

UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE
FACULTAD DE CIENCIAS EXPERIMENTALES
GRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES



SISTEMAS DE CULTIVO DE MICROALGAS PARA LA
DEPURACIÓN DE AGUAS RESIDUALES Y PRODUCCIÓN
DE BIOCOMBUSTIBLES

TRABAJO FIN DE GRADO

Junio 2015

AUTOR: Hipólito García Cuenca

DIRECTOR: Ignacio Meléndez Pastor

ÁREA: Ingeniería Química

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quería dar las gracias a mi familia por todo el cariño y apoyo que siempre me han dado. En concreto a mis padres, por su sacrificio durante tantos años para darnos la mejor calidad de vida posible tanto a mi hermana como a mí. También me gustaría mostrar mi agradecimiento a mi pareja, Nuria, que siempre ha estado a mi lado apoyándome.

En segundo lugar, quería agradecer al Departamento de Agroquímica y Medioambiente la oportunidad de realizar este trabajo. En especial, me gustaría darle las gracias a mi tutor, Ignacio Meléndez Pastor, por todo lo que me ha enseñado, por su paciencia y por la confianza depositada en mí. Sin todos ellos, este trabajo no habría sido posible.



Título: Sistemas de cultivo de microalgas para la depuración de aguas residuales y la producción de biocombustibles.

Resumen: La producción sostenible de las energías renovables está siendo objeto de debate, ya que los biocombustibles producidos a partir de cultivos alimentarios y semillas oleaginosas tienen una capacidad limitada de alcanzar sus objetivos. Esta preocupación ha aumentado el interés en el desarrollo de biocombustibles producidos a partir de materias primas como las microalgas, que potencialmente ofrecen grandes oportunidades. El cultivo de microalgas ofrece un paso interesante para los tratamientos de aguas residuales, debido a que proporcionan un biotratamiento terciario junto con la producción de biomasa potencialmente valiosa. Este trabajo revisa el estado actual del uso de microalgas para la producción de biodiésel, incluyendo su cultivo, cosechado y procesamiento. Se describen las especies de microalgas más utilizadas y sus principales ventajas en comparación con otras materias primas de biodiésel disponibles. También se proporciona una visión general del estado actual de desarrollo de los sistemas de cultivo.

Palabras clave: Microalgas, Biodiésel, Aguas residuales.

Title: Microalgae culture systems for wastewater treatment and biodiesel production.

Abstract: Sustainable production of renewable energy is being discussed since it is known that biofuels produced from food crops and oil seeds have limited ability to achieve its objectives. This concern has increased the interest in development of biofuels produced from raw material as microalgae, which potentially offer great opportunities. Microalgae culture offers an interest step for wastewater treatment, because they provide a tertiary biotreatment with potentially valuable biomass production. In this review it is shown the current status of the use of microalgae for biodiesel production, including cultivation, harvesting and processing. Microalgae species most used and its main advantages compared to other biodiesel raw materials available, and an overview of the current state of development of cultivation systems is also provided.

Keywords: Microalgae, Biodiesel, Wastewater.

ÍNDICE

1	INTRODUCCIÓN A LAS AGUAS RESIDUALES Y AL EMPLEO DE LAS ALGAS.	1
2	OBJETIVO DEL TRABAJO.	4
3	DESCRIPCIÓN DE LOS TIPOS DE ALGAS EMPLEADOS.	5
4	SISTEMAS DE CULTIVO.	7
4.1	PRODUCCIÓN FOTOAUTÓTROFA.	9
4.1.1	SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE ESTANQUES ABIERTOS.	9
4.1.2	SISTEMAS DE FOTOBIOREACTORES CERRADOS.	11
4.1.3	SISTEMAS HÍBRIDOS DE PRODUCCIÓN.	15
4.2	PRODUCCIÓN HETERÓTROFA.	15
4.3	PRODUCCIÓN MIXÓTROFA.	16
5	SISTEMAS DE SEPARACIÓN DE ALGAS RESPECTO DEL EFLUENTE TRATADO.	18
5.1	MÉTODOS DE SEPARACIÓN.	18
5.1.1	FLOCULACIÓN Y AGREGACIÓN DE ULTRASONIDOS.	18
5.1.2	FLOTACIÓN.	19
5.1.3	SEDIMENTACIÓN CENTRÍFUGA Y GRAVITACIONAL.	19
5.1.4	FILTRACIÓN.	20
5.2	PROCESADO, EXTRACCIÓN Y PURIFICACIÓN DE LA BIOMASA MICROALGAL.	20
5.2.1	PROCESOS DE DESHIDRATACIÓN.	21
5.2.2	EXTRACCIÓN Y PURIFICACIÓN DE BIOCOMBUSTIBLES.	21
5.2.3	EXTRACCIÓN Y PURIFICACIÓN DE LOS METABOLITOS ALGALES.	22
6	SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE BIOCOMBUSTIBLES A PARTIR DE ALGAS CULTIVADAS EN SISTEMAS DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES.	22
6.1	COMBUSTIÓN DIRECTA.	25
6.2	PIRÓLISIS.	25
6.3	LICUEFACCIÓN TERMOQUÍMICA.	25
6.4	GASIFICACIÓN.	26
6.5	PRODUCCIÓN FOTOBIOLOGICA DE HIDRÓGENO.	26
6.6	FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA.	26
6.7	DIGESTIÓN ANAERÓBICA.	27
7	RETOS Y PERSPECTIVAS.	27
7.1	DESARROLLO DEL BIOCOMBUSTIBLE ALGAL.	28
7.1.1	ELECCIÓN DE LA CEPA ALGAL.	28
7.1.2	BIOMASA ALGAL Y PRODUCCIÓN DE MOLÉCULAS DE COMBUSTIBLE.	28
7.1.3	COSECHADO Y EXTRACCIÓN.	29
7.1.4	PROCESADO FINAL Y USO DE PRODUCTOS SECUNDARIOS.	29
7.2	BALANCE GLOBAL DE ENERGÍA.	29
7.2.1	¿FOTOBIOREACTORES CERRADOS O ESTANQUES ABIERTOS?	30
7.2.2	PROCESAMIENTO AGUAS ABAJO.	30
7.3	OPTIMIZACIÓN DEL CRECIMIENTO ALGAL: LA IMPORTANCIA DE LA LUZ.	31
7.4	AUMENTO DEL CONTENIDO DE TRIACILGLICÉRIDOS EN ALGAS.	31
7.4.1	INGENIERÍA METABÓLICA COMO VÍA DE PRODUCCIÓN DE LÍPIDOS.	32
8	PROYECTO ALL-GAS. UN CASO DE ESTUDIO EN ESPAÑA.	32
8.1	DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO.	32

8.2	OBJETIVOS.....	33
8.3	DISEÑO A ESCALA INDUSTRIAL.....	34
9	CONCLUSIONES.....	35
10	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36
10.1	PÁGINAS WEB CONSULTADAS.....	37

LISTADO DE TABLAS

TABLA 1.	COMPARACIÓN DE MICROALGAS CON OTROS RECURSOS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIODIÉSEL (MATA ET AL., 2010).	5
TABLA 2.	CONTENIDO EN LÍPIDOS Y PRODUCTIVIDAD DE DIFERENTES ESPECIES DE MICROALGAS (MATA ET AL., 2010).....	6
TABLA 3.	VENTAJAS Y LIMITACIONES DE ESTANQUES ABIERTOS Y FOTOBIOREACTORES (BRENNAN Y OWENDE, 2010).....	14
TABLA 4.	PRODUCTIVIDAD DE BIOMASA SEGÚN LOS METABOLISMOS DE PRODUCCIÓN DE LAS MICROALGAS (BRENNAN Y OWENDE, 2010).....	17
TABLA 5.	COMPARACIÓN DE LAS PROPIEDADES DEL BIODIÉSEL A PARTIR DE MICROALGAS, DIÉSEL Y LA NORMA SOBRE BIODIÉSEL DE LA ASTM) (XU ET AL., 2006).	23
TABLA 6.	PROCESOS POTENCIALES DE CONVERSIÓN DE LA BIOMASA ALGAL (DAHIYA 2012; BRENNAN Y OWENDE, 2010)....	24

LISTADO DE FIGURAS

FIGURA 1.	PRODUCCIÓN INTEGRADA DE BIOCOMBUSTIBLES A PARTIR DE ALGAS (DAHIYA, 2015).....	3
FIGURA 2.	VISTA EN PLANTA DE UN SISTEMA DE ESTANQUE ABIERTO DE RODADURA (BRENNAN Y OWENDE, 2010).....	10
FIGURA 3.	SISTEMA DE ESTANQUES ABIERTOS EN SAPPHIRE ENERGY'S LAS CRUCES, NUEVO MÉXICO (ALGAE BASICS-ALL ABOUT ALGAE).	10
FIGURA 4.	DISEÑO BÁSICO DE UN FOTOBIOREACTOR TUBULAR HORIZONTAL (BRENNAN Y OWENDE, 2010).	12
FIGURA 5.	FOTOBIOREACTORES DE PLACA PLANA (AZCATI).....	12
FIGURA 6.	FOTOBIOREACTORES TUBULARES CERRADOS EN LA PLATAFORMA TECNOLÓGICA DE EXPERIMENTACIÓN EN MADRID (ALGAENERGY).....	13
FIGURA 7.	FOTOBIOREACTORES DE BOLSAS SUSPENDIDAS (ALGAE INDUSTRY MAGAZINE).	13
FIGURA 8.	TANQUE CERRADO O FERMENTADOR (BBI-BIOTECH).....	15
FIGURA 9.	REACCIÓN GLOBAL DE TRANSESTERIFICACIÓN DE LOS TRIACILGLICÉRIDOS (MATA ET AL., 2010).	23
FIGURA 10.	ETAPAS DE LA PRODUCCIÓN DE BIODIÉSEL A PARTIR DE LA BIOMASA ALGAL (MATA ET AL., 2010; DAHIYA 2015; BRENNAN Y OWENDE, 2010).....	24
FIGURA 11.	PLANTEAMIENTO GENERAL PROYECTO ALL-GAS (DE GODOS ET AL., 2013).....	33
FIGURA 12.	PLANTA PROTOTIPO PROYECTO ALL-GAS (DE GODOS ET AL., 2013).	35

1 INTRODUCCIÓN A LAS AGUAS RESIDUALES Y AL EMPLEO DE LAS ALGAS.

Las aguas residuales derivadas de actividades domésticas, agrícolas e industriales son perjudiciales para el ser humano, los animales, la vida acuática, así como para el medioambiente. Por tanto, deben ser tratadas previamente a su vertido en arroyos, lagos, mares y tierras (Zeng et al., 2015).

En los últimos años la producción de aguas residuales domésticas e industriales ha sufrido un gran aumento como consecuencia de la industrialización global y la subsistencia de la humanidad. Sin embargo, en muchos países las tecnologías empleadas para su tratamiento no son efectivas debido al alto coste operacional de los procesos de tratamiento convencionales. Los tratamientos previos actuales a la descarga de aguas residuales se llevan a cabo utilizando tecnologías de tratamiento intensivo, insostenible y/o de bajo rendimiento energético que utilizan procesos físicos, químicos y biológicos. Estos tratamientos continúan liberando altas concentraciones de diferentes tipos de contaminantes al entorno como nitrógeno, fósforo o compuestos metálicos. Estas aguas residuales parcialmente tratadas son indeseables y perjudiciales para su vertido. Estos compuestos son los responsables directos de la eutrofización de los cursos de agua y de la disminución de los recursos hídricos a escala global, por lo tanto, su eliminación es obligatoria, lo que supone una cuestión de mayor relevancia en países cuya industria de tratamiento de aguas residuales no está regulada correctamente (Zeng et al., 2015).

Los tratamientos químicos y biológicos se suelen aplicar para procesar aguas residuales parcialmente tratadas. Los tratamientos químicos implican la adición de altas cantidades de productos químicos que se usan para precipitar o neutralizar las especies iónicas perjudiciales antes de la descarga. Estas prácticas causan la formación de productos químicos secundarios que pueden contribuir al incremento de la Demanda Química de Oxígeno (DQO) y/o Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO), dando lugar a una contaminación secundaria. Los sistemas biológicos tradicionales de eliminación de nutrientes generan una cantidad considerable de lodos, los cuales requieren tratamiento antes de la descarga. La acumulación de lodos proporciona un medio metabólicamente poco atractivo para las actividades microbiológicas de eliminación de nutrientes, lo que conduce a la disminución de células viables con el tiempo. Estos procedimientos de tratamiento se enfrentan también a los problemas tecno-económicos relacionados con la recuperación de los microorganismos del efluente tratado. Debido al incremento de emergencias ambientales públicas y a que las regulaciones gubernamentales a cerca del medioambiente son cada vez más rigurosas, el desarrollo de procesos innovadores, sostenibles y alcanzables para el tratamiento eficiente de efluentes a un coste operacional relativamente bajo, se está convirtiendo en la prioridad de la ingeniería de investigación y desarrollo (Zeng et al., 2015).

Las algas están reconocidas como una de las formas de vida más antiguas. Son plantas primitivas (talófitas), es decir, no presentan verdadera raíz, tallo y hojas o tejido vascular, no tienen una cubierta alrededor de las células reproductoras y tienen clorofila a como su pigmento fotosintético primario. Las estructuras de las algas permiten la conversión de energía sin ningún desarrollo más allá que el de las

células. Su fácil crecimiento y desarrollo les permite adaptarse a las condiciones ambientales y prosperar por un largo periodo de tiempo (Brennan y Owende, 2010).

Las microalgas son microorganismos Procariotas o Eucariotas fotosintéticos que pueden crecer rápidamente y vivir en condiciones difíciles debido a su simple estructura celular. Las microalgas están presentes en todos los ecosistemas existentes en la Tierra, no sólo en los acuáticos, sino también en los terrestres, representando una gran variedad de especies viviendo en un amplio rango de condiciones ambientales. Se ha estimado que existen más de 50.000 especies, pero sólo unas 30.000 han sido estudiadas y analizadas (Mata et al., 2010).

Las células Procariotas (Cianobacterias) no tienen orgánulos protegidos por membrana (plastidios, mitocondrias, núcleo, aparato de Golgi y flagelos) y son más parecidas a las bacterias que las algas. Mientras que, las células Eucariotas, que comprenden diversos tipos de algas comunes, presentan estos orgánulos, los cuales controlan las funciones de la célula permitiéndole reproducirse y sobrevivir. Las Eucariotas están clasificadas en una variedad de clases definidas principalmente por su pigmentación, ciclo de vida y estructura celular básica. Las clases más importantes son: algas verdes (Clorófitas), algas rojas (Rodófitas) y diatomeas (Bacilarofíceas). Las algas pueden ser también autótrofas o heterótrofas; las primeras requieren sólo compuestos inorgánicos como CO_2 , sales y energía por parte de la luz como recursos para el crecimiento; mientras que las heterótrofas no son fotosintéticas (no obtienen energía de la fotosíntesis), por lo que requieren un aporte externo de compuestos orgánicos así como nutrientes como recursos energéticos. Algunas algas fotosintéticas son mixotróficas, es decir, tienen la habilidad de realizar la fotosíntesis y de adquirir nutrientes orgánicos exógenos. Para las algas autótrofas, la fotosíntesis es un componente vital para su supervivencia, por el cual convierten la radiación solar y CO_2 absorbido por los cloroplastos en adenosín-trifosfato (ATP) y O_2 , la energía utilizable a nivel celular para la respiración y para producir energía para crecimiento (Brennan y Owende, 2010).

Durante los últimos años, se ha estimado que el enfoque integrado para la producción de biocombustibles a partir de algas que implica el tratamiento de aguas residuales tiene un enorme potencial. La posibilidad de la compensación de costes a través del acoplamiento con el tratamiento de residuos, así como las posibilidades de creación de nuevos productos a través de la producción de subproductos de biomasa (fertilizantes, alimentos para animales, alimento nuevo, productos farmacéuticos, etc.), ofrece ventajas en cuanto a costes adicionales frente a los enfoques convencionales de producción. La Figura 1 muestra la integración sinérgica de la biomasa algal con fuentes baratas de carbono tales como los gases de combustión de las centrales eléctricas. Los sistemas de producción de algas se pueden integrar con la gestión de residuos para utilizar los nutrientes como nitrógeno y fósforo de los flujos de residuos como efluentes municipales, industriales o diarios (Dahiya, 2015).

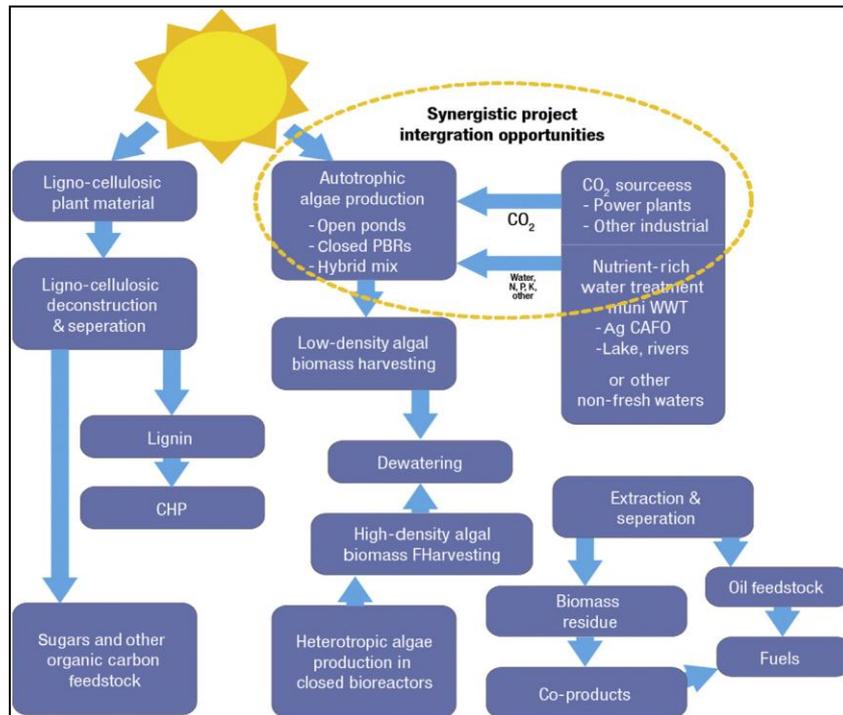


Figura 1. Producción integrada de biocombustibles a partir de algas (Dahiya, 2015).

La utilización de algas como materia prima para la producción de biocombustibles es una opción medioambiental y económicamente beneficiosa, ya que (Dahiya, 2012):

- No compiten ni con la comida ni con los recursos hídricos.
- Crecen más rápido que las cosechas usadas para producir biodiésel y producen 300 veces más aceite que las cosechas tradicionales.
- Pueden tratar aguas residuales industriales, municipales y agrícolas.
- Aportan un equilibrio entre la emisión y la fijación de carbono y pueden fijar el CO₂.
- Las propiedades a bajas temperaturas y la densidad energética del combustible de algas, hacen que sea adecuado como combustible para aviones.
- Aseguran un abastecimiento continuo.
- Pueden proporcionar subproductos valiosos como comida rica de proteínas para animales de granja, fertilizante orgánico, y materia prima para producir biogás.

La comunidad de investigación de la biomasa de algas reconoce que la integración de la producción de biomasa de algas con el combustible y el tratamiento de residuos sería un acercamiento rentable. Sin embargo, la producción del aceite de algas a escala comercial no es, todavía, una realidad debido a los desafíos como la disponibilidad de cepas de algas oleaginosas (capaces de producir el aceite) que podrían ser masivamente cultivadas para utilizar varias corrientes de residuos como fuente de sustancias nutritivas (Dahiya, 2012).

Las microalgas han emergido como un recurso potencial de biomasa debido a su neutralidad respecto al medioambiente y a su cultivo flexible. Comparadas con otras plantas terrestres presentan una velocidad de crecimiento mayor y su eficiencia fotosintética puede exceder el 10% (10-50 veces mayor que el de las plantas terrestres). Bajo condiciones ambientales desfavorables, las microalgas son capaces de acumular grandes cantidades de lípidos, los cuales son adecuados para la producción de biodiésel a través de la transesterificación (Ma y Hanna, 1999). Se ha demostrado que la adopción de los biocombustibles podría reducir las emisiones de carbono y podría ayudar a incrementar la seguridad energética. Sin embargo, la alta concentración de lípidos está, por lo general, inversamente relacionada con la productividad de biomasa y, por consiguiente, con la productividad de lípidos. Si se combina el alto índice de crecimiento con el contenido en lípidos, las microalgas se convertirán en una fuente prometedora de materia prima para la producción de biocombustible, especialmente para biodiésel. Las microalgas pueden también adaptarse a una amplia variedad de recursos hídricos (i.e., agua dulce, salobre, salina y agua residual) y reciclar potencialmente otros nutrientes de corrientes de residuos. La utilización de agua no potable contribuye a disminuir la huella ecológica de la producción de biodiésel basada en las microalgas. Como las microalgas son capaces de fijar el CO₂ ambiental y utilizarlo como la fuente de carbono para crecer y reproducirse, la producción de combustible de microalgas proporciona una alternativa prometedora a la captura convencional de carbón y tecnologías de almacenaje. El carbono fijado es incorporado a hidratos de carbono y lípidos y por lo tanto almacena energía, produce productos químicos y productos de alimentación (Chen et al., 2015).

Como convertidores solares altamente eficientes, las microalgas pueden producir una gran cantidad de metabolitos útiles como: lípidos, ácidos grasos, vitaminas, proteínas, polisacáridos, pigmentos e incluso biogás y biohidrógeno durante el crecimiento celular. Además de todo lo anterior, se ha demostrado que son capaces de fijar el CO₂ y del tratamiento de las aguas residuales. Las microalgas pueden absorber nutrientes orgánicos e inorgánicos de las aguas residuales, y su capacidad podría ser explorada para el tratamiento comercial de aguas residuales. Comparada con otras tecnologías biológicas para el tratamiento de aguas residuales, las microalgas capturan el CO₂ y generan biomasa útil para la producción de productos altamente valorizables como proteínas, carbohidratos, vitaminas, aceite y ácidos grasos. Estas ventajas potencian la competitividad y el interés en la aplicación de microalgas en la industria del tratamiento de aguas residuales. Por otro lado, la retirada de las células de las microalgas de las aguas residuales tratadas es también un problema crítico para que el sistema de tratamiento con microalgas resulte comercialmente asequible (Brennan y Owende, 2010).

2 OBJETIVO DEL TRABAJO.

El objetivo del presente trabajo es analizar el aprovechamiento y cultivo de las algas para el tratamiento de aguas residuales, y su potencial viabilidad como materia prima para la producción de

biofuel (biocombustible) de una forma medioambiental y económicamente sostenible en comparación con otros recursos.

A continuación se procederá a la descripción de los tipos de algas empleados, los diferentes sistemas de cultivo existentes, las técnicas de separación de las algas empleadas respecto del efluente tratado, los sistemas de producción de biocombustibles, así como sus retos y perspectivas. Para finalizar se expondrá un caso de estudio en España, además de las conclusiones personales una vez realizado el trabajo de revisión bibliográfica.

3 DESCRIPCIÓN DE LOS TIPOS DE ALGAS EMPLEADOS.

En la actualidad se pueden cultivar diferentes tipos de organismos a gran escala para la obtención de biocombustible (i.e., biodiésel, bioetanol) sea cual sea su modo de vida. Diferentes cultivos alimentarios y de microalgas han focalizado la atención del sector de los biocombustibles. Como se observa en la Tabla 1, aunque el contenido en aceite es similar entre las plantas cultivadas y las microalgas, hay diferencias significativas en la productividad de la biomasa total, obteniendo como resultado una clara ventaja para las microalgas en relación a superficie empleada y tiempo. Los cultivos de microalgas, seguidos del biodiésel producido a partir del aceite de palma, son claramente los recursos más ventajosos debido a su mayor productividad de biomasa y rendimiento.

Tabla 1. Comparación de microalgas con otros recursos para la producción de biodiésel (Mata et al., 2010).

Recurso	Contenido aceite (% por peso de biomasa)	Producción aceite (L/ha año)	Terreno ocupado (m ² año/kg biodiésel)	Productividad biodiésel (kg biodiésel /ha año)
Maíz (<i>Zea mays</i>)	44	172	66	152
Cáñamo (<i>Cannabis sativa</i>)	33	363	31	321
Soja (<i>Glycine max</i>)	18	636	18	562
Jatrofa (<i>Jatropha curcas</i>)	28	741	15	656
Camelina (<i>Camelina sativa</i>)	42	915	12	809
Canola (<i>Brassica napus</i>)	41	974	12	862
Girasol (<i>Helianthus annuus</i>)	40	1070	11	946
Ricino (<i>Ricinus communis</i>)	48	1307	9	1156
Aceite de Palma (<i>Elaeis guineensis</i>)	36	5366	2	4747
Microalga (Bajo contenido en aceite)	30	58.700	0,2	51.927
Microalga (Contenido medio en aceite)	50	97.800	0,1	86.515
Microalga (Alto contenido en aceite)	70	136.900	0,1	121.104

Más allá de la inherente acumulación de lípidos en las microalgas, muchas especies de microalgas pueden ser inducidas a acumular cantidades sustanciales de lípidos, lo que contribuye a una producción alta de aceite. El contenido medio en lípidos varía entre un 1 y un 70%, pero bajo ciertas condiciones, algunas especies pueden alcanzar el 90% del peso seco (Mata et al., 2010).

En la Tabla 2 se puede observar el contenido en lípidos y la productividad, tanto de biomasa como de lípidos, de diferentes especies de algas marinas y de agua dulce. Como muestra la tabla, el contenido en aceite de las microalgas puede alcanzar el 75% de su peso seco de biomasa pero asociado con bajas productividades (por ejemplo en *Botryococcus braunii*). Las algas más comunes (i.e., *Chlorella*, *Cryptocodinium*, *Cylindrotheca*, *Dunaliella*, *Isochrysis*, *Nannochloris*, *Nannochloropsis*, *Neochloris*, *Nitzschia*, *Phaeodactylum*, *Porphyridium*, *Schizochytrium*, *Tetraselmis*) tienen un contenido en aceite que oscila entre un 20 y un 50%, pero pueden alcanzar productividades más altas.

Tabla 2. Contenido en lípidos y productividad de diferentes especies de microalgas (Mata et al., 2010).

Especie	Contenido Lípidos (% por peso de biomasa seca)	Productividad de lípidos (mg/L/día)	Productividad volumétrica de la biomasa (g/L/día)	Productividad espacial de la biomasa (g/m ² /día)
<i>Ankistrodesmus sp.</i>	24-31	-	-	11,5-17,4
<i>Botryococcus braunii</i>	25-75	-	0,02	3
<i>Chaetoceros muelleri</i>	33,6	21,8	0,07	-
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	14,6-16,4/39,8	17,6	0,04	-
<i>Chlorella sp.</i>	10-48	42,1	0,02-2,5	1,61-16,47/25
<i>Chlorococcum sp.</i>	19,3	53,7	0,28	-
<i>Cryptocodinium cohnii</i>	20-51,1	-	10	-
<i>Dunaliella sp.</i>	17,5-67	33,5	-	-
<i>Ellipsoidion sp.</i>	27,4	47,3	0,17	-
<i>Euglena gracilis</i>	14-20	-	7,7	-
<i>Haematococcus pluvialis</i>	25	-	0,05-0,06	10,2-36,4
<i>Isochrysis sp.</i>	7,1-33	37,8	0,08-0,17	-
<i>Monodus subterraneus</i>	16	30,4	0,19	-
<i>Monallanthus salina</i>	20-22	-	0,08	12
<i>Nannochloris sp.</i>	20-56	60,9-76,5	0,17-0,51	-
<i>Nannochloropsis sp.</i>	12-53	37,6-90	0,17-1,43	1,9-5,3
<i>Neochloris oleoabundans</i>	29-65	90-134	-	-
<i>Nitzschia sp.</i>	16-47	-	-	8,8-21,6
<i>Oocystis pusilla</i>	10,5	-	-	40,6-45,8
<i>Pavlova salina</i>	30,9	49,4	0,16	-
<i>Pavlova lutheri</i>	35,5	40,2	0,14	-
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	18-57	44,8	0,003-1,9	2,4-21
<i>Porphyridium cruentum</i>	9-18,8/60,7	34,8	0,36-1,5	25
<i>Scenedesmus sp.</i>	19,6-21,1	40,8-53,9	0,03-0,26	2,43-13,52
<i>Skeletonema sp.</i>	13,3-31,8	27,3	0,09	-
<i>Spirulina platensis</i>	4-16,6	-	0,06-4,3	1,5-14,5/24-51
<i>Spirulina maxima</i>	4-9	-	0,21-0,25	25
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	20,6	17,4	0,08	-
<i>Tetraselmis sp.</i>	12,6-14,7	43,4	0,30	-

El género *Chlorella* parece ser una buena opción para la producción de biodiésel (Mata et al., 2010; Dahiya, 2012). Las especies de *Chlorella* contienen cadenas de ácidos grasos entre 16 y 18 átomos de carbono, que son ideales para la producción de biodiésel. La especie *Chlorella protothecoides* puede crecer fotoautotróficamente o heterotróficamente bajo diferentes condiciones de cultivo. El crecimiento heterotrófico da como resultado una alta acumulación de biomasa y un alto contenido de lípidos en las células. Con la adición de fuentes de carbono orgánico al medio (como glucosa) y la disminución de la fuente de nitrógeno inorgánico, la especie *Chlorella protothecoides* alcanza un contenido bruto de lípidos de hasta el 55,2% (cuatro veces superior al crecimiento fotoautotrófico). Por lo tanto, *Chlorella protothecoides* no sólo se ha convertido en una fuente importante de muchos productos como piensos para la acuicultura, suplementos alimenticios y productos farmacéuticos, sino que también se ha sugerido como un muy buen candidato para la producción de combustible. Los resultados de la producción de biodiésel con *Chlorella protothecoides* sugieren que el nuevo proceso, que combina la bioingeniería y la transesterificación, es un método factible y eficaz para la producción de biodiésel de alta calidad a partir de un medio de cultivo heterótrofo. Este biodiésel podría ser una alternativa competitiva para el combustible diésel convencional (Xu et al., 2006).

De momento, como otras especie son tan eficientes y productivas como ésta, la selección de la especie más adecuada tiene que tener otros factores en cuenta, como por ejemplo la capacidad de desarrollarse utilizando las sustancias nutritivas disponibles o en condiciones ambientales específicas. Todos estos parámetros deberían ser considerados simultáneamente en la selección de la especie más adecuada o de cepas para la producción de biodiésel. También es importante la composición de los ácidos grasos de las diferentes especies de microalgas, ya que puede tener un efecto significativo en las características del biodiésel producido (Mata et al., 2010).

4 SISTEMAS DE CULTIVO.

La microbiología industrial utiliza microorganismos, generalmente cultivados a gran escala, para obtener productos comerciales o realizar importantes transformaciones químicas. Los procesos industriales que emplean microorganismos potencian las reacciones metabólicas que éstos pueden realizar por sí mismos, con objetivo de producir en mayor cantidad el producto de interés. Los microorganismos industriales se podrían considerar como especialistas metabólicos capaces de sintetizar uno o más productos con un alto rendimiento. A menudo se seleccionan genéticamente variedades microbianas con un alto rendimiento, con el objetivo de incrementar el rendimiento del producto hasta llegar a realizar un proceso que sea rentable económicamente. Debido a esto, se puede dar la situación en la que el comportamiento de la cepa de producción sea diferente del de la cepa de tipo silvestre. (Madigan et al., 2009).

Un microorganismo que pueda utilizarse en un proceso industrial debe tener otras características a parte de producir la sustancia de interés de forma rentable (Madigan et al., 2009):

- Ser capaz de crecer y sintetizar el producto a gran escala y en un periodo de tiempo relativamente corto.
- Es preferible que produzca esporas o alguna forma de célula reproductora que pueda ser fácilmente inoculada.
- Crecer en un medio de cultivo barato que se comercialice a granel.
- No debe ser patógeno, ya que es prácticamente imposible evitar la contaminación del medio que hay fuera del recipiente de cultivo (debido a la alta densidad celular que se da en los procesos microbianos).
- Ser susceptible de manipulación genética, ya que a menudo se incrementa el rendimiento mediante mutación y selección.

Bajo condiciones naturales de crecimiento, las algas fototróficas usan la luz solar como fuente de energía y asimilan CO_2 del aire y nutrientes de los hábitats acuáticos. Por lo tanto, la producción artificial debe intentar igualar y mejorar las condiciones óptimas de crecimiento. La utilización de condiciones naturales para la producción comercial de algas tiene como ventaja el uso de un recurso renovable y gratuito como es la luz solar. Sin embargo, puede estar limitado por la disponibilidad de la luz solar debido a los ciclos diurnos y a las variaciones estacionales. Esto limitaría la producción comercial a áreas con una alta radiación solar. Para sistemas de producción de algas al aire libre, la luz es generalmente el factor limitante. Para abordar las limitaciones de las condiciones naturales de crecimiento con luz solar, la producción artificial utiliza lámparas fluorescentes para el cultivo de algas fototróficas en etapas a escala piloto exclusivamente. Esto permitirá continuar con la producción, pero requerirá un notable consumo energético. A menudo, el suministro de energía para la iluminación artificial deriva de combustibles fósiles, anulando el objetivo de desarrollar un combustible con un precio competitivo, e incrementando la huella de carbono de los sistemas. (Brennan y Owende, 2010).

Las microalgas pueden fijar CO_2 de tres fuentes: atmósfera, industria pesada y carbonatos solubles. La mayoría de las microalgas pueden tolerar y utilizar altos niveles de CO_2 , hasta 150.000 ppmv (partes por millón en volumen). Por lo tanto, en unidades de producción comunes, el CO_2 se alimenta en los medios de crecimiento de algas al igual que fuentes externas como centrales eléctricas o en forma de carbonatos solubles como Na_2CO_3 y NaHCO_3 . Otros nutrientes inorgánicos requeridos para la producción de algas son nitrógeno, fósforo y silicio. Mientras algunas especies de algas pueden fijar nitrógeno del aire en forma de NO_x , la mayoría de las microalgas lo requieren de forma soluble, siendo la urea la mejor fuente. El fósforo puede ser un nutriente menos limitante, debido a que es requerido en cantidades muy pequeñas durante el crecimiento, pero deben ser suministrados por encima del requerimiento básico debido a que los iones fosfato se unen a los iones metálicos, por tanto, no todo el fósforo añadido está

biodisponible. Por otra parte, la importancia del silicio se limita al crecimiento de ciertos grupos de algas como las diatomeas (Brennan y Owende, 2010).

No sólo el carbono orgánico, vitaminas, sales y nutrientes como nitrógeno, fósforo y silicio son vitales para el crecimiento algal, también es necesario el equilibrio entre los parámetros operacionales (i.e., O₂, CO₂, pH, temperatura, intensidad de la luz, y la eliminación de productos y subproductos). La temperatura es el factor limitante más importante, después de la luz para el cultivo de algas. Muchas especies de microalgas pueden tolerar fácilmente temperaturas hasta 15°C inferiores a la óptima, pero cuando se supera el óptimo por sólo 2-4°C se puede perder la totalidad del cultivo (Mata et al., 2010)

Podemos considerar tres diferentes metabolismos para la producción de algas siguiendo los procesos de crecimiento naturales (Brennan y Owende, 2010):

1. Producción Fotoautótrofa.
2. Producción Heterótrofa.
3. Producción Mixótrofa.

4.1 PRODUCCIÓN FOTOAUTÓTROFA.

Se basa en la utilización de la luz como única fuente de energía, que se convierte en energía química a través de las reacciones que se dan en la fotosíntesis. Los dos sistemas que se han llevado a cabo están basados en las tecnologías de estanques abiertos y fotobiorreactores cerrados. La viabilidad técnica de cada sistema depende de las propiedades de cada cepa algal utilizada, así como de las condiciones climáticas y los costes de tierra y agua.

4.1.1 SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE ESTANQUES ABIERTOS.

El cultivo de algas en sistemas de estanques abiertos ha sido utilizado desde 1950. Estos sistemas pueden ser clasificados en (Brennan y Owende, 2010):

1. Aguas naturales, tales como ríos, lagos y estanques.
2. Estanques artificiales o contenedores, siendo los estanques de rodadura (*raceway ponds*) los más usados.

Como se observa en la Figura 2, el “caldo” o cultivo de algas se introduce después de la rueda y completa un ciclo mientras es aireado mecánicamente con CO₂. Posteriormente las algas son recolectadas antes de la rueda para comenzar el ciclo otra vez. Normalmente están formados por un bucle cerrado, ovalado en forma de canales de recirculación (generalmente entre 0,2 y 0,5m de

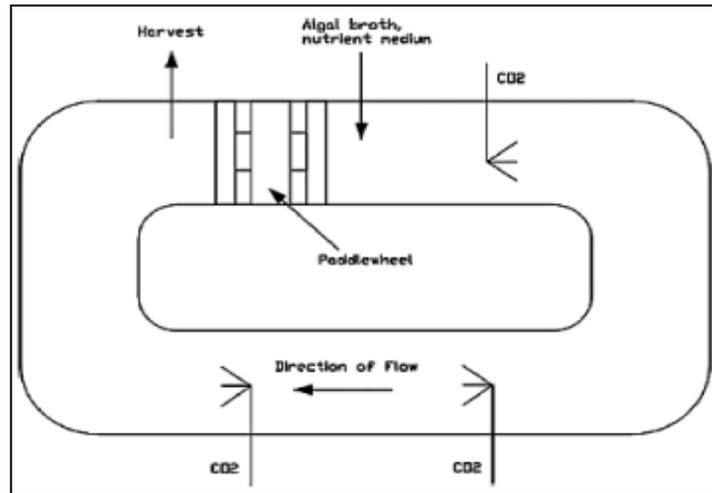


Figura 2. Vista en planta de un sistema de estanque abierto de rodadura (Brennan y Owende, 2010).

profundidad), con la mezcla y circulación necesarias para estabilizar el crecimiento de las algas y su productividad. En general este es el sistema de estanque abierto más usado, pero también se han utilizado estanques escavados en el suelo e impermeabilizados con materiales plásticos. En un ciclo continuo de producción, el caldo de algas y los nutrientes son introducidos delante de la rueda de paletas y conducida a través del circuito al punto de separación y extracción. La rueda de paletas está en continuo funcionamiento para prevenir la sedimentación. Los requerimientos de CO₂ de las microalgas son normalmente satisfechos por el aire de la superficie, pero deben de instalarse aireadores sumergidos para mejorar la absorción de CO₂ (Brennan y Owende 2010).

En la Figura 3, se pueden observar los sistemas de estanques abiertos. Éstos requieren entornos altamente selectivos debido a la amenaza inherente de la contaminación y la contaminación de otras especies de algas y protozoos. El monocultivo es posible por el mantenimiento del entorno extremo de cultivo, aunque sólo un pequeño número de cepas son adecuadas. Por ejemplo, las especies *Chlorella sp.* (adaptables a medios ricos en nutrientes), *Dunaliella salina* (adaptable a salinidades muy altas) y *Spirulina sp.* (adaptable a alta alcalinidad) prosperan bajo estos ejemplos de entornos extremos (Brennan y Owende, 2010).



Figura 3. Sistema de estanques abiertos en Sapphire Energy's Las Cruces, Nuevo México (Algae basics-All About Algae).

En comparación con fotobiorreactores cerrados, el sistema de estanque abierto es el método más barato para la producción de biomasa de algas a gran escala. Este sistema no compite necesariamente por la tierra con cultivos agrícolas existentes, ya que pueden ser implementadas en áreas con un

potencial marginal de producción agrícola. Otro aspecto importante es que requieren menor entrada de energía, y el mantenimiento regular y la limpieza es más fácil, por lo tanto tienen el potencial de volver a la gran producción neta de energía. En 2008, el costo unitario de la producción de *Dunaliella salina*, una de las cepas de algas comúnmente cultivada en sistemas de estanques abiertos, estaba en torno a 2,55€ por kilogramo de biomasa seca, que fue considerado demasiado alto como para justificar la producción de biocombustibles (Brennan y Owende, 2010).

En lo que respecta a la productividad de biomasa, los sistemas de estanques abiertos son menos eficientes comparados con otros sistemas como los fotobiorreactores cerrados. Esto puede ser debido a diversos factores determinantes como: pérdidas por evaporación, variación de la temperatura en los medios de crecimiento, deficiencias de CO₂, mezcla ineficiente y limitaciones de luz. Aunque las pérdidas por evaporación hacen una contribución neta a la refrigeración, también puede provocar cambios significativos en la composición iónica del medio de crecimiento con efectos perjudiciales sobre el crecimiento de algas. Las variaciones de temperatura debidas a los ciclos diurnos y variaciones estacionales son difíciles de controlar en estanques abiertos. Las deficiencias potenciales de CO₂ debido a la difusión en la atmósfera pueden dar lugar a la reducción la productividad debido a la utilización menos eficiente de CO₂ de la biomasa. Por otro lado, la mala mezcla del cultivo ocasionada por mecanismos de agitación ineficientes, puede provocar una disminución de las tasas de transferencia de CO₂ en masa causando baja productividad de la biomasa. La limitación de luz debido al espesor de la capa superior puede producir también una reducción de la productividad de biomasa. Sin embargo, la mejora de suministro de luz es posible mediante la reducción del espesor de la capa; usando sistemas de cultivo inclinados de capa fina, y la mejora de la mezcla puede minimizar los impactos y mejorar la productividad de la biomasa (Brennan y Owende, 2010).

Los sistemas de estanque abiertos pueden alcanzar altas tasas de producción biomasa. Sin embargo, todavía hay inconsistencias en cuanto a dichas tasas de producción. Extrapolado a una tasa de producción anual de biomasa seca de 30 toneladas por hectárea, utilizando datos de 450m² y 0,30m de profundidad del sistema de estanque de rodadura, llegando a una producción de biomasa seca de 8,2g/m² por día en Málaga, España. Usando una profundidad similar de cultivo y unas concentraciones de biomasa de hasta 1g/l se ha estimado la productividad de biomasa seca de este tipo de sistema en el rango de 10-25g/m² por día. Sin embargo, el único sistema de estanque abierto de producción a gran escala capaz de alcanzar esta elevada productividad es el sistema inclinado desarrollado por Setlik et al. (1970) para la producción de *Chlorella*.

4.1.2 SISTEMAS DE FOTOBIORREACTORES CERRADOS.

La producción de microalgas basada en la tecnología de fotobiorreactor cerrado está diseñada para superar algunos de los principales problemas asociados a los sistemas de producción de estanques abiertos descritos. Por ejemplo, la contaminación y los riesgos de contaminación con sistemas de estanques abiertos, en su mayor parte, impiden su uso para la preparación de productos de alto valor para su uso en la industria farmacéutica y cosmética. También, a diferencia de la producción de

estanque abierto, los fotobiorreactores permiten cultivar una sola especie de microalga para duraciones prolongadas con un menor riesgo de contaminación (Brennan y Owende, 2010).

Los diseños de fotobiorreactores más comunes son los siguientes (Dahiya, 2015):

- Placa plana.
- Tubular.
- Bolsas suspendidas
- Columna.
- Tanques cerrados.

Estos sistemas son más apropiados para cepas sensibles, ya que la configuración cerrada hace que el control de la contaminación potencial sea más factible. Debido su mayor productividad, los costes de cosecha y separación de las algas pueden también reducirse significativamente. Sin embargo, los costes de los sistemas cerrados son sustancialmente mayores que los sistemas de estanques abiertos (Brennan y Owende, 2010).

Los fotobiorreactores consisten en una matriz tubos de vidrio o de plástico, como se muestra en la Figura 4. La matriz tubular capta la luz del sol y puede estar alineada de forma horizontal, vertical, inclinada o como una hélice. Los tubos son, generalmente, de 0,1 m o menos en lo que se refiere al diámetro. Los cultivos de algas son recirculados, ya sea con una bomba mecánica o un sistema de transporte aéreo, permitiendo que el CO_2 y O_2 se intercambien entre el medio líquido y el gas de aireación, así como un mecanismo para la mezcla y también para la separación de las algas. La agitación y mezcla son muy importantes para estimular el intercambio de gases en los tubos (Brennan y Owende, 2010).

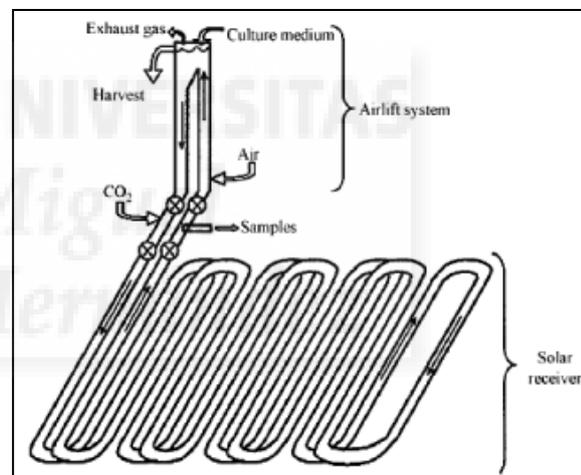


Figura 4. Diseño básico de un Fotobiorreactor tubular horizontal (Brennan y Owende, 2010).

Los fotobiorreactores de placa plana son una de las primeras formas de sistemas cerrados, los cuáles han recibido mucha atención en el campo de la investigación, debido a que presentan una gran superficie expuesta a la iluminación y una alta densidad de células fotoautotróficas (más de 80g/l). Como se puede observar en la Figura 5, los reactores están contruidos en materiales



Figura 5. Fotobiorreactores de placa plana (AzCATI).

transparentes para capturar la máxima energía solar posible, y una capa fina de cultivo de alta densidad que fluye a través de la placa plana, que permite la absorción en los primeros milímetros de espesor. Estos fotobiorreactores son adecuados para el cultivo masivo de algas debido a la baja acumulación de O_2 disuelto y a la alta eficiencia fotosintética alcanzada en comparación con versiones tubulares (Brennan y Owende, 2010).



Figura 6. Fotobiorreactores tubulares cerrados en la Plataforma Tecnológica de Experimentación en Madrid (Algaenergy).

Por su parte, los fotobiorreactores tubulares tienen limitaciones de diseño en la longitud de los tubos, de los cuales depende la acumulación potencial de O_2 , el agotamiento de CO_2 , y la variación del pH en los sistemas. Por lo tanto, no puede ser ampliado de forma indefinida. Por consiguiente, la producción a gran escala se basa en la integración de múltiples reactores como se puede observar en la Figura 6. Sin embargo, los fotobiorreactores tubulares se consideran más adecuados para cultivos masivos al

aire libre ya que exponen mayor superficie a la luz del sol. Los mayores fotobiorreactores cerrados son los tubulares, destacando los 700 m^3 de la planta de Klötze en Alemania.

Como se puede observar en la Figura 7, los fotobiorreactores de bolsas colgantes son meras bolsas de polietileno suspendidas. Se suelen cortar a la longitud deseada y se hace un sellado térmico en uno de los extremos para formar un recipiente flexible para el cultivo. Las bolsas constituyen la forma más económica de fabricar recipientes para el cultivo a gran escala. Además se pueden utilizar en el interior con iluminación artificial, o en el exterior para aprovechar la luz natural. En general, si se mantiene un nivel fijo en la iluminación del



Figura 7. Fotobiorreactores de bolsas suspendidas (Algae Industry Magazine).

cultivo, la máxima densidad de células posible disminuye conforme aumenta el diámetro del recipiente. No obstante, las bolsas mejoran la productividad comparado con los tanques de fibra de vidrio o de plástico de volúmenes similares que se están utilizando para el cultivo a gran escala. Sin embargo, no son eficientes en comparación con los cultivos que tienen iluminación interna. Los cultivos en bolsas de polietileno tienen una vida relativamente corta porque la superficie interna atrae los residuos del cultivo y las bacterias, lo que reduce la penetración de la luz convirtiéndose en un foco de contaminación. Por este motivo, es necesario renovar la bolsa al final de cada turno de cultivo. Las bolsas de gran diámetro no son eficientes, pero las que miden menos de 30 cm de diámetro tienen una mayor relación superficie:volumen que favorece la penetración de luz (FAO, 2006).

Los fotobiorreactores de columna ofrecen la mezcla más eficiente, las mayores tasas de transferencia volumétrica y las mejores condiciones controlables de crecimiento. Son de bajo coste, compactos y fáciles de operar. Las columnas verticales se airean desde la parte inferior y son iluminadas a través de las paredes transparentes o internamente. Su rendimiento se compara favorablemente con los fotobiorreactores tubulares (Brennan y Owende 2010).

En la Tabla 3 podemos observar algunas de las ventajas y limitaciones más importantes a la hora de comparar los estanques de rodadura con los diferentes tipos de fotobiorreactores (Brennan y Owende, 2010).

Tabla 3. Ventajas y limitaciones de estanques abiertos y fotobiorreactores (Brennan y Owende, 2010).

SISTEMAS DE PRODUCCIÓN	VENTAJAS	LIMITACIONES
Estanque de rodadura	<ul style="list-style-type: none"> -Relativamente barato -Fácil de limpiar -Requiere poca energía -Fácil mantenimiento 	<ul style="list-style-type: none"> -Producción de biomasa pobre -Requiere una gran superficie -Limitado a ciertas cepas algales -Pobre utilización de mezcla, luz y CO₂ -Fácil contaminación
Fotobiorreactor tubular	<ul style="list-style-type: none"> -Gran superficie de iluminación -Adecuado para cultivo exterior -Relativamente barato -Buena producción de biomasa 	<ul style="list-style-type: none"> -Algún grado de crecimiento de la pared -Ensuciamiento -Requiere una gran superficie -Gradientes de pH, O₂ disuelto y CO₂ a lo largo de los tubos
Fotobiorreactor de placa plana	<ul style="list-style-type: none"> -Alta productividad de biomasa -Fácil de esterilizar -Baja acumulación de O₂ -Facilmente templado -Buen paso de luz -Gran superficie de iluminación -Adecuado para cultivo exterior 	<ul style="list-style-type: none"> -Difícil ampliación -Difícil control de temperatura -Pequeño grado de estrés hidrodinámico -Algún grado de crecimiento de la pared
Fotobiorreactor de columna	<ul style="list-style-type: none"> -Compacto -Alta transferencia de masa -Bajo consumo de energía -Buena mezcla -Fácil de esterilizar -Fotoinhibición y foto-oxidación reducida 	<ul style="list-style-type: none"> -Pequeña área de iluminación -Caro comparado con estanques abiertos -Esfuerzo cortante -Construcción sofisticada

Los fotobiorreactores cerrados han recibido una gran atención por parte de la investigación en los últimos años. La proliferación notable de la producción a escala piloto utilizando fotobiorreactores cerrados en comparación con estanques abiertos de rodadura, podría atribuirse a un proceso de control más riguroso y con unas mayores tasas potenciales de producción de biomasa, por lo tanto, mayor producción de biocombustible y mayor producción de co-productos.

4.1.3 SISTEMAS HÍBRIDOS DE PRODUCCIÓN .

El cultivo híbrido en dos etapas es un método que combina distintas etapas de crecimiento en fotobiorreactores y en estanques abiertos. La primera etapa ocurre en un fotobiorreactor, en el que las condiciones controlables minimizan la contaminación de otros organismos y favorece la división celular continua. La segunda etapa de la producción tiene como objetivo la exposición de las células a condiciones de estrés con los nutrientes, lo que aumenta la síntesis del producto lipídico deseado. Esta segunda etapa es ideal para sistemas de estanques abiertos, ya que el estrés ambiental que estimula la producción puede ocurrir de forma natural a través de la transferencia del cultivo desde los fotobiorreactores al estanque abierto. Un proceso conceptual de producción de aceite de dos etapas fue descrito por Rodolfi et al. (2008) donde el 22% de la producción se dedicó a la producción de biomasa bajo condiciones suficientes de nitrógeno, mientras que el 78% de la planta se destinó a la producción de aceite bajo condiciones deficientes de nitrógeno. Esto alcanzaría una producción equivalente a 90kg/ha-día (10kg/ha-día en la primera etapa y 80 kg/ha-día en la segunda etapa respectivamente). También se determinó que tal sistema híbrido podría dar tasas anuales de producción de lípidos de 20 t/ha, y la tasa podría ser de hasta 30 t/ha para sistemas de producción en climas tropicales más favorables.

4.2 PRODUCCIÓN HETERÓTROFA.

Como se puede ver en la Figura 8, en este proceso las microalgas se hacen crecer sobre sustratos de carbono orgánicos, tales como glucosa, en biorreactores de tanque agitado o fermentadores. El crecimiento de algas es independiente de la energía de la luz, lo que permite más posibilidades de ampliar desde la superficie más pequeña del reactor a las tasas de volumen que puede ser utilizado. Estos sistemas proporcionan un alto grado de control del crecimiento y también costos más bajos de separación debido a las mayores densidades celulares obtenidas. Los costos de instalación son mínimos, aunque el sistema utiliza más energía que la producción de



Figura 8. Tanque cerrado o fermentador (Bbi-biotech).

microalgas fotosintética debido a que el ciclo de proceso incluye la producción inicial de fuentes de carbono orgánico a través del proceso de fotosíntesis (Brennan y Owende, 2010).

4.3 PRODUCCIÓN MIXÓTROFA.

Muchos organismos algales son capaces de utilizar ambos procesos de metabolismo (i.e., autótrofo o heterótrofo) para el crecimiento, lo que significa que son capaces de fotosintetizar, así como ingerir materiales orgánicos del medio en el que habitan. Su capacidad para procesar sustratos orgánicos implica que el crecimiento celular no es estrictamente dependiente de la fotosíntesis, por lo tanto, la luz no es un factor limitante del crecimiento. Ejemplos de este tipo de microalgas serían la cianobacteria *Spirulina platensis*, y el alga verde *Chlamydomonas reinhardtii*. El metabolismo fotosintético utiliza la luz para crecimiento, mientras que la respiración aeróbica utiliza una fuente de carbono orgánico. El crecimiento está influenciado por el suplemento de medios con glucosa durante las fases de luz y oscuridad, por lo tanto, hay menos pérdida de biomasa durante la fase oscura.

En la Tabla 4 tenemos una comparativa de la producción de biomasa en función de los metabolismos para la producción de las microalgas. Algunos estudios sugieren mayor viabilidad técnica de la producción heterótrofa en comparación con los métodos fotoautótrofos, ya sea en estanques abiertos o fotobiorreactores cerrados. También se estudió la especie *Chlorella protothecoides* y se encontró que el contenido de lípidos en las células heterótrofas podría ser de hasta el 55%, lo que era 4 veces mayor que en las células autótrofas (15% en condiciones similares). Por lo tanto, se llegó a la conclusión de que el cultivo con especies de microalgas heterótrofas podría dar como resultado una mayor producción de biomasa y acumulación de alto contenido de lípidos en las células (Brennan y Owende, 2010).

Las tasas de crecimiento de las algas mixótrofas se comparan favorablemente con el cultivo de algas fotoautótrofas en fotobiorreactores cerrados. Las tasas de las algas mixótrofas son más altas que las del cultivo de estanque abierto, pero son considerablemente más bajas comparadas con las tasas de la producción de algas heterótrofas. Chojnacka y Noworyta compararon el crecimiento de *Spirulina sp.* en cultivos fotoautótrofos, heterótrofos y mixotróficos. Llegaron a la conclusión de que los cultivos mixótrofos reducen fotoinhibición y mejoraron las tasas de crecimiento sobre los cultivos autótrofos y heterótrofos. La producción exitosa de las algas mixótrofas permite la integración de ambos componentes fotosintéticos y heterótrofos durante el ciclo diurno. Esto reduce el impacto de la pérdida de biomasa durante la respiración oscura y disminuye la cantidad de sustancias orgánicas utilizadas durante el crecimiento. De estas características se puede deducir que esa producción mixótrofa puede ser una parte importante del proceso de microalgas hacia biocombustibles.

Tabla 4. Productividad de biomasa según los metabolismos de producción de las microalgas (Brennan y Owende, 2010).

CIFRAS DE PRODUCTIVIDAD DE BIOMASA PARA SISTEMAS DE ESTANQUES ABIERTOS					
Especie	$X_{m\acute{a}x}$ (g/l)	$P_{a\acute{e}rea}$ (g/m ² día)	$P_{volum\acute{e}trica}$ (g/l día)	P.E. (%)	
<i>Chlorella sp.</i>	40	23.5	-	6,48	
<i>Spirulina platensis</i>	1,6	19,4	0,32	-	
<i>Haematococcus pluvialis</i>	0,202	15,1	-	-	
<i>Anabaena sp.</i>	0,23	23,5	0,24	>2	
CIFRAS DE PRODUCTIVIDAD DE BIOMASA DE FOTOBIORREACTORES CERRADOS					
Especie	Tipo de Reactor	$X_{m\acute{a}x}$ (g/l)	$P_{a\acute{e}rea}$ (g/m ² día)	$P_{volum\acute{e}trica}$ (g/l día)	P.E. (%)
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	Tubular transporte aéreo (200 l)	-	32	1,9	2,3
<i>Chlorella sorokiniana</i>	Tubular inclinado (6 l)	1,5	-	1,47	-
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	Tubular helicoidal al aire libre (75 l)	-	-	1,4	15
<i>Haematococcus pluvialis</i>	Tubular paralelo (25.000 l)	-	13	0,05	-
<i>Haematococcus pluvialis</i>	Columna (55 l)	1,4	-	0,06	-
<i>Haematococcus pluvialis</i>	Placa plana (25.000l)	-	10,2	-	-
<i>Spirulina platensis</i>	Tubular (5,5 l)	-	-	0,42	8,1
<i>Chlorella sp.</i>	Placa plana (400 l)	-	22,8	3,8	5,6
CIFRAS DE PRODUCTIVIDAD DE BIOMASA PARA CULTIVOS DE MICROALGAS HETERÓTROFAS					
Especie	Producto	Cultivo	$X_{m\acute{a}x}$ (g/l)	Lípidos (%)	$P_{volum\acute{e}trica}$ (g/l día)
<i>Galdieria sulphuraria</i>	C-ficocianina	Continuo	83,3	-	50
<i>Galdieria sulphuraria</i>	C-ficocianina	Lote alimentado	109	-	17,5
<i>Chlorella protothecoides</i>	Biodiésel	Lote alimentado	51,2	50,3	-
<i>Cryptocodinium cohnii</i>	Ácido Docosahexaenoico	Lote alimentado	109	56	-
CIFRAS DE PRODUCTIVIDAD DE BIOMASA PARA CULTIVOS DE MICROALGAS MIXÓTROFAS					
Especie	Fuente de carbono orgánico	$\mu_{m\acute{a}x}$ (día ⁻¹)	$X_{m\acute{a}x}$ (g/l)	$P_{volum\acute{e}trica}$ (g/l día)	
<i>Spirulina platensis</i>	Glucosa	0,62	2.66	-	
<i>Spirulina platensis</i>	Acetato	0,52	1,81	-	
<i>Spirulina sp.</i>	Glucosa	1,32	2.5	-	
<i>Spirulina platensis</i>	Melaza	0,147	2,94	0,32	

5 SISTEMAS DE SEPARACIÓN DE ALGAS RESPECTO DEL EFLUENTE TRATADO.

La recuperación de la biomasa de microalgas, que generalmente requiere uno o más etapas sólido-líquidas de separación, es una fase desafiante del proceso de producción de biomasa de algas, y representa el 20-30% de los costes totales de producción. Los procesos implicados incluyen la floculación, filtración, flotación y la sedimentación centrífuga. Algunos de estos procesos requieren una alta cantidad de energía. Las bajas densidades celulares (típicamente en el intervalo de 0,3-5 g/l) cuando hay penetración limitada de luz y el pequeño tamaño de algunas células de las algas (típicamente en el rango de 2-40 μm), hacen que la recuperación de biomasa sea difícil.

La selección de la tecnología de separación es crucial para la producción económica de biomasa microalgal. La selección de cepas es un factor importante a tener en cuenta, ya que algunas cepas son mucho más fáciles de separar que otras. Por ejemplo, la forma larga de espiral de la cianobacteria *Spirulina* (20-100 μm de largo) se presta de forma natural al método de separación relativamente rentable y eficiente de micro-pantalla (Brennan y Owende, 2010).

La experiencia ha demostrado que aunque no exista un método de recolección universal, esto sigue siendo un área de investigación activa, siendo de gran interés el desarrollar un sistema de separación apropiado y económico para cualquier especie de alga (Mata et al., 2010)

5.1 MÉTODOS DE SEPARACIÓN.

La selección de la técnica de separación depende de las características de la microalga, tales como tamaño, densidad y valor de los productos objetivo. En general, la separación de microalgas es un proceso de 2 etapas (Brennan y Owende, 2010):

1. Separación a granel. Destinada a la separación de la biomasa de la suspensión a granel. Los factores de concentración para esta operación son generalmente 100-800 veces para alcanzar el 2-7% de materia sólida total. Esto dependerá de la concentración inicial de biomasa y de las tecnologías empleadas, incluyendo floculación, flotación o sedimentación por gravedad.
2. Espesamiento/Coagulación. El objetivo es concentrar la mezcla a través de técnicas tales como centrifugación, filtración y la agregación de ultrasonidos, por lo tanto, es generalmente una etapa energéticamente más intensa que la separación a granel.

5.1.1 FLOCULACIÓN Y AGREGACIÓN DE ULTRASONIDOS.

Esta es la primera etapa en el proceso de separación a granel que se destina a agregar las células de microalgas con el fin de aumentar el tamaño efectivo de partícula. La floculación es una etapa preparatoria antes de otros métodos de separación tales como filtración, flotación o sedimentación por gravedad. Dado que las células de microalgas llevan una carga negativa que evita la agregación natural

de las células en suspensión, la adición de floculantes tales como cationes multivalentes y polímeros catiónicos neutraliza o reduce la carga negativa. También puede vincular físicamente una o más partículas a través de un proceso adhesión entre partículas, para facilitar la agregación. Sales de metales multivalentes como el cloruro férrico (FeCl_3), sulfato de aluminio ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$) y sulfato férrico ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$) son floculantes adecuados (Brennan y Owende, 2010).

Se han probado varios métodos de floculación para la separación de algas. Knuckey et al. (2006) desarrollaron un proceso que implicaba un ajuste del pH del cultivo de algas entre 10 y 10,6 usando NaOH, seguido por la adición de un polímero no iónico (Magnafloc LT-25). El floculado se cosechó por el desvío de agua de la superficie después de un período de sedimentación y posteriormente se neutralizó para dar una concentración final de biomasa de 6-7 g/l. El proceso se aplicó con éxito a una amplia gama de especies con eficiencias de floculación de más 80%. Divakaran y Pillai (2002) utilizaron con éxito Chitosan como biofloculante. La eficacia del método era muy sensible a pH; registrando la floculación de máximo rendimiento a pH 7 para las especies de agua dulce, y menor para las especies marinas. El agua residual podría ser reutilizada para producir cultivos de algas de agua dulce.

Una agregación moderada inducida acústicamente, seguida por un aumento de la sedimentación se puede utilizar también para separar la biomasa de las microalgas. Bosma et al. (2003) utilizaron con éxito ultrasonidos para optimizar la eficiencia de agregación y el factor de concentración. Alcanzaron el 92% de eficiencia de separación y un factor de concentración de 20 veces (el factor por el cual la mezcla de líquido original se ha concentrado). Las principales ventajas de la separación por ultrasonidos son: 1) puede ser llevada a cabo de forma continua sin inducir esfuerzo cortante en la biomasa, lo que podría destruir metabolitos potencialmente valiosos; y 2) es una técnica que minimiza las obturaciones. Aplicaciones exitosas en el sector médico proporciona base para futuras investigaciones sobre posibles aplicaciones en la separación de la biomasa algal.

5.1.2 FLOTACIÓN.

Los métodos de flotación se basan en la captura de células de algas utilizando micro-burbujas de aire dispersas y a diferencia de floculación, no requiere ninguna adición de productos químicos. Algunas cepas flotan naturalmente en la superficie del agua conforme aumenta el contenido en lípidos de las microalgas. Aunque la flotación ha sido mencionada como un posible método de recolección, hoy en día hay una evidencia muy limitada sobre su viabilidad técnica o económica (Brenna y Owende, 2010; Mata et al., 2010)

5.1.3 SEDIMENTACIÓN CENTRÍFUGA Y GRAVITACIONAL.

Los métodos de sedimentación centrífuga y gravitacional se basan en la ley de Stoke, por la que las características de sedimentación de los sólidos en suspensión se determinan por la densidad, el radio de las células de algas (radio de Stoke) y la velocidad de sedimentación. La sedimentación por gravedad es la técnica más común para la separación de la biomasa de las algas en el tratamiento de aguas residuales, debido a los grandes volúmenes tratados y al bajo valor de la biomasa generada. Sin

embargo, el método sólo es adecuado para microalgas de considerable tamaño (aproximadamente más de 70 μm) como el género *Spirulina*.

La recuperación mediante centrifugación (*Centrifugation Recovery*) es adecuada para la cosecha de metabolitos de alto valor económico y para concentrados de vida útil prolongada para criaderos y viveros en la acuicultura. El proceso es rápido e intensivo energéticamente. La recuperación de la biomasa depende de las características de sedimentación de las células, tiempo de residencia de la mezcla en la centrifugadora y la profundidad. Las desventajas del proceso incluyen altos costos de energía y requisitos de mantenimiento potencialmente más altos debido a que las partículas se mueven libremente. Por otro lado, una eficiencia de separación superior al 95% y un aumento de la concentración de la mezcla de hasta 150 veces para el 15% de los sólidos en suspensión totales es técnicamente viable (Brennan y Owende, 2010).

5.1.4 FILTRACIÓN.

El proceso convencional de filtración es más apropiado para separación de microalgas relativamente grandes como *Coelastrum* y *Spirulina* (más de 70 μm). No puede ser utilizado para separar especies de algas que se acercan a dimensiones bacterianas (menos de 30 μm) como *Scenedesmus*, *Dunaliella* y *Chlorella*. La filtración convencional funciona bajo presión o succión. Ayudas para filtración tales como tierra de diatomeas o celulosa se pueden utilizar para mejorar la eficiencia. Mohn (1980) demostró que los procesos de filtración pueden lograr un factor de concentración de 245 veces la concentración original para *Coelastrum proboscideum* para producir un lodo con un 27% de sólidos.

Para la recuperación de las células de algas más pequeñas (menos de 30 μm), la membrana de microfiltración y la de ultra-filtración (una forma de filtración de membrana usando presión hidrostática) son alternativas técnicamente viables a la filtración convencional. Es adecuada para células frágiles que requieren baja presión transmembrana y condiciones de baja velocidad de flujo. Para el procesamiento de pequeños volúmenes de caldo de cultivo (menos de 2 m^3 por día), la filtración de membrana puede ser más rentable en comparación con la centrifugación. Debido al costo para el reemplazo de la membrana y bombeo en escalas mayores de producción (más de 20 m^3 por día), la centrifugación puede ser un método más económico para la separación de la biomasa (Brennan y Owende, 2010; Mata et al., 2010)

5.2 PROCESADO, EXTRACCIÓN Y PURIFICACIÓN DE LA BIOMASA MICROALGAL.

El procesado representa una limitación económica importante para la producción de productos de bajo coste (combustibles, piensos y alimentos) y también para productos de mayor valor (como β -caroteno y polisacáridos). Es difícil establecer generalidades del procesamiento, ya que es altamente específico y depende en gran medida de los productos deseados. Es común aplicar la deshidratación de la biomasa, que también aumenta su vida útil y la del producto final. Varios métodos han sido empleados para secar microalgas tales como *Chlorella*, *Scenedesmus* y *Spirulina*.

Después del secado le sigue la ruptura celular de las células de microalgas para la liberación de los metabolitos de interés. Varios métodos pueden ser utilizados en función de la pared de microalgas y de la naturaleza del producto a ser obtenido, basado ya sea en la acción mecánica (e.g., homogeneizadores de células, molinos de rodamientos, ultrasonidos, autoclave, y secado por pulverización) o en acción no mecánica (e.g., congelación, disolventes orgánicos, choque osmótico y ácido, reacciones base y enzimáticas).

Para la producción de biodiésel, los lípidos y ácidos grasos tienen que ser extraídos de la biomasa de microalgas. Normalmente, la extracción de los lípidos mediante el disolvente se realiza directamente de la biomasa liofilizada, siendo un método de extracción rápido y eficiente que reduce ligeramente la degradación. Se pueden utilizar varios tales como hexano, etanol (96%) o una mezcla de hexano-etanol (96%), siendo posible obtener hasta 98% de extracción cuantitativa de ácidos grasos purificados. Aunque el etanol es un disolvente muy bueno, también puede extraer algunos contaminantes celulares, tales como azúcares, aminoácidos, sales, proteínas y pigmentos hidrofóbicos, que no son deseables si el objetivo de la extracción son sólo los lípidos (Mata et al., 2010).

5.2.1 PROCESOS DE DESHIDRATACIÓN.

La suspensión de la biomasa separada (5-15% del contenido sólido seco) es perecedera y debe ser procesada rápidamente después de la separación. La deshidratación o secado son utilizados comúnmente para extender la viabilidad dependiendo del producto final requerido. Los métodos que se han utilizado son el secado al sol, estante de baja presión de secado, secado por pulverización, secado tambor, el secado de lecho fluidizado, liofilización, y la tecnología de secado *Refractance Window*TM.

El secado al sol es el método de deshidratación más barato, pero entre sus principales desventajas se incluyen: 1) largos tiempos de secado; 2) el requisito de grandes superficies de secado; y 3) el riesgo de pérdida de material. El secado por pulverización se utiliza comúnmente para la extracción de productos de alto valor, pero es relativamente caro y puede causar deterioro significativo de algunos pigmentos de algas. La liofilización es igualmente cara, especialmente para operaciones a gran escala, pero facilita la extracción de aceites. Los elementos intracelulares como los aceites son difíciles de extraer de la biomasa húmeda con disolventes sin disrupción celular, pero se extraen más fácilmente a partir de biomasa liofilizada (Brennan y Owende, 2010).

5.2.2 EXTRACCIÓN Y PURIFICACIÓN DE BIOCOMBUSTIBLES.

Para la extracción de los biocombustibles, es importante establecer un equilibrio entre la eficiencia de secado y coste-efectividad, con el fin de maximizar la producción de energía neta de los combustibles. El coste de secado es también una consideración importante en el procesamiento del polvo de la biomasa de microalgas para la industria de alimentos y piensos. La temperatura de secado durante la extracción de lípidos afecta tanto a la composición de los lípidos como al rendimiento de lípidos de la biomasa algal. Por ejemplo, el secado a 60°C todavía mantiene una alta concentración de

triacilglicéridos en los lípidos y sólo disminuye ligeramente el rendimiento. Con temperaturas más altas disminuye tanto la concentración de triacilglicéridos como el rendimiento.

OriginOil (una empresa de biocombustibles con base en Los Ángeles CA, EEUU) desarrolló un proceso de extracción húmeda que combina ultrasonidos y la inducción de pulso electromagnético para romper las paredes celulares de las algas. El dióxido de carbono se añade a la solución de algas, lo que disminuye el pH y se separa la biomasa del aceite (Brennan y Owende, 2010).

5.2.3 EXTRACCIÓN Y PURIFICACIÓN DE LOS METABOLITOS ALGALES.

La disrupción celular se requiere a menudo para recuperar productos intracelulares a partir de microalgas. Las paredes celulares pueden modular energicamente cualquier proceso de extracción mediante la reducción de la biodegradabilidad celular. La mayoría de los métodos de disrupción celular aplicables a las microalgas se han adaptado de aplicaciones en bioproductos no fotosintéticos intracelulares. Los métodos de disrupción celular que han sido utilizados con éxito incluyen homogeneizadores de alta presión, utilización de autoclave y adición de ácido clorhídrico, hidróxido de sodio o lisis alcalina.

Los disolventes son ampliamente utilizados para extraer los metabolitos tales como astaxantina, b-caroteno y ácidos grasos a partir de la biomasa de algas. El proceso implica la captación celular de moléculas de disolvente sobre la exposición a un disolvente. Este proceso provoca alteraciones en la membrana celular para mejorar el movimiento de glóbulos hacia el exterior de la célula. Las propiedades de la membrana celular juegan un papel importante en el proceso de extracción del disolvente. Por ejemplo, la presencia de una pared celular puede evitar el contacto directo entre el disolvente y la membrana celular e impedir la extracción. Propiedades fisiológicas tales como la ubicación y el proceso por el cual los contenidos deseables se acumulan en la célula también pueden tener un impacto sobre la eficacia del disolvente (Brennan y Owende, 2010).

6 SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE BIOCMBUSTIBLES A PARTIR DE ALGAS CULTIVADAS EN SISTEMAS DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES.

El biodiésel es un combustible diésel derivado de los aceites vegetales o animales, por lo general compuestas de ésteres metílicos de ácidos grasos de cadena larga. La composición química detallada, en particular, la longitud de cadena de los ácidos grasos, depende de la fuente del aceite. El biodiésel se produce generalmente a partir del aceite por transesterificación química, donde el glicerol al que los ácidos grasos de cadena larga están esterificados se sustituye por otro alcohol (generalmente metanol, aunque no es el único) (Ma y Hanna, 1999). El biodiésel puede ser utilizado en motores diésel estándar, pero a menudo se mezcla con el diésel convencional.

En la Tabla 5 se puede observar una comparación entre las propiedades del biodiésel a partir de microalgas, el diésel normal y la norma sobre biodiésel de la *American Society for Testing Materials* (ASTM) (Xu et al., 2006).

Tabla 5. Comparación de las propiedades del biodiésel a partir de microalgas, diésel y la norma sobre biodiésel de la ASTM) (Xu et al., 2006).

PROPIEDADES	BIODIÉSEL MICROALGAS	DIÉSEL	BIODIÉSEL ASTM
Densidad (Kg/L)	0,864	0,838	0,86-0,90
Viscosidad (mm ² /s)	5,2	1,9-4,1	3,5-5,0
Punto de inflamabilidad (°C)	115	75	Mínimo 100
Punto de solidificación (°C)	-12	-50-10	-
Punto de obstrucción del filtro en frío (°C)	-11	-3,0 (máx. -6,7)	Máx. en Verano 0
Grado de acidez (mg KOH/g)	0,374	Máx. 0,5	Máx. 0,5
Valor calórico (MJ/Kg)	41	40-45	-
Proporción H/C	1,81	1,81	-

Estas materias primas de lípidos están compuestas por un 90-98% (en peso) de triglicéridos y pequeñas cantidades de mono y diglicéridos, ácidos grasos libres (1-5%), y cantidades residuales de fosfolípidos, fosfátidos, carotenos, tocoferoles, compuestos de azufre, y los rastros de agua. La transesterificación es una reacción de múltiples etapas, incluyendo tres pasos reversibles en serie, donde los triglicéridos se convierten en diglicéridos. A continuación, los diglicéridos se convierten en monoglicéridos y estos se convierten luego en ésteres (biodiésel) y glicerina (subproducto). En la figura 9 se puede observar la reacción global de transesterificación, donde los radicales R1, R2 y R3 representan hidrocarburos de cadena larga conocidos como ácidos grasos (Mata et al., 2010)

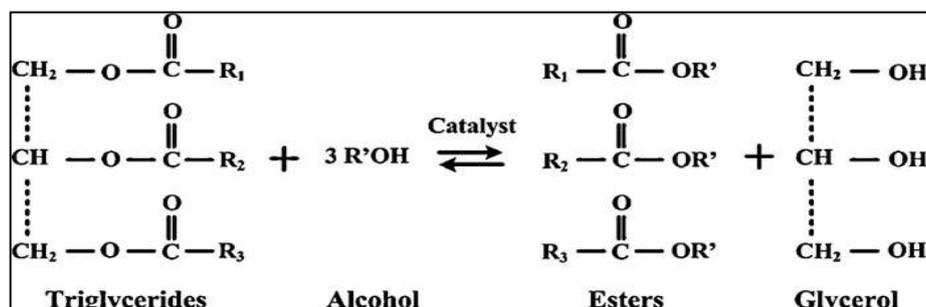


Figura 9. Reacción global de transesterificación de los triacilglicéridos (Mata et al., 2010).

Para la reacción de transesterificación se utilizan como reactivos aceite o grasa y un alcohol de cadena corta (normalmente metanol) en presencia de un catalizador (generalmente NaOH). La relación entre la entrada de materia prima y la salida de biodiésel es de aproximadamente 1:1, lo que significa que teóricamente, 1 kg de aceite obtenido da como resultado cerca de 1 kg de biodiésel. Un catalizador

homogéneo o heterogéneo, ácido o básico puede ser utilizado para mejorar la velocidad de reacción, aunque para algunos procesos que utilizan fluidos supercríticos (metanol o etanol) puede que no sea necesario el uso de un catalizador. La mayoría de los procesos industriales comunes utilizan catalizadores alcalinos homogéneos (por ejemplo NaOH o KOH) (Mata et al., 2010).

En la Figura 10 podemos ver una representación esquemática de la producción de biodiésel a partir de la biomasa algal. Comienza con la elección del lugar y la cepa algal, que depende de las condiciones específicas locales y del diseño e implementación del sistema de cultivo. Después se procede al cultivo de las algas. A continuación se realiza la separación de la biomasa algal del efluente tratado, seguida de la extracción del aceite algal y finalmente la producción de biodiésel (Mata et al., 2010; Dahiya 2015; Brennan y Owende, 2010).

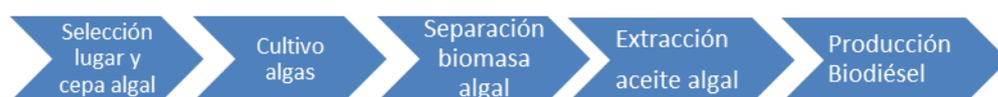


Figura 10. Etapas de la producción de biodiésel a partir de la biomasa algal (Mata et al., 2010; Dahiya 2015; Brennan y Owende, 2010).

La conversión de la biomasa algal en energía abarca los diferentes procesos habitualmente utilizados para la biomasa terrestre y que dependen, en gran medida, de los tipos y fuentes de biomasa, las opciones de conservación y su uso final. Las tecnologías de conversión para la utilización de la biomasa de microalgas se pueden separar en dos categorías básicas (Brennan y Owende, 2010):

- 1) Conversión Termoquímica: cubre la descomposición térmica de los componentes orgánicos en la biomasa para producir productos de combustible.
- 2) Conversión Bioquímica: proceso biológico de conversión de la biomasa en otros combustibles.

En la Tabla 6 se pueden observar los diferentes procesos de conversión de la biomasa algal. Los factores que influyen en la elección de proceso de conversión incluyen: 1) tipo y cantidad de materia prima; 2) prestación económica de la energía; 3) proyectos específicos; y 4) forma final deseada del producto (Dahiya 2012; Brennan y Owende, 2010)

Tabla 6. Procesos potenciales de conversión de la biomasa algal (Dahiya 2012; Brennan y Owende, 2010).

BIOMASA ALGAL						
Conversión Termoquímica				Conversión Bioquímica		
Combustión Directa	Pirólisis	Licuefacción Termoquímica	Gasificación	Producción Fotobiológica de Hidrógeno	Fermentación alcohólica	Digestión Anaeróbica
Electricidad	Biocombustible Gas de síntesis Carbón	Biocombustible	Gas de síntesis	Hidrógeno	Etanol	Metano Hidrógeno

6.1 COMBUSTIÓN DIRECTA.

En un proceso de combustión directa, la biomasa se quema en presencia de aire para convertir la energía química almacenada en gases calientes. Normalmente se lleva a cabo en un horno, caldera o turbina de vapor a temperaturas superiores a 800°C. La combustión sólo es factible para la biomasa con contenido de humedad <50% en peso seco. El calor producido debe ser utilizado inmediatamente, ya que el almacenamiento no es una opción viable. La combustión de biomasa se puede utilizar para generar calefacción, electricidad o rangos de vapor de utilidades a pequeña escala (espacio doméstico y calentamiento de agua), hasta procesos industriales a gran escala en el rango de 100-300MW. Esta conversión tiene la desventaja de que la biomasa generalmente requiere procesos de pretratamiento, tales como secar, cortar y moler, requiriendo una demanda de energía adicional y por lo tanto supone otro coste. La eficiencia de conversión en grandes plantas de biomasa en energía se compara favorablemente con la de las plantas de energía de carbón, pero puede incurrir en mayores costes debido al alto contenido de humedad de la biomasa (Brennan y Owende, 2010).

6.2 PIRÓLISIS.

La pirólisis es la conversión de biomasa en biocombustible, gas de síntesis y carbón a altas temperaturas (350-700°C) en ausencia de aire. La pirólisis tiene potencial para la producción a gran escala de biocombustibles que podrían sustituir combustibles líquidos a base de petróleo. En concreto, la pirólisis *flash* (500°C y con un periodo de residencia del gas caliente de 1 s aproximadamente), se considera una técnica viable para el futuro de la sustitución de los combustibles fósiles con combustibles líquidos derivados de biomasa, debida a la alta tasa de conversión biomasa-líquido que puede alcanzar (95,5%). Sin embargo, existen desafíos técnicos, ya que los aceites de pirólisis son ácidos, inestable, viscosos y contienen sólidos y agua disuelta. Por lo tanto, el procesado del aceite requerirá la actualización de hidrogenación y craqueo catalítico para reducir el contenido de oxígeno y eliminar los álcalis (Brennan y Owende, 2010; Dahiya 2015).

6.3 LICUEFACCIÓN TERMOQUÍMICA.

Es un proceso que se puede emplear para convertir biomasa húmeda algal en combustible líquido. La licuefacción termoquímica es un proceso a baja temperatura (300-350°C), alta presión (5-20 MPa) ayudado de un catalizador en presencia de hidrógeno para producir biocombustible. Los reactores para sistemas de licuefacción termoquímica y alimentación de combustible son complejos y caros, pero tienen como ventaja su capacidad para convertir la biomasa húmeda en energía. El proceso utiliza la alta actividad del agua en condiciones sub-críticas para descomponer los materiales de biomasa hasta materiales moleculares más pequeños, con una mayor densidad de energía (Brennan y Owende, 2010; Dahiya 2015).

6.4 GASIFICACIÓN.

La gasificación implica la oxidación parcial de la biomasa en una mezcla de gas combustible a altas temperaturas (800-1000°C). En el proceso de gasificación normal, la biomasa reacciona con el oxígeno y el agua (vapor) para generar gas de síntesis (mezcla de CO, H₂, CO₂, N, y CH₄). La ventaja clave de la gasificación como vía para convertir la biomasa en energía, es que puede producir un gas de síntesis a partir de una amplia variedad de materias primas potenciales. El gas de síntesis es un gas de moderado poder calorífico (4-6 MJ/m³), que puede ser quemado directamente o utilizado como combustible para motores o turbinas de gas (Brennan y Owende, 2010; Dahiya 2015).

6.5 PRODUCCIÓN FOTOBIOLOGICA DE HIDRÓGENO.

El hidrógeno (H₂), es una molécula de origen natural fuente de energía limpia y eficiente. Las microalgas poseen las características genéticas, metabólicas y enzimáticas necesarias para fotoproducir gas H₂. Durante la fotosíntesis, las microalgas convierten las moléculas de agua en iones hidrógeno (H⁺) y oxígeno. Los iones de hidrógeno son posteriormente convertidos por la enzima hidrogenasa en H₂ en condiciones anaeróbicas. Hay dos enfoques fundamentales para la producción de H₂ fotosintético a partir del agua (Brennan y Owende, 2010; Dahiya 2015):

1. Proceso de fotosíntesis de dos etapas. La producción de oxígeno fotosintético y la generación de gas H₂ están separados espacialmente. En la primera etapa, las algas se cultivan fotosintéticamente en condiciones normales. Durante la segunda etapa, las algas son privadas de azufre, lo que induce condiciones anaeróbicas y estimula la producción de hidrógeno. Este proceso se ve limitado con el tiempo, ya que el rendimiento de producción de hidrógeno comenzará a estabilizarse después de 60 horas de producción.
2. Producción simultánea de oxígeno fotosintético y gas H₂. En este enfoque, los electrones que se liberan a la oxidación fotosintética del H₂O se alimentan directamente en el proceso de evolución del H₂ mediado por la hidrogenasa. La productividad de H₂ es teóricamente superior al proceso fotosintético de dos etapas, pero este proceso sufre inhibición severa de la hidrogenasa después de un período muy corto debido a la producción fotosintética de oxígeno.

6.6 FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA.

La fermentación alcohólica es la conversión de materiales de biomasa que contienen azúcares, almidón o celulosa en etanol. La biomasa se muele y el almidón se convierte en azúcares que luego se mezclan con agua y levadura, manteniéndose calientes en grandes tanques llamados fermentadores. La levadura descompone el azúcar y lo convierte en etanol. Se requiere un proceso de purificación (destilación) para eliminar el agua y otras impurezas en el producto alcohólico diluido (con una concentración de 10-15% de etanol). El etanol concentrado (95% en volumen para una destilación) se extrae y se condensa en forma líquida, pudiendo ser utilizado como un suplemento o sustituto de la

gasolina en los coches. El residuo sólido del proceso puede ser utilizado para alimentos para el ganado o para la gasificación. Esto supone una ayuda frente a los costos de materias primas que normalmente componen el 55-80% del precio de venta de alcohol final (Brenna y Owende, 2010; Dahiya 2015).

6.7 DIGESTIÓN ANAERÓBICA.

La digestión anaeróbica es la conversión de residuos orgánicos en un biogás, que está constituido principalmente por metano (CH_4), dióxido de carbono (CO_2) y trazas de otros gases como el sulfuro de hidrógeno (H_2S). Se trata de una descomposición de la materia orgánica para producir un gas con un contenido energético de aproximadamente el 20 al 40% del valor calorífico inferior de la materia prima. Es un proceso apropiado para residuos orgánicos con un alto contenido de humedad (80-90%), por lo tanto puede ser útil para la biomasa algal húmeda. El proceso de digestión anaeróbica ocurre en tres etapas secuenciales (Brennan y Owende, 2010; Dahiya 2015; Mata et al., 2010):

1. Hidrólisis. Los compuestos complejos se descomponen en azúcares solubles.
2. Fermentación. Los azúcares solubles son transformados en alcoholes, ácido acético, ácidos grasos volátiles y un gas constituido por H_2 y CO_2 .
3. Metanogénesis. Metaboliza dicho gas principalmente en CH_4 (60-70%) y CO_2 (30-40%) a través de microorganismos metanogénicos. Se ha estimado que la conversión de la biomasa de algas en metano podría recuperar tanta energía como la obtenida de la extracción de los lípidos celulares, dejando un producto de desecho rico en nutrientes que puede ser reutilizado en un nuevo medio de cultivo de algas.

7 RETOS Y PERSPECTIVAS.

Las microalgas ofrecen un gran potencial para la explotación, incluida la producción de biodiésel, pero el proceso está aún lejos de ser un proceso neutro en la emisión y la fijación de carbono, además de comercialmente viable. Parte del problema es que hay muchas áreas de investigación por desarrollar. Debemos preocuparnos en lograr pasos graduales y aumentar nuestra comprensión fundamental de las algas para identificar posibles cambios de paradigma. Para llevar a cabo este proceso, la integración de la biología y la ingeniería es esencial (Scott et al., 2010).

La producción comercial de algas a gran escala es potencialmente más costosa que la producción de cultivos tradicionales. El cultivo de algas requiere gran cantidad de agua y nutrientes, como carbono, nitrógeno y fósforo. La aplicación de fuentes de nutrientes externos resulta en una competencia directa con los productores de fertilizantes de alimentos. Podríamos decir que los gastos en nutrientes componen la mayor parte del coste total de la producción de microalgas. Por ejemplo, con el nitrato como el recurso de nitrógeno, se necesitarían unas 6-8 toneladas/ha-año, lo que supone unas 55-111 veces el requisito para campo de cultivos. Además, la baja proporción de energía neta ha sido otro gran

problema para la comercialización de biocombustibles de algas. En las mejores condiciones se puede esperar una eficiencia fotosintética máxima del 5,4% respecto del total de la radiación solar que incide en los cultivos de algas. La eficiencia fotosintética es la fracción de energía de la luz que se fija en forma de energía química durante el crecimiento fotoautótrofo. Sólo radiación activa fotosintética (*Photosynthetically Active Radiation* PAR) de longitudes de onda entre 400 y 700 nm (42,3% de la energía total del espectro de luz) es capturada. La energía captada se utiliza en el ciclo de Calvin para producir hidratos de carbono mediante la utilización de CO₂ y H₂O (Scott et al., 2010; Brennan y Owende, 2010).

En los últimos años, la producción de biodiésel a partir de algas ha sido un área de considerable interés. Sin embargo, deben abordarse varios retos para permitir la producción comercial de diésel en una escala suficiente para hacer una contribución significativa a nuestras necesidades de energía para el transporte. La optimización de la producción de la biomasa de algas y el contenido en triacilglicéridos se pueden considerar estrategias recientes ideadas para abordar algunos de estos desafíos (Scott et al., 2010; Zeng et al., 2015; Brennan y Owende 2010; Chen et al., 2010).

7.1 DESARROLLO DEL BIOCOMBUSTIBLE ALGAL.

En cada etapa, hay muchos factores a tener en cuenta y que deben ser optimizados, incluyendo la energía y los insumos materiales (por ejemplo, nutrientes y energía para la mezcla durante el crecimiento), y el tratamiento adecuado de los residuos, como los medios empleados y la biomasa residual (Scott et al., 2015)

7.1.1 ELECCIÓN DE LA CEPALGAL.

Una consideración clave es la elección de la cepa de algas. Hay muchos programas de proyección que examinan especies de algas en diferentes lugares para la elección de cepas adecuadas, frecuentemente basados en los estudios pioneros de Sheehan et al., 1998 en el Programa de Especies Acuáticas de Estados Unidos durante los años 1980 y 1990. Complementando esto, la mayor parte del trabajo de investigación actual se centra en un pequeño número de especies de rápido crecimiento para acumular grandes cantidades de lípidos, aunque bajo condiciones específicas. Dentro de las algas verdes encontramos: *Chlamydomonas reinhardtii*, *Dunaliella salina*, y varias especies de *Chlorella*, así como *Botryococcus braunii*. Otro grupo importante es el de las diatomeas, donde destacan: *Phaeodactylum tricornutum* y *Thalassiosira pseudonana* (Scott et al., 2010).

7.1.2 BIOMASA ALGAL Y PRODUCCIÓN DE MOLÉCULAS DE COMBUSTIBLE.

Hay metodologías de recolección y procesado bien establecidas que se pueden llevar a cabo económicamente, aunque esencialmente sin tener en cuenta los requerimientos energéticos. Desafortunadamente, como producto de valor relativamente bajo que se produce a gran escala, es necesario un enfoque diferente para el biodiésel a base de algas. El principal reto es asegurar que no se

gasta más energía de la que se obtiene en el producto final de combustible (Scott et al., 2010; Chen et al., 2015).

Para el crecimiento de algas para biocombustibles, las preocupaciones particulares son (Scott et al., 2010):

1. Si los biorreactores cerrados o abiertos son factibles.
2. Las estrategias que deben adoptarse para evitar la contaminación por organismos adventicios.
3. Cómo deben ser suministrados los nutrientes y el CO₂ en el cultivo.

7.1.3 COSECHADO Y EXTRACCIÓN.

La biomasa debe ser cosechada y procesada para liberar productos tales como triacilglicéridos, que pueden ser transesterificados para producir biodiésel. La dificultad radica en la liberación de los lípidos de su localización intracelular de la manera más eficiente energética y económicamente posible, evitando el uso de grandes cantidades de disolvente (como el hexano) y la utilización de la mayor cantidad posible de carbono en la biomasa como biocombustible líquido con la recuperación de productos menores de alto valor. Un requisito clave es que el aceite se libere y extraiga sin contaminación significativa por otros componentes celulares, tales como ADN o clorofila. Hay mucho margen de trabajo para los enfoques basados en la descomposición selectiva de la pared celular, posiblemente utilizando enzimas, y nuevos enfoques minimizando el uso de disolventes (Scott et al., 2010; Zeng et al., 2015).

7.1.4 PROCESADO FINAL Y USO DE PRODUCTOS SECUNDARIOS.

La conversión de los triacilglicéridos extraídos en biodiésel utiliza transesterificación con metanol para dar los ésteres metílicos de los ácidos grasos presentes. Esta es, a día de hoy, la tecnología industrial estándar. Existen ciertas evidencias de que la composición de los ácidos grasos de triacilglicéridos encontrados en algunas especies sería más alta en ácidos insaturados, lo que se especifica en las normas que rigen la composición permitida de los biocombustibles. El uso del glicerol resultante haría una importante contribución a la economía del proceso (Scott et al., 2010).

7.2 BALANCE GLOBAL DE ENERGÍA.

El análisis del ciclo de vida es un elemento esencial en el diseño de un proyecto de biocombustibles de algas, ya que cuantifica y analiza las cargas ambientales en cada etapa de la producción, desde el crecimiento de la biomasa hasta uso final del combustible. De particular importancia son los usos de combustibles fósiles en la producción y las emisiones asociadas derivadas de CO₂. Se deben minimizar los requerimientos energéticos, como la energía empleada en los materiales de construcción de plantas y nutrientes utilizados, la electricidad suministrada para la mezcla y bombeo y cualquier gas natural utilizado para el secado. Por otra parte, la energía debe ser recuperada de los productos de desecho y

los materiales de desecho deben reutilizarse en el proceso siempre que sea posible (Scott et al., 2010; Brennan y Owende 2010).

7.2.1 ¿FOTOBIORREACTORES CERRADOS O ESTANQUES ABIERTOS?

Una decisión importante es decidir si utilizar fotobiorreactores cerrados o estanques abiertos, principalmente, porque la luz no penetra más de unos pocos centímetros en un cultivo denso de células de algas. La ampliación e intensificación de estos sistemas se basa en el área de superficie, en lugar del volumen como es el caso de fermentaciones heterotróficas. Los estanques abiertos de gran extensión son relativamente baratos de construir y fáciles de operar, pero por el contrario es difícil controlar la contaminación, mantener un medio constante para el cultivo (en particular su temperatura) y se alcanza una baja densidad celular. Debido a estos inconvenientes, se ha prestado mucha atención a los fotobiorreactores cerrados, particularmente con respecto a la productividad de biomasa obtenible. Las configuraciones típicas ensayadas en laboratorio o a escala piloto incluyen reactores verticales, de placa plana, anulares, o disposiciones las bolsas de plástico operadas como lotes y diversas formas de reactor tubular, ya sea bombeado mecánicamente o por elevación de aire. La controversia rodea el coste de la ampliación con las estimaciones del capital y los costes de producción variando ampliamente. La contaminación puede evitarse en fotobiorreactores cerrados, pero sólo si funciona de forma estéril (o al menos higiénica), lo que repercute en los gastos del proceso. En términos de energía, requieren un aporte energético para la mezcla (por ejemplo en el bombeo, o energía utilizada para comprimir gas para el burbujeo) y también emplean mayores cantidades de energía en los materiales de construcción, aunque esto puede ser compensado por la mayor productividad de los sistemas cerrados (Scott et al., 2010; Brennan y Owende 2010; Mata et al., 2010)

7.2.2 PROCESAMIENTO AGUAS ABAJO.

Además del crecimiento de las algas, los impactos de los procesos posteriores sobre el balance de energía también deben ser considerados. El análisis del ciclo de vida del biodiésel producido a partir de *Chlorella vulgaris* cultivada en estanques de rodadura, ya sea con una cantidad suficiente o limitada de nitrógeno, sugiere que la extracción del aceite de las algas con disolvente da lugar a una penalización energética significativa, especialmente si la biomasa se seca antes de la extracción. Para obtener 1 MJ de energía en biodiésel se requiere una entrada de 1,66 MJ de energía, con más de 1,23 MJ potencialmente siendo recuperados de los residuos de algas. Un enfoque sugerido para hacer frente a la cantidad significativa de residuos de biomasa, que contiene la energía y la mayoría del nitrógeno contenido en las células, es el uso de la digestión anaeróbica para convertir la biomasa húmeda en metano y en fertilizante líquido. El reciclaje de biomasa y nutrientes del procesamiento posterior a la instalación de crecimiento de las algas puede ayudar a reducir tanto los gastos y los costes de energía y de suministro de fertilizantes nitrogenados (Scott et al., 2010).

7.3 OPTIMIZACIÓN DEL CRECIMIENTO ALGAL: LA IMPORTANCIA DE LA LUZ.

La producción máxima de biomasa de algas es esencial para asegurar el mejor resultado posible para los cálculos del balance de energía. Aunque la producción de biomasa de muchas especies de algas es muy alta, es importante señalar que está limitada por las leyes de la termodinámica. Se requieren ocho fotones de PAR (i.e., 48% del flujo solar incidente) para fijar una molécula de CO₂ en hidratos de carbono, lo que resulta en una eficiencia fotosintética máxima de aproximadamente 12% (sin incluir la respiración). Sin embargo, cuando se tiene en cuenta la respiración, la eficiencia fotosintética cae al 9%. Bajo cortos periodos de tiempo y condiciones favorables (de niveles de iluminación bajos a moderados) se obtienen eficiencias entre 4,5-7%, típicas en estanques abiertos y fotobiorreactores, lo que se traduce en un rendimiento de 30-40 g de biomasa seca por metro cuadrado de estanque por día (Scott et al., 2010)

Independientemente del método usado para hacer crecer la biomasa de algas, una consideración importante es la necesidad de suministro de luz óptima para todas las células dentro del cultivo. El aparato fotosintético consta de fotosistemas I y II (PSI y PSII), donde se utiliza la energía de la luz para las reacciones fotoquímicas. Está rodeado de complejos receptores de la energía de la luz que la transportan a los fotosistemas. Las algas han evolucionado para absorber más luz de la que necesitan para sus requisitos fotosintéticos. La energía de la luz en exceso se disipa en forma de calor y fluorescencia. Mientras que confiere ventaja evolutiva, resulta en una reducción significativa en la cantidad de luz PAR que puede penetrar en cultivos densos, de modo que las profundidades óptimas son unos pocos centímetros. También se ha estimado que puede causar una reducción de la producción en peso seco de tres veces o más. Por otra parte, para altos niveles de luz no sólo no hay un uso menos eficiente de la energía de la luz absorbida, sino que también puede dañar bioquímicamente la maquinaria fotosintética (fotoinhibición), por lo que la utilización de energía de la luz es incluso menos eficiente. Por lo tanto, las eficiencias fotosintéticas más altas se realizan a bajas intensidades de luz (Scott et al., 2010; Chen et al., 2015)

7.4 AUMENTO DEL CONTENIDO DE TRIACILGLICÉRIDOS EN ALGAS.

La producción de biodiésel a partir de algas depende tanto de la concentración de biomasa como del contenido en aceite de las células. En general, la productividad y el contenido de lípidos están inversamente correlacionados. Además, las condiciones de estrés como la privación de nitrógeno o fósforo, que limitan el crecimiento celular, también aumentan el contenido en lípidos. Por ejemplo, mientras que el contenido en lípidos de *Chlorella vulgaris* cultivada con suficientes nutrientes está entre 14-30% del peso seco, se pueden alcanzar valores de hasta 70% de la biomasa seca bajo la deficiencia de nutrientes. Ello se debe a que no hay nitrógeno suficiente para la producción de proteínas necesarias para el crecimiento y el exceso de carbono de la fotosíntesis se canaliza en moléculas de almacenamiento, tales como triacilglicéridos o almidón (Scott et al., 2010).

7.4.1 INGENIERÍA METABÓLICA COMO VÍA DE PRODUCCIÓN DE LÍPIDOS.

Con la llegada de las secuencias del genoma y de herramientas moleculares para las algas, existe la posibilidad de que la ingeniería metabólica pueda proporcionar importantes y significativas mejoras para la producción de biodiésel a partir de algas. Una posibilidad sería mediante el aumento de los rendimientos de los triacilglicéridos o mediante soluciones proporcionadas por la ingeniería para nuevas moléculas de biocombustibles. Por ejemplo, la introducción del monoterpene sintasa en *Saccharomyces cerevisiae* dio como resultado una cepa que además de sintetizar grandes cantidades del monoterpene geraniol, también lo secretaba en el medio, evitando así la necesidad de extracción. En plantas superiores, varios estudios han explorado los efectos de la sobreexpresión de las enzimas de la síntesis de lípidos sobre la producción de triacilglicéridos. Observándose poca alteración en el contenido de aceite en las plantas con niveles elevados de acetil-CoA carboxilasa (paso limitante en la biosíntesis de ácido graso) posiblemente debido a la compleja regulación de esta enzima. Por el contrario, la sobreexpresión de tioesterasas para fomentar la salida de ácidos grasos desde el cloroplasto al citosol (donde se sintetizan los triacilglicéridos), y de las enzimas de la producción de triacilglicéridos, (como diacilglicerol aciltransferasa), tuvieron mucho más éxito en el aumento del rendimiento de las moléculas de combustible. En la actualidad, estamos lejos de comprender plenamente la biología molecular y la regulación del metabolismo de los lípidos en algas, y aunque la bioinformática de genomas secuenciados de algas indica que estas vías se pueden llevar a cabo, ha habido poca verificación experimental de las actividades enzimáticas supuestas. (Scott et al., 2010; Brennan y Owende 2010).

8 PROYECTO ALL-GAS. UN CASO DE ESTUDIO EN ESPAÑA.

8.1 DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO.

Como se ha comentado anteriormente, las microalgas pueden tener un papel fundamental en el futuro de la valorización de las aguas residuales. Es por esto que Aqualia, consciente de este hecho, ha desarrollado un proceso de reutilización de aguas residuales mediante el cultivo de algas-bacterias. Para el desarrollo de esta prometedora tecnología, Aqualia ha desarrollado en la depuradora de El Torno en Chiclana de la Frontera (Cádiz), cinco proyectos de investigación, desarrollo y demostración: FP7 ALL-GAS, CENIT VIDA, FP7 SWAT, INNPACTO DOWSTREAM e INNPRONTA ITACA. Estos proyectos plantean sustituir las tecnologías de depuración mediante fangos activados, por un nuevo sistema con balance energético positivo y obtención simultánea de productos de valor a partir de la biomasa generada (de Godos et al., 2013).

En concreto, el proyecto ALL-GAS se enmarca dentro del Séptimo Programa Marco (FP7) de la Comunidad Europea y de la Directiva de Energías Renovables 2009/28, que prevé en la UE un 20 % de reducción en las emisiones de Gases de Efecto Invernadero (por debajo de los niveles de 1990) y que un 20% del consumo de energía en la UE se obtenga de fuentes renovables. El proyecto tiene un presupuesto de 11,8 M€, con 60% de subvención de la UE, y será llevado a cabo por un consorcio formado por 5 empresas (originarias de España, Holanda, Austria, Reino Unido y Alemania) que aportan

su experiencia en los distintos campos de actuación y un comité de expertos Internacionales (de EEUU, Nueva Zelanda, Reino Unido y la Universidad de Almería en España). En la Figura 11 se puede observar el planteamiento general del proyecto.

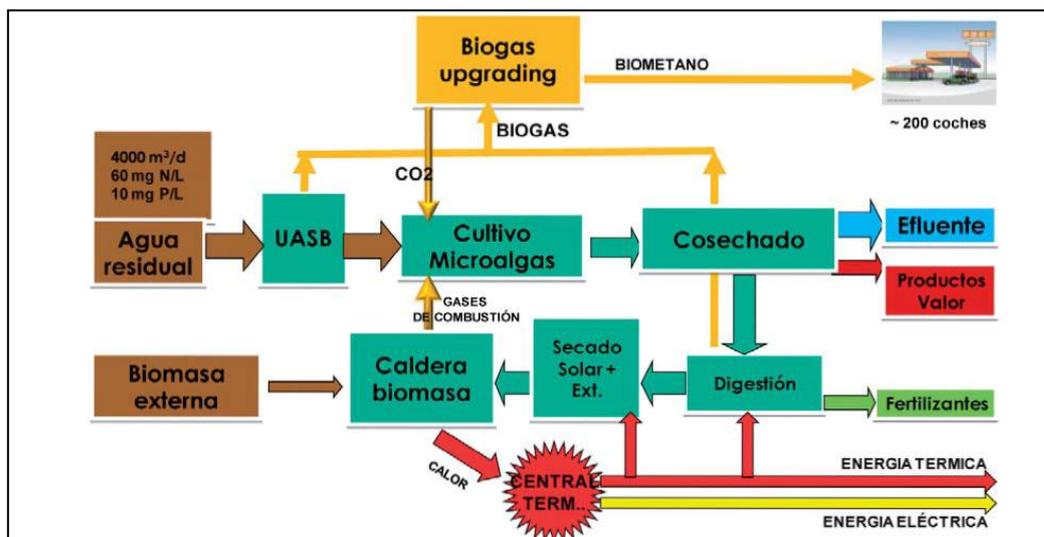


Figura 11. Planteamiento general Proyecto ALL-GAS (de Godos et al., 2013).

8.2 OBJETIVOS.

Los objetivos del proyecto ALL-GAS son los siguientes (de Godos et al., 2013):

1. Demostrar a escala industrial (10 hectáreas) el cultivo de algas con un balance energético positivo.
2. Utilización de los nutrientes procedentes de aguas residuales para este cultivo de algas, evitándose de esta forma el aporte fertilizantes inorgánicos al cultivo. Habitualmente se estima que un 30% del coste de producción de los biomasa en fotobiorreactores es debido al aporte de fertilizantes al sistema.
3. Producción de biocombustibles (biogás) a partir de las aguas residuales. Su destino sería una flota de vehículos demostrativa.
4. Valorización de las algas no sólo energéticamente, sino con productos de alto valor añadido (biofertilizantes, proteína para nutrición animal, farmacéutico, cosmético, dietético, pigmentos, etc).

Para garantizar el éxito final del proyecto, previamente a la instalación definitiva a escala industrial, se está realizando un intensivo plan de investigación, por lo que el proyecto se desarrollará en tres fases (de Godos et al., 2013):

1. **Fase piloto:** Investigación a pequeña escala para obtener parámetros básicos de dimensionado. Se desarrolla durante los dos primeros años, estando actualmente en curso.

2. **Fase prototipo:** Investigación a escala real, implicando la construcción de una planta prototipo con unidades de tratamiento a un tamaño de escala más próximo al real. Este tamaño permite minimizar el riesgo del escalado hasta la planta industrial demostrativa, gracias a la obtención de parámetros de diseño hidráulicos y energéticos fundamentales. Se desarrolla durante el tercer año del proyecto. Actualmente en construcción.
3. **Planta industrial:** Desarrollo a escala real. Del año 3 al año 5.

El objetivo final es la implantación de una depuradora con un cultivo de algas de 10 ha, formada por lagunas con superficie unitaria igual o superior a 4500 m². La instalación será capaz de tratar un caudal de 3000-5000 m³/día de agua residual, equivalente a una depuradora de capacidad de 15.000-25.000 habitantes equivalentes, y se evaluará en qué condiciones se alcanzarían los parámetros de vertido según el RD 1620/2007 (de Godos et al., 2013).

8.3 DISEÑO A ESCALA INDUSTRIAL.

Como se observa en la Figura 12, el agua residual procedente de la planta depuradora, tras el desarenado-desengrasado será bombeada a la nueva instalación. Las unidades de proceso serían las siguientes (de Godos et al., 2013):

1. **Pretratamiento anaerobio mediante reactores del tipo UASB de las aguas residuales.**
2. **Cultivo de algas.** Mediante lagunas abiertas de alto rendimiento (HRAP), con inyección de CO₂ y sistema de agitación.
3. **Cosechado de algas.** Mediante sistema de flotación por aire disuelto.
4. **Digestores anaerobios de algas generadas.**
5. **Deshidratación y posible utilización como biofertilizantes.** Se estudian distintos sistemas, como filtro prensa, centrifugación y membranas a presión.
6. **Secado solar de la biomasa.** Mediante un equipo tipo invernadero con volteador de fangos y ventiladores de extracción y recirculación de aire.
7. **Caldera de biomasa.** A partir de biomasa externa limpia como hueso de aceituna para la generación del CO₂ adicional necesario para el cultivo de algas.
8. **Tratamiento del biogás generado.** Separación en sus dos componentes principales (CH₄ y CO₂) para su uso en una estación de servicio (biometano) y como fuente de carbono para el cultivo de algas (CO₂).

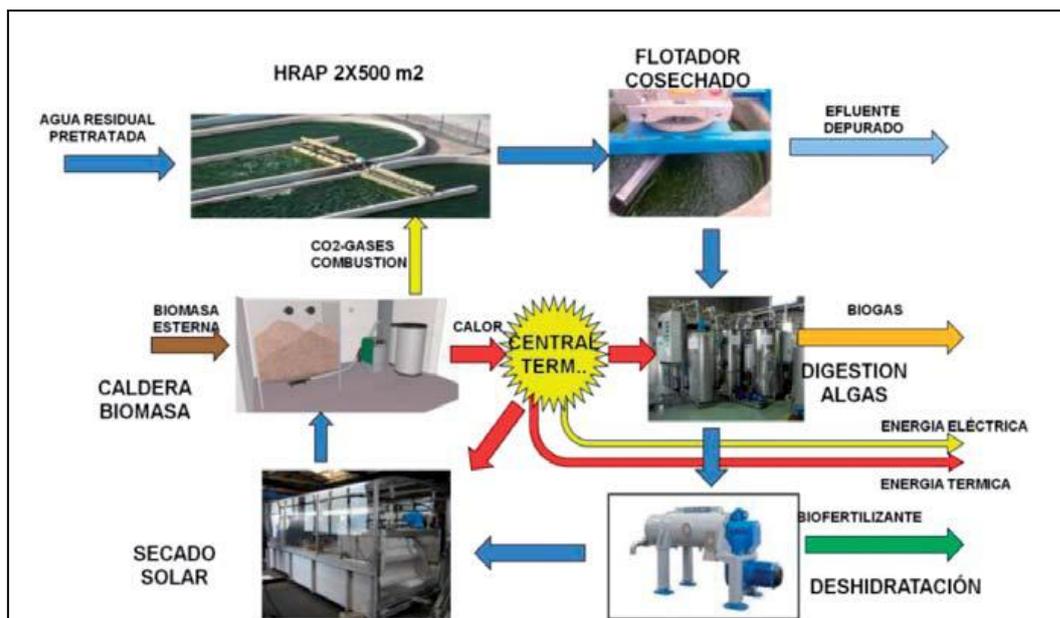


Figura 12. Planta Prototipo Proyecto All-gas (de Godos et al., 2013).

9 CONCLUSIONES.

Después de revisar una gran cantidad de artículos y estudios, podemos afirmar que el potencial de las microalgas para el tratamiento de las aguas residuales y la producción de biodiésel es enorme. Además, se postula como una tecnología para la sustitución progresiva de los combustibles fósiles. Otra consideración importante sería que si no se realiza una evaluación cuidadosa de los balances de energía y los impactos ambientales, existe el peligro de que muchos esquemas propuestos no tengan sentido desde el punto de vista de la sostenibilidad. Es cierto que, en la actualidad, estamos todavía un poco lejos de alcanzar este indudable potencial ofrecido por estos organismos, ya que esta tecnología está limitada por su enorme consumo de recursos y su alto coste. Es por esto que, la combinación del cultivo de algas con el tratamiento de aguas residuales es una opción real para hacer que el cultivo de microalgas sea más rentable debido a que, durante el crecimiento fotosintético, incorporan los nutrientes contenidos en las aguas residuales, siendo recuperados en el cosechado posterior.

Por otro lado, la producción de biocombustible está restringida por la estabilidad y la productividad del cultivo, por ello, la selección de cepas de alta productividad de lípidos adaptadas a las condiciones climáticas locales será de vital importancia. Por esta razón, la mejor opción podría ser la selección de especies nativas en un proceso de cultivo de dos etapas con la proliferación celular y la producción de lípidos llevada a cabo en fases separadas, obteniendo como resultado una alta productividad de lípidos.

Indudablemente todavía quedan retos que superar en este campo, pero el margen de mejora y optimización es muy amplio. Apostando por el desarrollo y la innovación mediante la integración de la ingeniería y la biología estaremos en el camino de hacer posible la consolidación de esta tecnología capaz de cambiar nuestra forma de vida.

10 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- Bosma, R., van Spronsen, W. A., Tramper, J., Wijffels, R.H. (2003) Ultrasound, a new separation technique to harvest microalgae. *Journal of Applied Phycology*, 15(2):143–53.
- Brennan, L., Owende, P. (2010) Biofuels from microalgae. A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14: 557-577.
- Chen, G., Zhao, L., Qi, Y. (2015) Enhancing the productivity of microalgae cultivated in wastewater toward biofuel production: A critical review. *Applied Energy*, 137: 282-291.
- Dahiya, A. (2012) Integrated approach to algae production for biofuel utilizing robust algal species. En: Gordon, R., Seckbach, J. (Eds.) *The Science of Algal Fuels*. Springer Science+Business Media: Dordrecht (Holanda), pp. 85-100.
- Dahiya, A. (2015) Algae biomass cultivation for advanced biofuel production. En: Dahiya, A. (Ed.) *Bionergy. Biomass to Biofuels*. Academic Press: Amsterdam (Holanda), pp. 219-238.
- de Godos, I., Arbib, Z., Ferial, J.M., Lara, E., Santiago, R.J., Rogalla, F., Fernández, M., de la Rubia, M. (2013) Proyecto All-gas. Cultivo de microalgas con producción de biocombustibles y eliminación de nutrientes. *Retema, Especial Bioenergía*, 169: 56-62.
- Divakaran, R., Pillai, V.N.S. (2002) Flocculation of algae using chitosan. *Journal of Applied Phycology*, 14(5):419–22.
- FAO (2006) *Cultivo de bivalvos en criadero. Un manual práctico. FAO Documento Técnico de Pesca. No. 471*. Food and Agriculture Organization (FAO) de las Naciones Unidas: Roma (Italia).
- Knuckey, R.M., Brown, M.R., Robert, R., Frampton, D.M.F. (2006) Production of microalgal concentrates by flocculation and their assessment as aquaculture feeds. *Aquacultural Engineering*, 35(3):300–13.
- Ma, F., Hanna, M.A. (1999) Biodiesel production: a review. *Bioresource Technology*, 70: 1-15.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., Dunlap, P.V., Clark, D.P. (2009) Brock. *Biología de los microorganismos*, 12ª edición. Pearson: Madrid.
- Mata, T., Martins, A., Caetano, N. (2010) Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14:237-232.
- Mohn, F. H. (1980) Experiences and strategies in the recovery of biomass in mass culture of microalgae. En: Shelef, G., Soeder, C.J. (Ed.). *Algal biomass*. Amsterdam (Holanda): Elsevier; pp. 547–71.

DR 1620/2007. Real Decreto 1620/2007, de 7 de diciembre, por el que se establece el régimen jurídico de la reutilización de las aguas depuradas. Boletín Oficial del Estado (BOE), nº 294 de 08 de Diciembre de 2007.

Rodolfi, L., Zittelli, G.C., Bassi, N., Padovani, G., Biondi, N., Bonini, G., Tredici, M.R. (2008). Microalgae for oil: strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor. *Biotechnology and Bioengineering*, 102(1):100–112.

Scott, S.A., Davey, M.P., Dennis, J.S., Horst, I., Howe C.J., Lea-Smith, D.J., Smith, A.G. (2010) Biodiesel from algae: challenges and prospects. *Current Opinion in Biotechnology*, 21:277–286.

Setlik, I., Veladimir, S., Malek, I. (1970). Dual purpose open circulation units for largescale culture of algae in temperate zones. I. Basic design considerations and scheme of a pilot plant. *Algological Studies/Archiv für Hydrobiologie, Supplement Volumes*, 1: 111 - 164

Xu, H., Miao X., Wu, Q. (2006) High quality biodiesel production from a microalga *Chlorella protothecoides* by heterotrophic growth in fermenters. *Journal of Biotechnology*, 126: 499–507

Zeng, X., Guo, X., Su, G., Danquah, M.K., Zhang, S., Lu, Y., Sun, Y, Lin, L. (2015) Bioprocess considerations for microalgal-based wastewater treatment and biomass production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 42:1385–1392.

Sheehan J, Dunahay T, Benemann J, Roessler PG: US Department of Energy's Office of Fuels Development, July 1998. *A look back at the US Department of Energy's Aquatic Species Program – Biodiesel from Algae*, Close Out Report TP-580-24190. Golden, CO: National Renewable Energy Laboratory; 1998.

10.1 PÁGINAS WEB CONSULTADAS.

Algae Basics - All About algae. Última visita: Junio 2015. URL: <http://allaboutalgae.com/algae-basics-photos/>

Arizona Center for Algae Technology and Innovation (AzCATI). Última visita: Junio 2015. URL: <http://www.azcati.com/>

Algaenergy. Última visita: Junio 2015. URL: <http://www.algaenergy.es/>

Algae Industry Magazine. Última visita: Junio 2015. URL: <http://www.algaeindustrymagazine.com/using-algae-produce-specialty-oils/>

Bbi-biotech. Última visita: Junio 2015. URL: <http://bbi-biotech.com/>