Universidad de Almería*. <http://repositorio.ual.es/handle/10835/4424#.X6SGsw5ZFd4.mendeley>
- Mendoza, H., De la Jara, A., & Portillo, E. (2011). Planta Piloto De Cultivo De Microalgas. *Instituto Tecnológico de Canarias*. https://www.researchgate.net/publication/271209975_Planta_piloto_de_cultivo_de_microalgas.
- Monthieu, C. (2010). Estudio técnico económico de la extracción de los lípidos de las microalgas para la producción de biodiesel. *Universidad Pontificia de Comillas*. http://cursa.ihmc.us/rid=1JJRWLP4L-1LV4SSL-XHB/extracción_lipidos_en_microalgas.pdf.
- Morais, M. G. De, Alberto, J., & Costa, V. (2007). Biofixation of carbon dioxide by *Spirulina* sp. and *Scenedesmus obliquus* cultivated in a three-stage serial tubular photobioreactor. *J. Biotechnol.* 129, 439–445. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2007.01.009>
- Moreno, J. I. L. (2008). Estimación de pérdidas de agua por evaporación en embalses del pirineo. *Geographical Research Letters*, 34, 61–81.
- Norsker, N., Barbosa, M. J., Vermuë, M. H., & Wijffels, R. H. (2011). Microalgal production — A close look at the economics. *Biotechnology Advances*, 29(1), 24–27. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.08.005>
- Ota, M., Kato, Y., Watanabe, H., Watanabe, M., Sato, Y., Jr, R. L. S., & Inomata, H. (2009). Effect of Inorganic Carbon on Photoautotrophic Growth of Microalga *Chlorococcum littorale*. *Biotechnology Progress*, 25(2).

<https://doi.org/10.1021/bp.123>

- Palacios, I. A., Martín, I. R., & Alarcón, M. T. (2013). Factibilidad del secado solar de la biomasa microalgal para la producción de Biodiésel. *Comunicación personal en congreso*. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.1223.3204>
- PRTR España. (2021). Inventario de instalaciones. *PRTR España*. <http://www.prtr-es.es/Informes/InventarioInstalacionesIPPC.aspx>
- Qiu, R., Gao, S., Lopez, P. A., & Ogden, K. L. (2017). Effects of pH on cell growth, lipid production and CO₂ addition of microalgae *Chlorella sorokiniana*. *Algal Research*, 28, 192–199. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.11.004>.
- Ramos Suárez, J. L. (2012). Producción y aprovechamiento de biogás a partir de microalgas en un concepto de biorrefinería. *Comunicación personal en CONAMA*. https://www.researchgate.net/publication/261134180_Produccion_y_aprovechamiento_de_biogas_a_partir_de_microalgas_en_un_concepto_de_biorrefineria.
- Richmond, A. (2003). Handbook of Microalgal Culture. In *Handbook of Microalgal Culture*. <https://doi.org/10.1002/9781118567166>
- Romagnoli, F., Ilevina, B., Arachchige, W., Rayan, A., Perera, P., & Ferrari, D. (2020). Novel Stacked Modular Open Raceway Ponds for Microalgae Biomass Cultivation in Biogas Plants : Preliminary Design and Modelling Novel Stacked Modular Open Raceway Ponds for Microalgae Biomass Cultivation in Biogas Plants : Preliminary Design and Modelling. *Environmental and Climate Technologies*, 24. <https://doi.org/10.2478/rtuct-2020-0050>
- Romero-Morales, M. A., Ortiz-Villota, M. T., & Meza-Rodríguez, L. D. (2018). La biorremediación con microalgas (*Spirulina máxima*, *Spirulina platensis* y *Chlorella vulgaris*) como alternativa para tratar la eutrofización de la laguna de Ubaque, Colombia. *Revista de Investigación, Desarrollo e Innovación*, 9, 163–176. <https://doi.org/10.19053/20278306.v9.n1.2018.8153>.
- Ruiz, I. (2016). *Universidad internacional del ecuador*.
- Salazar, L. E. (2012). Evaluación de métodos de extracción de aceite de microalgas para la producción de biodiesel. *Trabajo Fin de Grado. Universidad Politécnica de Cuenca*. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/14825/1/UPS-CT007279.pdf>
- Salgueiro, J. L. (2018). Cultivo de microalgas en aguas residuales y aprovechamiento energético de la biomasa algal. *Tesis Doctoral. Universidad de Vigo*. http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S1692-33242009000100004&script=sci_arttext&tl-ng=pt
- Silva, A. M. (2016). Evaluación de fertilizantes agrícolas en la productividad de la microalga. *Agronomía Mesoamericana*, 27, 265–275.
- Simon, P., Schulze, C., & Aquacultura, M. (2014). Effects of light quality supplied by light emitting diodes on microalgal production. *Trabajo Fin de Máster, Universidad de Algarve*. <https://sapientia.ualg.pt/handle/10400.1/8328>
- Singh, S. P., & Singh, P. (2015). Effect of temperature and light on the growth of algae species: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 50, 431–444. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.05.024>
- Singh, U., & Ahluwalia, A. (2013). Microalgae: A promising tool for carbon sequestration. *Mitig. Adapt. Strateg. Glob. Change*, 18, 26. <https://doi.org/10.1007/s11027-012-9393-3>
- Subirats, L. (2015). Estudio a escala piloto del efecto de diferentes condiciones de operación sobre la eliminación de nutrientes en un cultivo de microalgas. Tecnología de los plásticos. *Trabajo Fin de Máster. Universidad Politécnica de Valencia*.

- <https://tecnologiadelosplasticos.blogspot.com/2011/06/policarbonato.html>
- Tilzer, M.M. (1983). The importance of fractional light absorption by photosynthetic pigments for phytoplankton productivity in lake Constance. *Limnol. Oceanogr.* 28, 833–846.
- Toro, P. H. C., & Navia, G. C. R. (2013). Advances in direct transesterification of microalgal biomass for biodiesel production. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* 12, 179–199. <https://doi.org/10.1007/s11157-013-9308-0>
- Valera, J. (2018). Estudio de viabilidad técnico-económica de una planta de producción de microalgas con fines de valorización energética. *Trabajo Fin de Grado. Universidad Politécnica de Madrid*. <http://oa.upm.es/49715/>.
- Vandamme, D., Foubert, I., & Muylaert, K. (2013). Flocculation as a low-cost method for harvesting microalgae for bulk biomass production. *Trends in Biotechnology*, 31, 233–239. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2012.12.005>
- Varol, A., & Ugurlu, A. (2016). Biogas Production from Microalgae (*Spirulina platensis*) in a Two Stage Anaerobic System. *Waste and Biomass Valorization*, 7, 193–200. <https://doi.org/10.1007/s12649-015-9442-8>
- Varshney P, Mikulic P, Vonshak A, Beardall J, Wangikar PP. Extremophilic microalgae and their potential contribution in biotechnology. *Bioresour Technol.* 2015 May;184:363-372. doi: 10.1016/j.biortech.2014.11.040
- Vélez, M. J. (2013). Estudio sobre el modelado y control de las condiciones óptimas de cultivo de microalgas en fotobiorreactores para la producción de biodiésel. *Trabajo Fin de Máster. Universidad de Almería*. <http://hdl.handle.net/10835/2826>.
- Wayne, C. K., Wayne, K., Ying, J., Loke, P., Hui, N., Ching, J., & Chuan, T. (2017). Microalgae biorefinery: High value products perspectives *Bioresource Technology* Microalgae biorefinery: High value products perspectives. *Bioresource Technology*, 229, 53–62. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.01.006>
- Weather Spark. (2021a). El clima promedio en Almonte. <https://es.weatherspark.com/y/33263/Clima-promedio-en-Almonte-España-durante-todo-el-año>
- Weather Spark. (2021b). El clima promedio en Aracena. <https://es.weatherspark.com/y/33262/Clima-promedio-en-Aracena-España-durante-todo-el-año>
- Wen, X., Geng, Y., & Li, Y. (2014). Enhanced lipid production in *Chlorella pyrenoidosa* by continuous culture. *Bioresource Technology*, 161, 297–303. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.03.077>
- Yang, Y., Du, L., Hosokawa, M., & Miyashita, K. (2020). Total Lipids Content , Lipid Class and Fatty Acid Composition of Ten Species of Microalgae. *J Oleo Sci.* 69, 1181–1189. doi: 10.5650/jos.ess20140.

7 ANEXOS

Tabla 7.1. Espacios Protegidos de Especial Importancia.

CLAVE	DENOMINACIÓN	MUNICIPIOS	HAS
I. PROTECCIÓN INTEGRAL			
I.A.- COMPLEJOS LITORALES EXCEPCIONALES			
CL-1	Parque Nacional de Doñana	Almonte, Hinojos	39.259
CL-2	Asperillo	Almonte	1.750
CL-3	Enebrales de Punta Umbria	Punta Umbria	55
CL-4	Flecha del Rompido	Lepe	390
II.D.- COMPLEJOS SERRANOS DE INTERES AMBIENTAL			
CS-1	Sierra de Berrocal	Paterna del Campo, Berrocal	4.130
CS-2	Pata del Caballo	Berrocal, Escacena del Campo	4.815
CS-3	Sierra Pelada	Aroche, Cortegana	8.900
CS-4	Sierra del Viento	Cumbres Mayores	375
CS-5	Sierra del Castaño	Alájar, Almonaster la Real, Aracena, Castaño del Robledo	6.700
CS-6	Sierra de Hinojales	Aracena, Hinojales, Cortelazor, Valdelarco, Cumbres Mayores	8.850
CS-7	Sierra del Bujo	Arroyomolinos de León, Cañaveral de León	553
CS-8	Sierra de Aroche y Encinasola	Aroche, Encinasola, Cumbres de San Bartolomé	12.200
CS-9	Pinares de Nerva	Nerva	1.675

Fuente: (PLAN ESPECIAL DE PROTECCIÓN DEL MEDIO FÍSICO Y CATÁLOGO DE LA PPROVINCIA DE HUELVA, 2007)

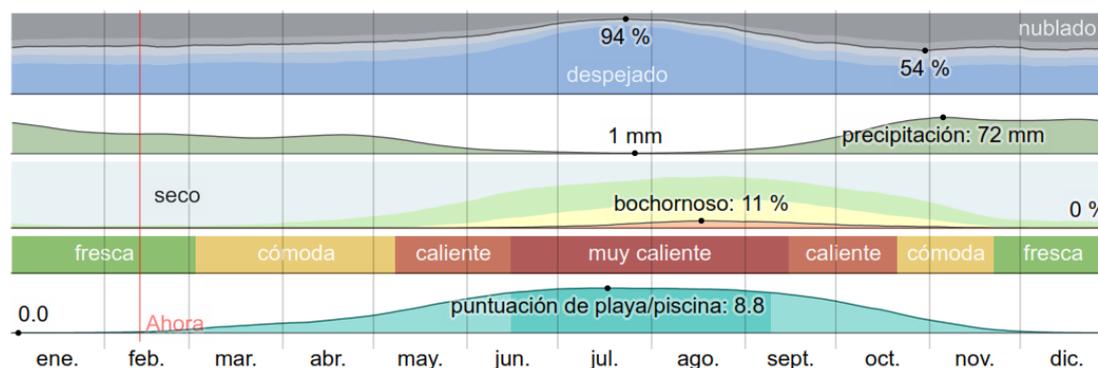


Figura 7.1 Resumen del clima promedio en Almonte

Fuente: (Weather Spark, 2021a)

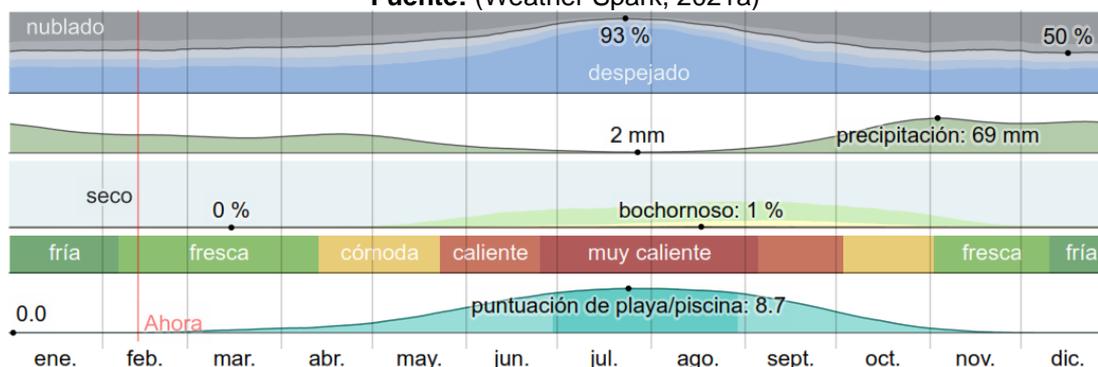


Figura 7.2 Resumen del clima promedio en Arcana

Fuente: (Weather Spark, 2021b)

Tabla 7.2. Energía total incidente en un año para los municipios de Almonte y Aracena

Mes	Horas despejado		Horas de Insolación	Horas reales de insolación		Radiación directa kWh/m ²		Radiación directa mensual kWh/m ²	
	Aracena	Almonte		Aracena	Almonte	Estación El Campillo	Estación Almonte	Aracena	Almonte
						Aracena	Almonte		
En	0,53	0,6	9:55:00	5:15:21	5:57:00	35,2	85,2	7,71	21,12
Fb	0,54	0,6	10:50:00	5:51:00	6:30:00	55,2	114,9	13,46	31,12
Mr	0,57	0,61	12:00:00	6:50:24	7:19:12	77,7	135,2	22,14	41,24
Ab	0,59	0,63	13:10:00	7:46:06	8:17:42	100,4	177,6	32,50	61,38
My	0,63	0,67	14:10:00	8:55:30	9:29:30	134,5	208,3	50,02	82,38
Jn	0,74	0,8	14:41:00	10:51:56	11:44:48	173,2	258,7	78,41	126,62
Jl	0,91	0,94	14:25:00	13:07:09	13:33:06	189,6	272	103,64	153,59
Ag	0,84	0,85	13:32:00	11:22:05	11:30:12	165,4	222,1	78,34	106,45
Sp	0,7	0,72	12:20:00	8:38:00	8:52:48	104,9	171,2	37,73	63,34
Oc	0,55	0,55	11:10:00	6:08:30	6:08:30	58,9	96,6	15,07	24,72
Nv	0,53	0,6	10:10:00	5:23:18	6:06:00	39,6	83,7	8,89	21,27
Dc	0,5	0,55	9:40:00	4:50:00	5:19:00	24,4	63,6	4,91	14,09

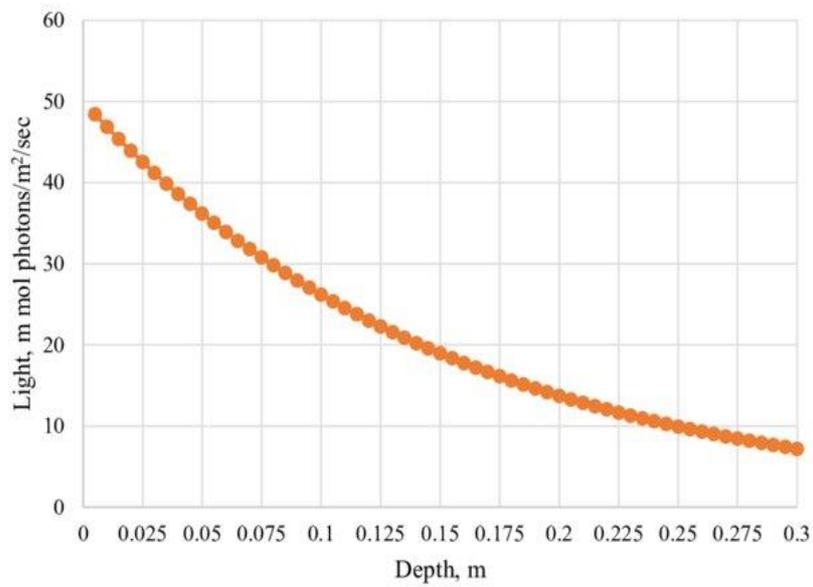


Figura 7.3 Relación luz y tasa crecimiento con profundidad raceway.
Fuente: (Romagnoli et al., 2020)

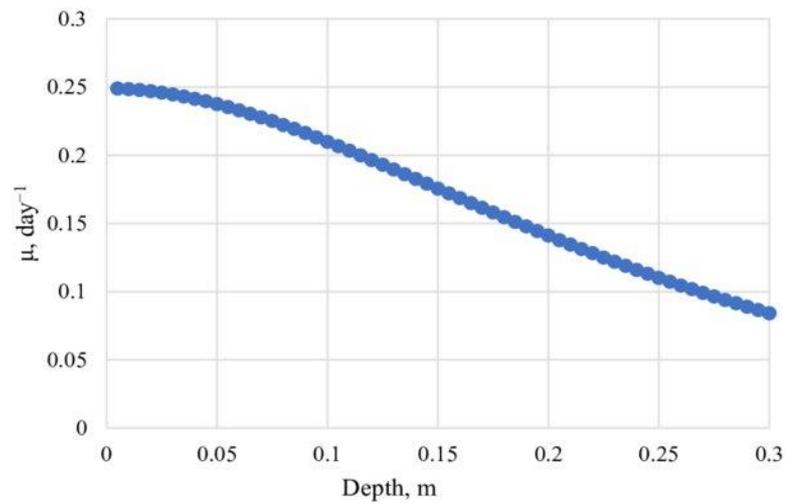


Figura 7.4 Cálculo de la tasa de crecimiento en función de z (profundidad) y la intensidad de la luz según la fórmula de Steel
Fuente: (Romagnoli et al., 2020)



Figura 7.5 Sistema del tipo circuito abierto agitado mecánicamente. Planta piloto experimental de CIDERTA, Universidad de Huelva.



Figura 7.6 Fotobiorreactor tubular vertical. Planta piloto experimental de CIDERTA, Universidad de Huelva.