



**Universidad de Valladolid**



**ESCUELA DE INGENIERÍAS  
INDUSTRIALES**

**UNIVERSIDAD DE VALLADOLID**

**ESCUELA DE INGENIERIAS INDUSTRIALES**

**Grado en Ingeniería Química**

**Estudio del potencial de fotobiorreactores  
tubulares para la captura de CO<sub>2</sub> de gases de  
combustión y conversión de biogás a biometano.**

**Autor:**

**Morales Blanco, Tamara**

**Tutores:**

**Muñoz Torre, Raúl  
Lebrero Fernández, Raquel**

**Cotutor:**

**Toledo Cervantes, Alma Lilia**

**Ingeniería Química y Tecnología del Medio Ambiente**

**Valladolid, Julio de 2017.**





## ÍNDICE

<i>Índice de figuras</i> .....	6
<i>Índice de tablas</i> .....	8
<i>Resumen</i> .....	9
<i>Abstract</i> .....	10
<b>1. Introducción</b> .....	<b>11</b>
1.1. <i>Contexto energético ambiental</i> .....	12
1.1.1. <i>Contexto mundial</i> .....	12
1.1.2. <i>Contexto nacional</i> .....	14
1.1.3. <i>Emisiones de GEIs</i> .....	15
1.1.4. <i>Energías renovables</i> .....	19
1.2. <i>Problemática del biogás</i> .....	20
1.2.2. <i>Procesos biológicos de limpieza de biogás a biometano (upgrading)</i> .....	25
1.2.3. <i>Legislación vigente</i> .....	29
1.3. <i>Problemática de los gases de combustión</i> .....	31
1.4. <i>Fundamentos de tecnología de los microorganismos</i> .....	34
1.4.1. <i>Microalgas</i> .....	34
1.4.2. <i>Interacciones microalga-bacteria</i> .....	43
1.5. <i>Aguas residuales</i> .....	45
1.5.1. <i>Problemática de las aguas residuales</i> .....	45
1.5.2. <i>Integración del tratamiento de aguas residuales en el proceso</i> .....	46
1.6. <i>Sistema de estudio</i> .....	47
<b>2. Objetivos</b> .....	<b>48</b>
2.1. <i>Objetivo general</i> .....	49
2.2. <i>Objetivos específicos</i> .....	49
<b>3. Materiales y Métodos</b> .....	<b>50</b>
3.1. <i>Inóculo y medio mineral</i> .....	51



3.1.1. <i>Microalgas</i> .....	51
3.1.2. <i>Propagación y medio de cultivo</i> .....	52
3.2. <i>Sistema experimental</i> .....	53
3.2.1. <i>Suministro de gas con CO<sub>2</sub></i> .....	56
3.2.2. <i>Cámara de mezcla</i> .....	56
3.2.3. <i>Fotobiorreactor tubular cerrado</i> .....	57
3.2.4. <i>Bombas</i> .....	58
3.2.5. <i>Columna de absorción</i> .....	59
3.3. <i>Diseño experimental</i> .....	62
3.4. <i>Procedimientos analíticos</i> .....	64
3.4.1. <i>Temperatura, pH y concentración de oxígeno disuelto</i> .....	65
3.4.2. <i>Flujo de efluente</i> .....	65
3.4.3. <i>Determinación de la biomasa</i> .....	65
3.4.4. <i>Análisis de la composición de gases</i> .....	66
3.4.5. <i>Análisis del carbono y el nitrógeno</i> .....	66
3.4.6. <i>Concentración de aniones</i> .....	67
3.4.7. <i>Perfil bioquímico</i> .....	67
3.5. <i>Definición de los parámetros de rendimiento del sistema</i> .....	69
3.5.1. <i>Flujo de gas de entrada y salida</i> .....	69
3.5.2. <i>Cálculo de eficiencias de eliminación</i> .....	70
3.5.3. <i>Alimentación del medio de cultivo</i> .....	71
4. <i>Resultados y Discusión</i> .....	72
4.1. <i>Selección de la relación L/G óptima para la columna de absorción</i> .....	73
4.2. <i>Selección de la velocidad de recirculación óptima de medio por el fotobiorreactor</i>	75
4.3. <i>Etapa 1</i> .....	75
4.4. <i>Etapa 2</i> .....	80
4.5. <i>Etapa 3</i> .....	85
4.6. <i>Comparativa entre experimentos</i> .....	90
4.7. <i>Etapa 4</i> .....	94



5. Conclusiones..... 96

6. Referencias..... 99



## Índice de figuras

<i>Figura 1.1. Reservas de Petróleo (TEP x 10<sup>9</sup>)</i> .....	12
<i>Figura 1.2. Evolución del consumo de energía primaria en el mundo (1990-2011).</i> .....	13
<i>Figura 1.3. Distribución del consumo de energía primaria en el mundo por fuentes en el año 2011</i> .....	14
<i>Figura 1.4. Evolución del consumo de energía en España por fuentes (1990-2012).</i> .....	14
<i>Figura 1.5. Importaciones y autoabastecimiento de España, 2012.</i> .....	15
<i>Figura 1.6. Papel atmosférico en el efecto invernadero natural</i> .....	16
<i>Figura 1.7. Porcentaje GEIs en la atmósfera y procedencia.</i> .....	18
<i>Figura 1.8. Producción de biogás como energía primaria en la UE en 2013.</i> .....	22
<i>Figura 1.9. Evolución del número de plantas de biogás en Europa.</i> .....	23
<i>Figura 1.10. Evolución del número de plantas de biometano en Europa.</i> .....	24
<i>Figura 1.11. Estimación de costes de Gas Natural, Diesel A y Biometano.</i> .....	26
<i>Figura 1.12. Mecanismos simbióticos durante el upgrading.</i> .....	28
<i>Figura 1.13. Mejora del biogás mediante cultivo de microalgas</i> .....	29
<i>Figura 1.14. Aspecto de la Torre Eiffel (izquierda agosto 2012, derecha actualidad).</i> .....	31
<i>Figura 1.15. Emisiones de CO<sub>2</sub> en China, Estados Unidos y Unión Europea desde 1965 ..</i>	32
<i>Figura 1.16. Diez países con más emisiones de CO<sub>2</sub>.</i> .....	33
<i>Figura 1.17. Reparto geográfico de permisos europeos de emisión industrial CO<sub>2</sub> (%)</i> .....	34
<i>Figura 1.18. Estanques de cultivo.</i> .....	37
<i>Figura 1.19. Fotobiorreactores tubulares y cerrados.</i> .....	38
<i>Figura 1.20. Spirulina, Dunaliella y Chlorella vistas al microscopio.</i> .....	40
<i>Figura 1.21. Producción de biomasa de microalgas y de biocombustibles.</i> .....	42
<i>Figura 1.22. Diagrama esquemático de la simbiosis en consorcios algal-bacterianos durante el tratamiento de aguas residuales domésticas.</i> .....	43
<i>Figura 1.23. Interacciones entre microalgas y bacterias durante el tratamiento de aguas residuales en fotobiorreactores algal-bacterianos.</i> .....	45
<i>Figura 1.24. Vista aérea de una EDAR.</i> .....	46
<i>Figura 3.25. Chlorella sorokiniana al microscopio</i> .....	51
<i>Figura 3.26. Diagrama del sistema experimental para tratamiento de biogás sintético .</i>	54
<i>Figura 3.27. Diagrama del sistema experimental para el tratamiento de gases de combustión</i> .....	55
<i>Figura 3.28. Difusor metálico de burbujeo para la corriente gaseosa.</i> .....	55
<i>Figura 3.29. Cámara de mezcla hermética.</i> .....	57
<i>Figura 3.30. Fotobiorreactor tubular</i> .....	58
<i>Figura 3.31. Columna de absorción</i> .....	60
<i>Figura 3.32. Vista general del sistema experimental</i> .....	61
<i>Figura 3.33. Recta de calibrado para la determinación de carbohidratos.</i> .....	68
<i>Figura 3.34. Recta de calibrado para la determinación de proteínas</i> .....	68



<i>Figura 4.35. Influencia de la relación L/G en la eficiencia de eliminación de CO<sub>2</sub> (a) y H<sub>2</sub>S (b) y en la concentración de O<sub>2</sub> (c) durante los ensayos de transferencia.....</i>	<i>74</i>
<i>Figura 4.36. Oxígeno disuelto y pH de la Etapa 1 .....</i>	<i>76</i>
<i>Figura 4.37. Sólidos suspendidos totales de la Etapa 1 .....</i>	<i>77</i>
<i>Figura 4.38. Composición del caldo de cultivo de la Etapa 1 .....</i>	<i>78</i>
<i>Figura 4.39. Composición del gas a la salida de la columna de absorción en la Etapa 1 ..</i>	<i>79</i>
<i>Figura 4.40. Eficiencia de eliminación de CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>S en la Etapa 1.....</i>	<i>79</i>
<i>Figura 4.41. Temperaturas de la Etapa 2 .....</i>	<i>81</i>
<i>Figura 4.42. Oxígeno disuelto y pH de la Etapa 2 .....</i>	<i>81</i>
<i>Figura 4.43. Sólidos suspendidos totales de la Etapa 2 .....</i>	<i>82</i>
<i>Figura 4.44. Composición del caldo de cultivo de la Etapa 2 .....</i>	<i>83</i>
<i>Figura 4.45. Concentración de aniones del caldo de cultivo de la Etapa 2 .....</i>	<i>83</i>
<i>Figura 4.46. Composición del gas a la salida en la Etapa 2 .....</i>	<i>84</i>
<i>Figura 4.47. Eficiencia de eliminación de CO<sub>2</sub> en la Etapa 2 .....</i>	<i>84</i>
<i>Figura 4.48. Oxígeno disuelto y pH de la Etapa 3 .....</i>	<i>86</i>
<i>Figura 4.49. Sólidos suspendidos totales de la Etapa 3 .....</i>	<i>86</i>
<i>Figura 4.50. Composición del caldo de cultivo de la Etapa 3 .....</i>	<i>87</i>
<i>Figura 4.51. Concentración de aniones del caldo de cultivo de la Etapa 3.....</i>	<i>88</i>
<i>Figura 4.52. Composición del gas a la salida en la Etapa 3 .....</i>	<i>89</i>
<i>Figura 4.53. Eficiencia de eliminación de CO<sub>2</sub> en la Etapa 3 .....</i>	<i>89</i>
<i>Figura 4.54. Comparación de Temperatura, pH y OD entre etapas .....</i>	<i>91</i>
<i>Figura 4.55. Comparación SST, efluente, productividad y evaporación entre etapas.....</i>	<i>92</i>
<i>Figura 4.56. Comparación de la composición del caldo de cultivo entre etapas .....</i>	<i>93</i>
<i>Figura 4.57. Comparación de eficacia del sistema entre etapas .....</i>	<i>94</i>



## Índice de tablas

<i>Tabla 1.1. Gases de efecto invernadero antrópicos .....</i>	<i>17</i>
<i>Tabla 1.2. Objetivos de la UE para reducir las emisiones de gases efecto invernadero. ....</i>	<i>19</i>
<i>Tabla 1.3. Composición del biogás en función de su procedencia .....</i>	<i>20</i>
<i>Tabla 1.4. Principales Gases de Efecto Invernadero. ....</i>	<i>22</i>
<i>Tabla 1.5. Especificaciones de calidad del gas procedente de fuentes no convencionales introducido en el Sistema Gasista .....</i>	<i>30</i>
<i>Tabla 1.6. Composición Chlorella sp. L1 y M. dybowskii Y2 bajo diferentes intensidades de luz Contenido de lípidos (LC), productividad de la biomasa (BP), productividad de lípidos (LP) y contenido de proteínas, carbohidratos y lípidos .....</i>	<i>36</i>
<i>Tabla 1.7. Comparación entre estanques y FBRs para el cultivo de microalgas.....</i>	<i>39</i>
<i>Tabla 1.8. Posibles aplicaciones de algunas especies de microalgas .....</i>	<i>41</i>
<i>Tabla 3.9. Concentración de nutrientes incorporados como medio de cultivo.....</i>	<i>52</i>
<i>Tabla 3.10. Concentración de micronutrientes incorporados al medio .....</i>	<i>53</i>
<i>Tabla 3.11. Parámetros de seguimiento del sistema.....</i>	<i>63</i>
<i>Tabla 3.12. Masas molares de los compuestos a eliminar.....</i>	<i>70</i>
<i>Tabla 3.13. Medio de cultivo introducido en cada etapa. ....</i>	<i>71</i>
<i>Tabla 4.14. Comparativa de resultados entre etapas .....</i>	<i>90</i>
<i>Tabla 4.15. Resultados del perfil bioquímico en las distintas etapas .....</i>	<i>95</i>



## Resumen

En este estudio se evalúa la eliminación del CO<sub>2</sub> contenido en biogás y gases de combustión mediante su fijación fotosintética en biomasa algal empleando fotobiorreactores tubulares cerrados.

Asimismo, se buscará dar un uso eficiente a aguas residuales, así como evaluar la composición bioquímica de la biomasa algal con distintas estrategias de operación.

Con este objetivo se utilizan sistemas simbióticos de algas y bacterias para eliminar simultáneamente CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>S del biogás, mientras que un consorcio de algas será empleado para el tratamiento de gases de combustión. La eliminación de estos contaminantes se consigue ya que las algas utilizan energía lumínica para fijar CO<sub>2</sub> y producir O<sub>2</sub>, el cual es utilizado por las bacterias para oxidar el H<sub>2</sub>S a SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>.

Los resultados establecen que este sistema alcanza eficacias de eliminación superiores al 99% (superior a reactores abiertos). Por su parte, se confirma que es viable la utilización de centrado como nutriente.

**Palabras clave:** biogás, gas de combustión, fotobiorreactor, microalgas, centrado.



## Abstract

This study assessed the elimination of the CO<sub>2</sub> contained in both biogas and flue gases by photosynthetic fixation in algal biomass using closed tubular photobioreactors.

Likewise, an efficient use of wastewater will be achieved by using this waste stream as nutrient source. Finally, an evaluation of the biochemical composition of the biomass obtained with different algae growth strategies will be performed, targeting the subsequent use of this biomass in the production of biofuels.

For this purpose symbiotic systems of algae and bacteria are used to simultaneously remove CO<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>S from biogas, while a consortium of algae is used for the treatment of flue gases. In this process, algae uses light energy to fix CO<sub>2</sub> and produce O<sub>2</sub>, which is in turn used by bacteria to oxidize H<sub>2</sub>S to a SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>.

The results show that this system achieves elimination efficiencies above 99% (superior to open reactors). For its part, it is confirmed that the use of centrate as a nutrient is feasible.

**Keywords:** biogas, combustion gas, photobioreactor, microalgae, centrate.



# ***1. Introducción***

## 1.1. Contexto energético ambiental

Hoy en día, uno de los mayores problemas energético-ambientales de nuestra sociedad es su dependencia de los combustibles fósiles para la obtención de energía. Estos fueron la fuente de energía principal durante la revolución industrial, pero actualmente presentan dos problemas:

- Además de aumentar el consumo cada año, son recursos finitos y las reservas mundiales se agotarán en un horizonte no muy lejano (especialmente de petróleo).
- La quema de estos combustibles libera a la atmósfera grandes cantidades de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), que es considerado como la causa principal del calentamiento global.

Por estos motivos, se estudian distintas opciones que sustituyan la obtención de energía mediante la oxidación de estos combustibles fósiles por fuentes de energía que carezcan de estos problemas, buscando formas de energía alternativas a las clásicas denominadas energías renovables o verdes.

Asimismo, estas últimas están cobrando mayor importancia a causa del agravamiento del efecto invernadero y el consecuente calentamiento global.

### 1.1.1. Contexto mundial

Mientras que los recursos energéticos son abundantes en el mundo, las reservas de energías primarias de combustibles fósiles son escasas, variables y están repartidas de manera desigual por todo el planeta, tal y como puede verse en la Figura 1.1.

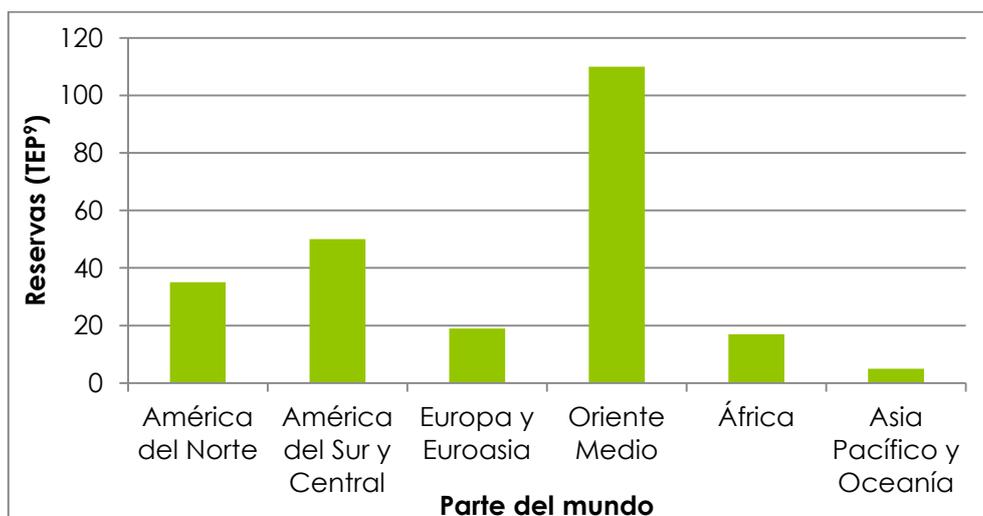
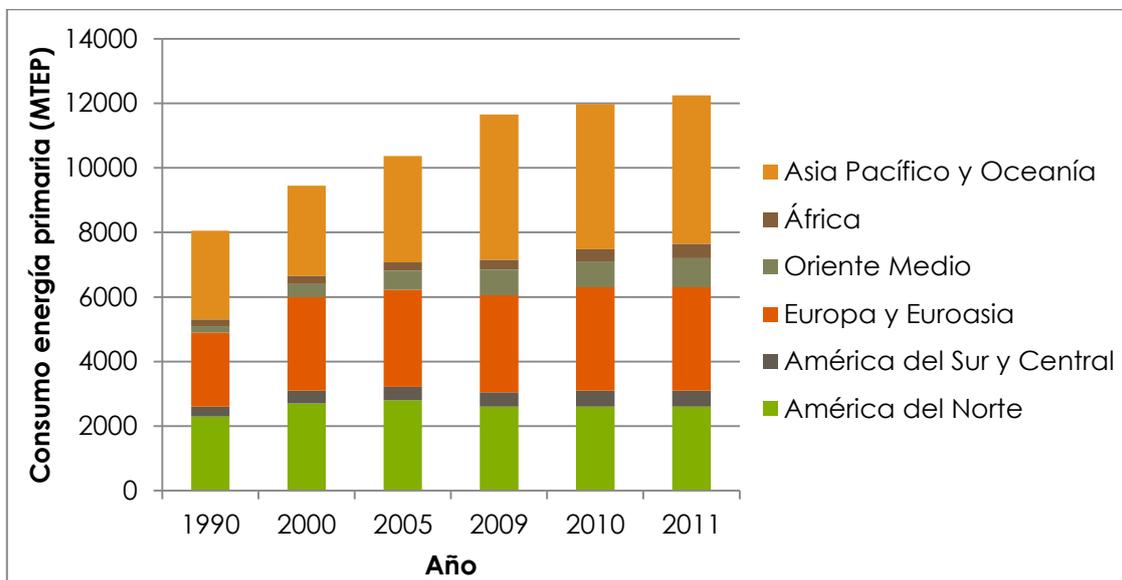


Figura 1.1. Reservas de Petróleo (TEP x 10<sup>9</sup>)  
(Fuente: B.P Statistical Review of World Energy)

En cuanto al daño atmosférico que supone la liberación del dióxido de carbono, hacia los años 70 aparecieron ciertas preocupaciones, dando lugar a una concienciación respecto a los efectos que producen nuestras acciones con las nuevas tecnologías de cara al efecto invernadero y el calentamiento global.

De esta manera, la naturaleza pasó a ser un bien común a nivel mundial, sujeto a derechos y deberes que todos estaríamos obligados a respetar, y gracias a lo cual en la actualidad se ha conseguido una mayor toma de conciencia a nivel internacional, buscando evitar o posponer la "crisis energética", que aparecerá cuando los combustibles fósiles de los que se abastece la sociedad se agoten.

En la Figura 1.2. se puede observar la evolución producida en el consumo de energía primaria en todo el mundo a lo largo de dos décadas (1990-2011).



*Figura 1.2. Evolución del consumo de energía primaria en el mundo (1990-2011).  
(Fuente: B.P Statistical Review of World Energy)*

Cabe destacar que todos los continentes mantienen su nivel de consumo excepto la parte del Pacífico de Asia junto con Oceanía, que ha aumentado espectacularmente en los últimos quince años debido a los incrementos de demanda energética primaria de China e India.

En las zonas más desarrolladas se cuenta con la opción de elegir la fuente de energía, lo cual asegura el suministro y a su vez permite abastecerse de fuentes energéticas más eficientes y menos contaminantes. Por otro lado, en las zonas menos desarrolladas las diferentes energías que se usan vienen determinadas por factores económicos y geográficos, tal y como puede verse en la Figura 1.3.

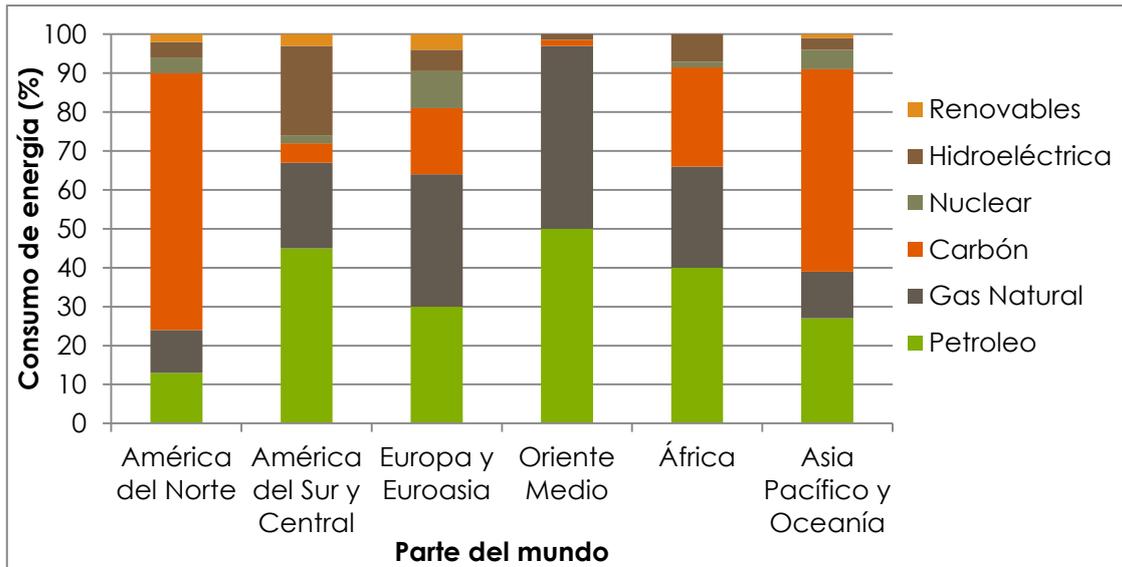


Figura 1.3. Distribución del consumo de energía primaria en el mundo por fuentes en el año 2011  
(Fuente: B.P Statistical Review of World Energy)

### 1.1.2. Contexto nacional

En España el consumo de energía primaria ha aumentado desde los años 90, sin embargo, como puede apreciarse en la Figura 1.4. desde 2007 la utilización de las energías primarias se ha reducido tanto por el alto coste que tiene esta fuente de energía como por la, aunque pequeña, existente concienciación de la población con el medioambiente.

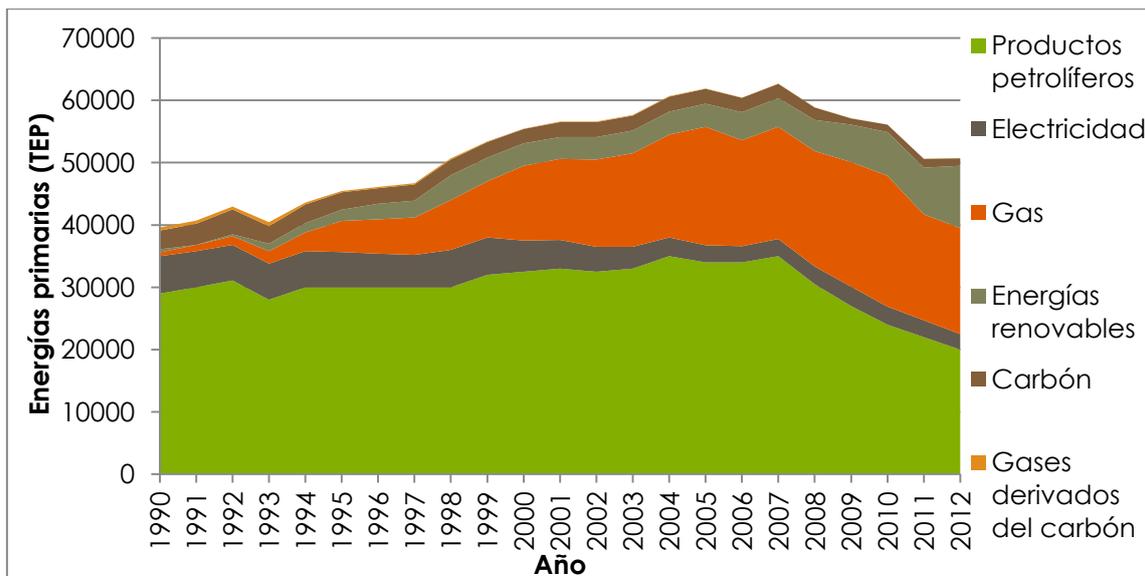


Figura 1.4. Evolución del consumo de energía en España por fuentes (1990-2012).  
(Fuente: MINETUR)

Nuestro país tiene la necesidad de importar casi todo el petróleo y gas natural que consume por encontrarse lejos de los yacimientos. Sin embargo, puede autoabastecerse de uranio y obviamente, de las fuentes de energías renovables, como el agua, el viento y el sol.

En la Figura 1.5. se muestra la proveniencia de las energías que utilizamos en España.

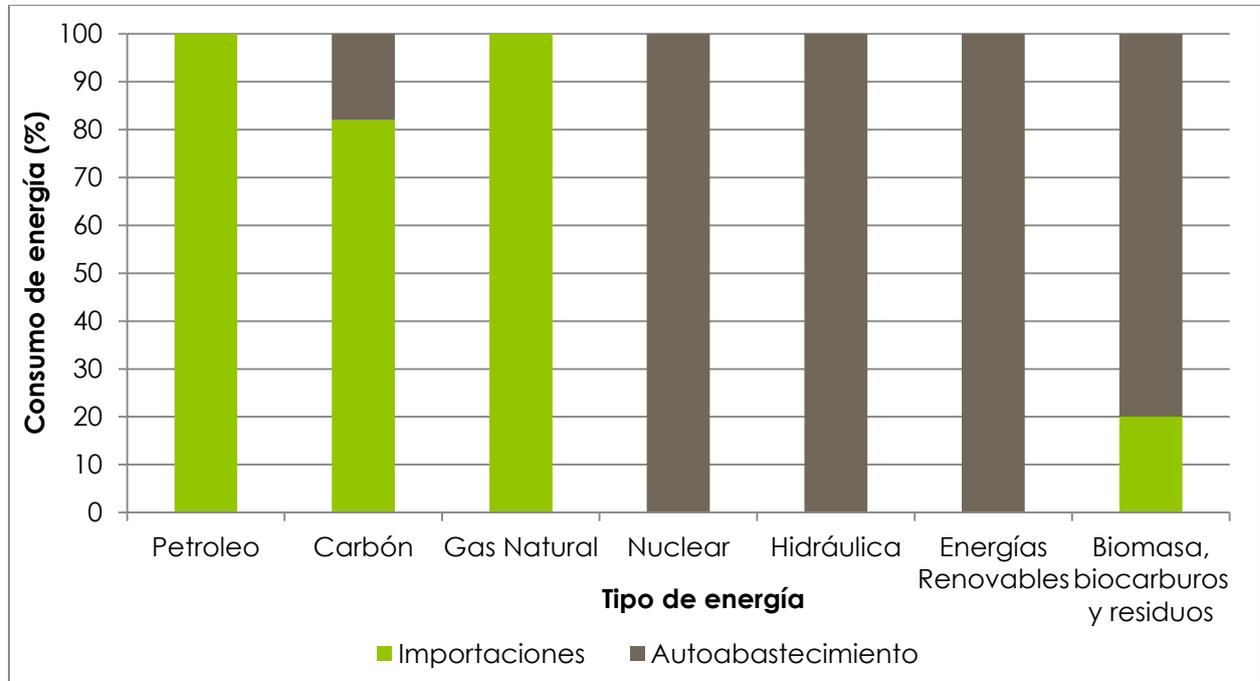


Figura 1.5. Importaciones y autoabastecimiento de España, 2012.  
(Fuente: MINETUR)

### 1.1.3. Emisiones de GEIs

Un gas de efecto invernadero (GEI) es un gas atmosférico que absorbe y emite radiación dentro del rango infrarrojo (longitudes de onda entre 0,7 y 1000  $\mu\text{m}$ ), causando el efecto invernadero.

En la Figura 1.6. se puede ver cómo los rayos solares de manera natural proporcionan energía a la tierra, siendo una parte reflejada directa o indirectamente hacia el espacio mientras que la mayoría es absorbida por la atmósfera o la superficie del globo.

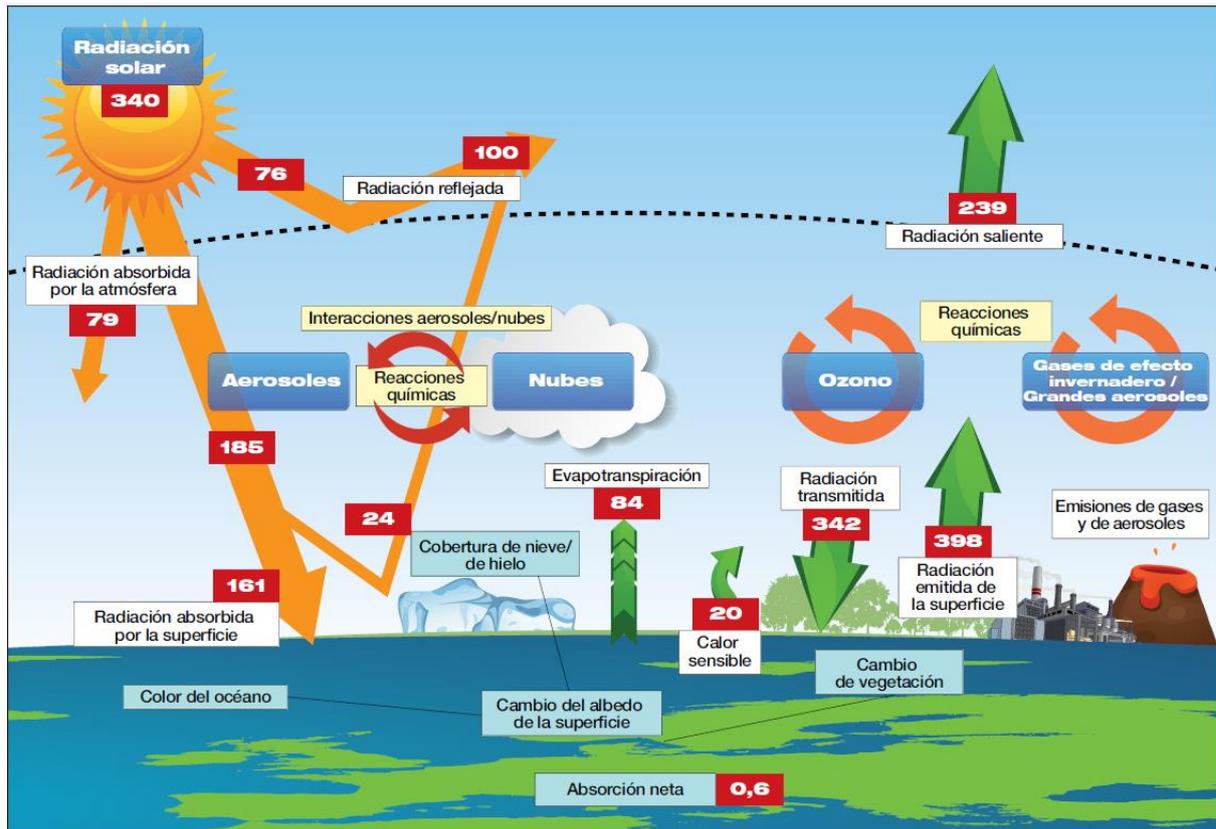


Figura 1.6. Papel atmosférico en el efecto invernadero natural (flujos de energía actuales en W/m<sup>2</sup>) (Fuente: Ministère de l'Écologie, du Développement durable et de l'Énergie)

Desde el inicio de la Revolución Industrial (1750) se ha producido un incremento del 40 % en la concentración atmosférica del CO<sub>2</sub>, desde 280 ppm a las actuales más de 400 ppm, resultando en un aumento de la cantidad de radiación absorbida por la atmósfera y, en consecuencia, de la temperatura de la superficie terrestre.

Si bien el efecto invernadero es una característica natural de nuestra atmósfera que permite el desarrollo de la vida tal y como la conocemos, si se potencia, su efecto puede afectar negativamente a plantas, animales y a nuestra propia forma de vida.

Los gases implicados en el efecto invernadero son el vapor de agua, dióxido de carbono, metano, óxidos de nitrógeno (NO<sub>x</sub>), ozono (O<sub>3</sub>) y clorofluorocarbonos (CFCs). Sin embargo, el porcentaje de emisión de estos gases no es el mismo, ni tampoco su daño al medio ambiente, el cual expresamos en función del Potencial de Calentamiento Global (PCG), que es la relación entre la energía reenviada hacia el suelo en 100 años por 1 kg de gas, y la que reenviaría 1 kg de CO<sub>2</sub>. De esta manera, el dióxido de carbono es la medida de referencia cuyo valor siempre es 1, y el valor para otros gases dependerá de las concentraciones y los ciclos de vida de cada uno.

La concentración existente, su duración en la atmósfera, el daño y procedencia de los principales gases que provocan el efecto invernadero pueden verse en la Tabla 1.1.

	CO <sub>2</sub>	CH <sub>4</sub>	N <sub>2</sub> O	HFC	PFC	SF <sub>6</sub>	NF <sub>3</sub>
<b>Concentración atmosférica en 2013 (en 2005 entre paréntesis)</b>	395 ppm (379 ppm)	1.814 ppb (1.774 ppb)	326 ppb (319 ppb)	> 123 ppb (> 67 ppb)	> 83 ppb (> 79 ppb)	7,9 ppb (5,6 ppb)	< 1 ppb
<b>Duración de estancia en la atmósfera</b>		~ 9 años	131 años	Entre 0,1 y 270 años	Entre 2.000 y 50.000 años	3.200 años	500 años
<b>Poder de calentamiento global (acumulado en 100 años)</b>	1	28-30	265	[1,4; 14.800]	[6.630; 11.100]	23.500	16.100
<b>Origen de las emisiones antrópicas</b>	Combustión de energía fósil y deforestación tropical	Vertidos, agricultura, ganadería y procesos industriales	Agricultura, procesos industriales y utilización de abonos		Sprays, refrigeración y procesos industriales		Fabricación de componentes electrónicos
<b>Modificación del forzamiento radiactivo en 2013 desde 1750 por las emisiones antrópicas (W/m<sup>2</sup>) (en 2005 entre paréntesis)</b>	+ 1,88 (+ 1,66)	+ 0,50 (+ 0,48)	+ 0,18 (+ 0,16)		+ 0,12 (+0,09)		

ppm = parte por millón  
ppb = parte por billón

*Tabla 1.1. Gases de efecto invernadero antrópicos  
(Fuente: Ministère de l'Écologie, du Développement durable et de l'Énergie)*

En la tabla se refleja cómo los orígenes de estos contaminantes son variados y sus concentraciones muy diversas, igual que ocurre con su persistencia en la atmósfera y el poder de calentamiento global. Gracias a estos datos se puede ver cómo de peligrosos son todos estos gases para nuestro planeta.

Se debe destacar que aunque el CO<sub>2</sub> es el gas que tiene el poder de calentamiento global más bajo, es el que más ha contribuido desde 1750.

En la Figura 1.7. se puede ver de manera más visual el porcentaje de emisión de los GEIs a día de hoy, pudiendo observar en cada uno su procedencia y porcentaje en la atmósfera.

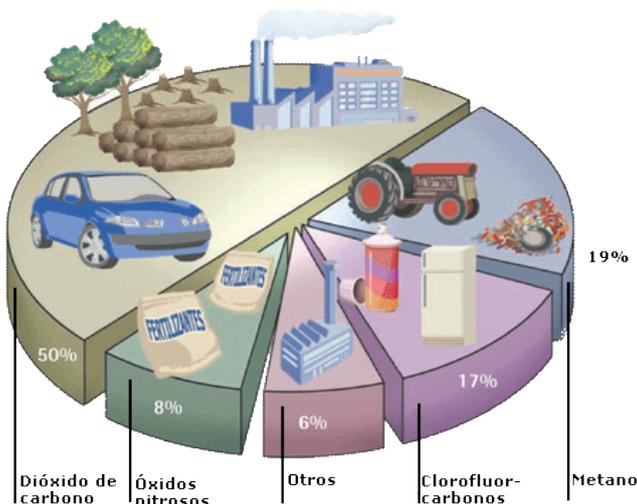


Figura 1.7. Porcentaje GEIs en la atmósfera y procedencia.  
(Fuente: Biblioteca digital ILCE)

Los principales peligros del efecto invernadero son (Fuente: Ministère de l'Écologie):

- Aumento de la temperatura media de la Tierra de 0,2 grados centígrados por decenio (previsión).
- Disminución de los glaciares y de la capa de hielo de zonas polares, produciendo un aumento del nivel del mar en las zonas de costa con inundaciones próximas al mar o las islas.
- Cambio a climas más extremos, con inviernos cada vez más templados y veranos con temperaturas más altas y extremas, así como las tormentas cada vez más fuertes.
- Disminución de recursos hídricos por las sequías y la mayor evaporación del agua, ciertas zonas fértiles podrían convertirse en desiertos.
- Afectación de los ecosistemas por el cambio en el clima, con lo que plantas y animales deben adaptarse a una nueva situación.
- Pérdida de hábitats, ya que se provocan las migraciones de muchas especies buscando nuevas zonas donde vivir. Esto genera cambios en sus interacciones y desaparición, por lo que la biodiversidad se empobrece.
- Impacto negativo en la agricultura y de la ganadería por los cambios en las precipitaciones.

Estimaciones de agosto de 2016 sugieren que de seguir la actual trayectoria de emisiones, la Tierra podría superar el límite de 2°C de calentamiento global (límite señalado por el Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático (IPCC) como un calentamiento global "peligroso") en el año 2036 (TCP/URU/3302 Uruguay, 2016).



Todos estos cambios anunciados durante décadas por los científicos, están siendo detectados ya en la actualidad. Por ello, es importante que aumente nuestro nivel de concienciación al respecto para prevenir el calentamiento global. Con este objetivo, la Unión Europea tiene fijados unos objetivos para el conjunto de países, como se puede observar en la Tabla 1.2.

#### Objetivos clave de la UE para 2020

- Reducción del 20% de las **emisiones de GEIs** con respecto a 1990
- Conseguir que el 20% del consumo total de energía proceda de **energías renovables**
- Incremento del 20% de la **eficiencia energética**

#### Objetivos clave de la UE para 2030

- Reducción de al menos el 40% de las **emisiones de GEIs** con respecto a 1990
- Al menos el 27% del consumo total de energía procedente de **energías renovables**
- Incremento de al menos el 27% de la **eficiencia energética**

#### Objetivo a largo plazo

- Para 2050 la UE quiere reducir sustancialmente sus emisiones - en un 80-95% con respecto a los niveles de 1990 -, uniendo así sus esfuerzos a los del conjunto de los países desarrollados
- Además, conseguir una economía de alta eficiencia energética y bajas emisiones de CO<sub>2</sub> dará impulso a la economía, creará empleo y mejorará la competitividad en Europa

*Tabla 1.2. Objetivos de la UE para reducir las emisiones de gases efecto invernadero. (European Comission, Acción por el clima)*

### 1.1.4. Energías renovables

A la vista de la gravedad de los daños que ocasionan estos gases, es evidente que existe una necesidad inmediata de desarrollar tecnologías de captura altamente eficientes y que sean medioambientalmente más sostenibles.

Las energías renovables pueden sustituir a los sistemas de generación de energía actuales basados en combustibles fósiles, tanto por su disponibilidad presente y futura garantizada, como por su menor impacto ambiental. Destacan por su posibilidad de renovación, ya que se obtienen de fuentes naturales que en principio son inagotables, bien por la inmensa cantidad de energía que contienen, o porque son capaces de regenerarse por medios naturales.

Desde tiempos remotos, las energías renovables han constituido una parte importante de la energía utilizada por los humanos, destacando la solar, la eólica y la hidráulica. Actualmente se utilizan algunas pero se continúa investigando para aumentar los rendimientos y explotar nuevas fuentes, siendo una de las energías más prometedoras el biogás proveniente de la digestión anaerobia de residuos sólidos, que

se puede utilizar para producir energía eléctrica mediante turbinas o plantas generadoras de gas.

Podemos concluir por tanto, que la producción de energías limpias, alternativas y renovables no es un intento de mejorar el medio ambiente, sino una necesidad primordial a la que el ser humano se está viendo obligado a recurrir.

## 1.2. Problemática del biogás

El biogás es un gas combustible que se genera en medios naturales o en dispositivos específicos, debido a las reacciones de biodegradación de la materia orgánica, mediante la acción de microorganismos y otros factores, en ausencia de oxígeno.

Por lo general se puede obtener biogás a partir de cualquier material orgánico, y constituye uno de los subproductos principales y con mayor potencial de revalorización del tratamiento anaerobio de aguas residuales, de la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos, y de residuos ganaderos y agroindustriales.

La composición de este biogás viene determinada tanto por el estado de oxidación de la materia orgánica presente en el residuo, como por el tipo de proceso de digestión anaerobia implementado (Muñoz y col., 2015). De esta manera el biogás puede contener distintas cantidades de compuestos en función de su procedencia (Tabla 1.3.). Generalmente cuenta con un 55 - 70% de metano (CH<sub>4</sub>), 30 - 45% de CO<sub>2</sub> y < 5% de trazas de otros gases (considerados impurezas), como hidrógeno (H<sub>2</sub>), nitrógeno (N<sub>2</sub>), oxígeno (O<sub>2</sub>) y sulfuro de hidrógeno (H<sub>2</sub>S).

Gas	Desechos agrícolas	Lodos de depuradora	Desechos industriales	Rellenos sanitarios	Propiedades
Metano	50 - 80 %	50 - 80 %	50 - 70 %	45 - 65 %	Combustible
CO <sub>2</sub>	30 - 50 %	20 - 50 %	30 - 50 %	34 - 55 %	Ácido, asfixiante
Vapor de agua	Saturación	Saturación	Saturación	Saturación	Saturación
Hidrógeno	0 - 2 %	0 - 5 %	0 - 2 %	0 - 1 %	Combustible
H <sub>2</sub> S	100 - 7000ppm	0 - 1 %	0 - 8 %	0,5 - 100ppm	Corrosivo, olor, tóxico
CO	0 - 1 %	0 - 1 %	0 - 1 %	Trazas	Tóxico
Nitrógeno	0 - 1 %	0 - 3 %	0 - 1 %	0 - 20 %	Inerte
Oxígeno	0 - 1 %	0 - 1 %	0 - 1 %	0 - 5 %	Corrosivo
Orgánicos	Trazas	Trazas	Trazas	5 ppm	Corrosivos, olores

Tabla 1.3. Composición del biogás en función de su procedencia  
(Fuente: Artículo de Aguas Residuales)

El biogás es un gas que se puede utilizar como sustituto del gas natural o como combustible para los vehículos, sin embargo, es necesario realizar un proceso de limpieza del mismo en el que se eliminan los demás componentes del biogás que acompañan al metano, fundamentalmente el CO<sub>2</sub> y el H<sub>2</sub>S, de manera que se obtiene un combustible de alta calidad. El gas resultante tras el proceso de upgrading recibe el nombre de biometano.

En este sentido, el contaminante más importante a eliminar del biogás es el CO<sub>2</sub> por estar en mayor cantidad, ya que se busca la eliminación parcial o total de los componentes indeseables para su aplicación como combustible, buscando elevar el porcentaje en CH<sub>4</sub> hasta valores similares al del gas natural (PCI elevado y constante).

También se trata de un contaminante relevante en el biogás el H<sub>2</sub>S, a pesar de que se encuentra a niveles traza del 0,1-3%. El sulfuro de hidrógeno es un fuerte contaminante que posee mal olor, el cual con una exposición de manera continuada incluso a bajas concentraciones puede provocar en el ser humano daños en las vías respiratorias y síntomas graves que pueden llevar a la hospitalización o incluso la muerte. Además, es muy corrosivo y origina daños en los distintos componentes del sistema de revalorización energética del mismo. Por todo esto, es un gas necesario de eliminar por el bien del medio ambiente, del proceso de aprovechamiento energético del biogás y de la salud humana.

En lo que al metano se refiere, se trata de una sustancia extremadamente inflamable, con un potencial de calentamiento global 23 veces superior al CO<sub>2</sub> como puede observarse en la Tabla 1.4., lo cual le convierte en el segundo componente responsable del calentamiento global tras el dióxido de carbono, a pesar de ser emitido en menores cantidades.

Gas	Conc. preindustrial (ppmv*)	Conc. 1998 (ppmv)	Persistencia en la atm (años)	Principal actividad humana que lo genera	PCG**
<b>Dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>)</b>	280	365	Variable	Combustibles fósiles Producción de cemento Cambios de uso del suelo	1
<b>Metano (CH<sub>4</sub>)</b>	0,7	1,75	12	Combustibles fósiles Arrozales Vertederos Ganado	23
<b>Óxido nitroso (N<sub>2</sub>O)</b>	0,27	0,31	114	Fertilizantes Procesos de combustión industriales	310
<b>HFC 23 (CHF<sub>3</sub>)</b>	0	1,4·10 <sup>-5</sup>	250	Electrónica Refrigerantes	12.000
<b>HFC 134 a (CF<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>F)</b>	0	7,5·10 <sup>-6</sup>	13,8	Refrigerantes	1.300

<b>HFC 152 a (CH<sub>3</sub>CHF<sub>2</sub>)</b>	0	5·10 <sup>-7</sup>	1,4	Procesos industriales	120
<b>Tetrafluorometano (CF<sub>4</sub>)</b>	4·10 <sup>-4</sup>	8·10 <sup>-5</sup>	>50.000	Producción de aluminio	5.700
<b>Hexafluoroetano (C<sub>2</sub>F<sub>6</sub>)</b>	0	3·10 <sup>-6</sup>	10.000	Producción de aluminio	11.900
<b>Hexafluoruro de azufre (SF<sub>6</sub>)</b>	0	4,2·10 <sup>-6</sup>	3.200	Fluidos dieléctricos	22.000

\*ppmv = partes por millón en volumen

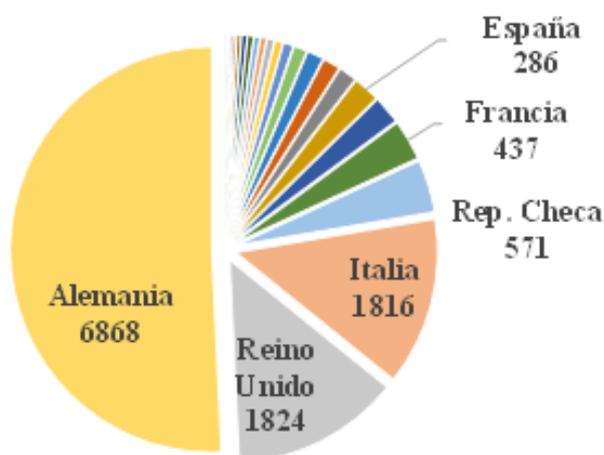
Conc. : Concentración

\*\*Calculado para un horizonte temporal de 100 años

*Tabla 1.4. Principales Gases de Efecto Invernadero. (Datos: Red Ambiental del Principado de Asturias)*

### 1.2.1. Producción y previsiones futuras del biogás y biometano

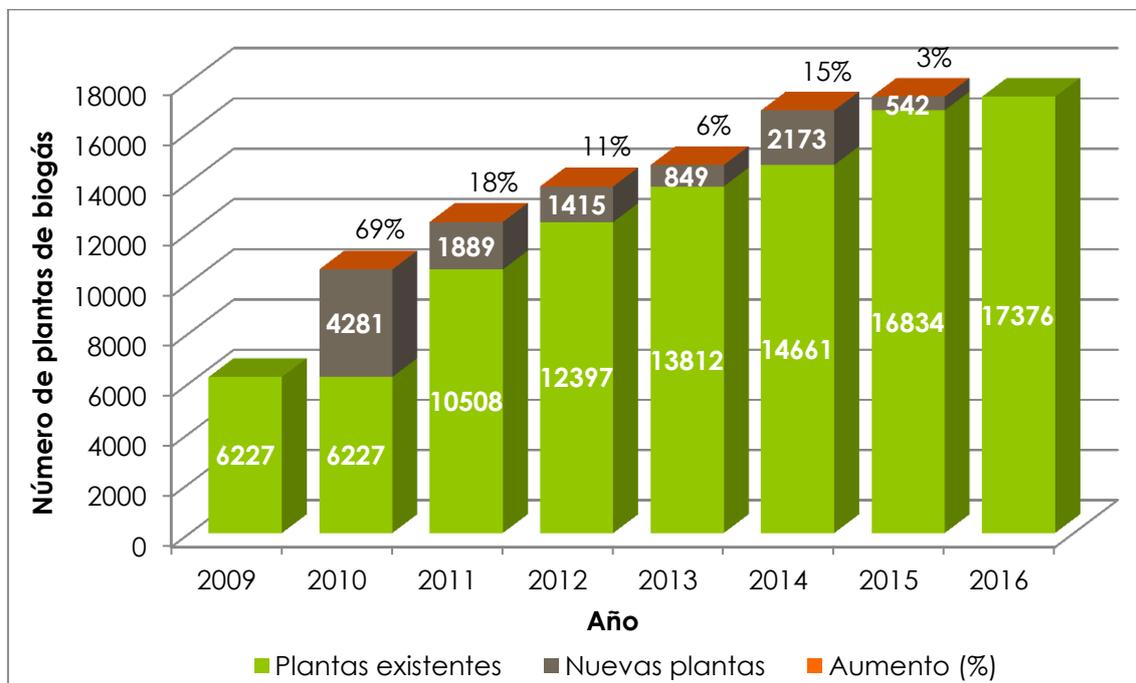
En base al último informe del Observatorio Europeo de Energías Renovables, la producción de biogás en Europa en el año 2013 alcanzó los 13,5 millones de barriles equivalentes de petróleo (BEP), lo que es un 12 % superior a la producción en 2012 (EuroObserv'ER 2014). Como puede verse en la Figura 1.8., entre los países de la Unión Europea (UE28) con mayor producción de biogás se encuentran Alemania, Reino Unido e Italia.



*Figura 1.8. Producción de biogás como energía primaria en la UE en 2013. (Fuente: Euro Observ'ER 2014)*

La Asociación Europea de Biogás (EBA) redactó su informe estadístico anual sobre la industria y los mercados de la digestión anaeróbica europea, gracias a la cooperación de asociaciones nacionales, informes estadísticos nacionales y la investigación propia de los expertos de EBA.

En este informe se refleja el constante crecimiento del sector de biogás, donde el número de plantas de biogás se ha triplicado en los últimos 6 años, llegando a las actuales 17.376 plantas de biogás y 459 plantas de biometano en funcionamiento en Europa. En la Figura 1.9. puede apreciarse la evolución hasta finales de 2015.



*Figura 1.9. Evolución del número de plantas de biogás en Europa (Fuente: Informe Estadístico EBA)*

Algunos países lograron un aumento significativo, como el Reino Unido (77 plantas adicionales, 17% de crecimiento), Bélgica (20 plantas adicionales, 11% de crecimiento) y Holanda (16 plantas adicionales, 6% de crecimiento). De esta manera, hoy en día se estima la cantidad total de electricidad producida a partir del biogás en 60,6 TWh, cifra que corresponde al consumo anual de 13,9 millones de hogares europeos (Informe Estadístico EBA).

Por otra parte, en 2015 aparecieron 92 nuevas plantas de purificación de biogás que continúan el crecimiento constante en el sector del biometano. Alemania sigue siendo líder con 7 nuevas plantas que hacen un total de 185, aunque algunos países lograron un crecimiento significativo, como el Reino Unido (43 nuevas plantas), Francia (12 nuevas plantas), Suiza (11 nuevas plantas) y Dinamarca (6 nuevas plantas). Estos números, como puede verse en la Figura 1.10., reflejan un claro desarrollo del biometano en Europa, mostrando que la industria del biogás es madura y rentable, por lo que se puede esperar que estas tendencias positivas continúen en el futuro a corto plazo.

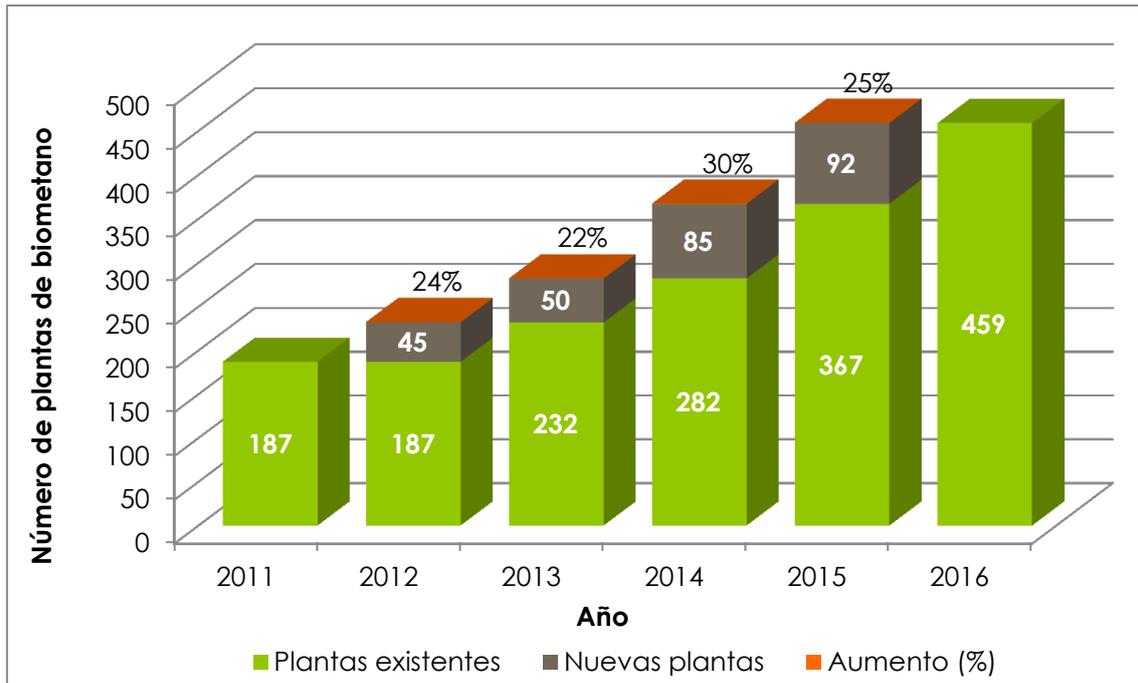


Figura 1.10. Evolución del número de plantas de biometano en Europa  
(Fuente: Informe Estadístico EBA)

En España la producción de biogás (24 veces inferior a la de Alemania) presenta un enorme potencial de crecimiento por sus condiciones climáticas y el tamaño de su peso ganadero e industria agroalimentaria. De acuerdo a las estimaciones de la Asociación Europea de Biogás, la producción de biogás en la UE28 alcanzará los 18-20 billones de Nm<sup>3</sup> en 2030, aunque los Planes Nacionales de Acción en Energía Renovable de los países de la UE28 contemplan para ese año un escenario de producción equivalente al 5 % del consumo total de gas natural ( $\approx$  28 billones de Nm<sup>3</sup>) (EBA 2013).

A nivel mundial, el potencial de crecimiento de la producción y utilización de biogás procedente de la digestión anaerobia se estima igual de prometedor. A modo de ejemplo, menos del 1 % de las Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales (EDARs) en EEUU tienen implementado un sistema de aprovechamiento del biogás generado en el proceso de depuración (McCarthy y col., 2011).

En la actualidad, el biogás se utiliza principalmente como combustible en las propias plantas de digestión anaerobia para la generación de electricidad y calor, bien para satisfacer parte de las necesidades energéticas de la propia planta (como en EDARs) o bien para su exportación a la red eléctrica o redes de calefacción central de ciudades (Thrän y col., 2014). En este sentido, la producción de electricidad a partir de biogás en la Unión Europea en 2013 ascendió a los 52,7 Twh (un 14 % superior a la de 2012), mientras que las ventas de energía térmica ascendieron a los 470 kBEP (un 34 % mayor que en 2012) (EurObserv'ER 2014).



A pesar de los beneficios ambientales derivados de la estabilización de residuos orgánicos mediante digestión anaerobia (p.ej. recuperación de nutrientes como biofertilizante, disminución de volumen), el coste relativamente elevado de la producción de biogás (0.2-0.4 € N/m<sup>3</sup> dependiendo del tipo de residuo) unido a la falta de incentivos fiscales para su uso y a la presencia inherente de contaminantes como CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S, NH<sub>3</sub> y COVs han limitado hasta la fecha el aprovechamiento de éste biorecurso (Thrän y col., 2014; Vestman y col., 2014).

Por consiguiente, el desarrollo de nuevas tecnologías para la conversión de biogás a productos con un mayor valor agregado como el citado biometano, y/o que mejoren la viabilidad económica del proceso, es crucial para asegurar la competitividad de la producción y utilización de biogás en el conjunto de la UE28.

En este contexto, los procesos biológicos de limpieza integral de biogás a biometano (*upgrading*), constituyen una opción novedosa y tecnológicamente viable para la revalorización del biogás y la mejora en la viabilidad económica de su producción.

### 1.2.2. Procesos biológicos de limpieza de biogás a biometano (*upgrading*)

Los estudios más recientes de viabilidad económica de la producción de biometano a partir de biogás para su posterior uso como combustible en automoción o su inyección en redes de gas natural indican la falta de competitividad de éste frente a combustibles fósiles convencionales como gas natural o diésel tipo A (dentro del contexto energético actual).

La Figura 1.11., elaborada en base a una recopilación de datos de plantas reales de biometano, muestran cómo los altos costes de producción, *upgrading*, compresión y distribución conllevan un precio del biometano de ≈0.6 € N/m<sup>3</sup>, muy similar al del diésel tipo A (≈0.6 € N/m<sup>3</sup> antes de impuestos y asumiendo que 1 L de diésel es energéticamente equivalente a 1 Nm<sup>3</sup> de biometano) pero muy superior todavía al del gas natural (≈0.4 € N/m<sup>3</sup>).

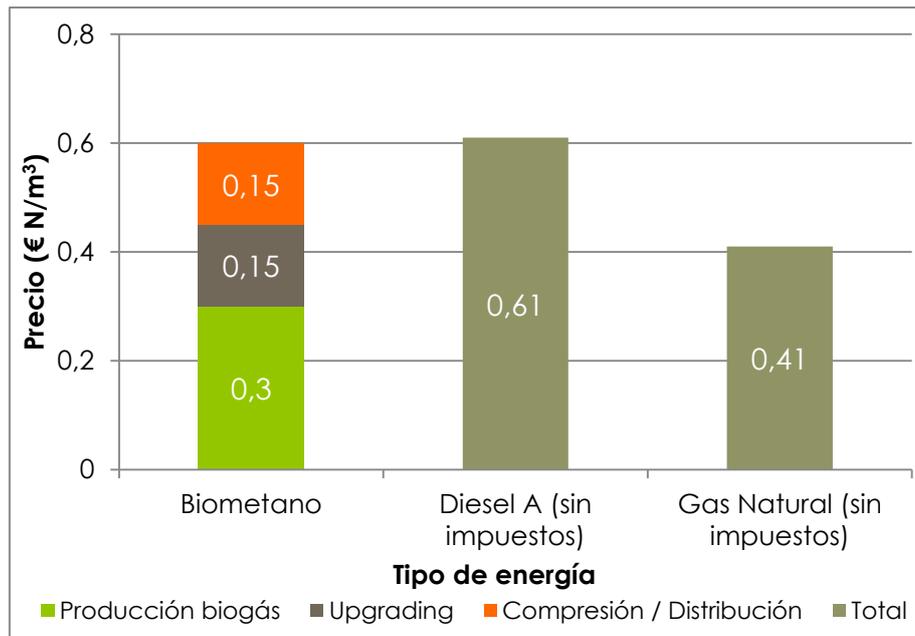


Figura 1.11. Estimación de costes de Gas Natural, Diesel A y Biometano. (Adaptado de Thrän y col., 2014; Vestman y col., 2014, BOE 156 de 1 de Julio 2015)

Resulta por tanto evidente que una disminución en los costes de upgrading de biogás mediante mejoras tecnológicas en los procesos de eliminación de sus principales contaminantes (CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S, NH<sub>3</sub>, COVs) aumentaría la competitividad de este biocombustible gaseoso. A este respecto, las concentraciones máximas de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> permitidas en la mayoría de las legislaciones Europeas de biometano (incluida también la española) se encuentran en torno al 0.3-0.5 % y 2-3 %, respectivamente, con contenidos de CH<sub>4</sub> superiores al 95 % y de H<sub>2</sub>S inferiores a 5-15 ppmv (Muñoz y col., 2015).

En el escenario tecnológico actual, la eliminación de CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>S se lleva a cabo de forma independiente y a menudo mediante el uso de tecnologías físico/químicas en serie, las cuales presentan mayores costes de operación e impactos ambientales que sus homólogos biológicos (Abatzoglou y Boivin 2009, Bauer y col., 2013). Así, la eliminación de CO<sub>2</sub> se realiza mediante tecnologías muy intensivas energéticamente (0.25 - 0.3 Kwh N/m<sup>3</sup>), con altos costes de inversión, y que requieren una eliminación previa de H<sub>2</sub>S, como son lavadores de agua a presión, lavadores químicos, sistemas de adsorción PSA o separadores de CO<sub>2</sub> criogénicos (Muñoz y col., 2015). Estas tecnologías presentan costes de inversión que oscilan entre los 1.500 y los 6.000 € (Nm<sup>3</sup>/h)<sup>-1</sup>. Del mismo modo, la eliminación de H<sub>2</sub>S mediante procesos físico/químicos como la adsorción en carbón activado conlleva costes de operación prohibitivos y una altísima huella de carbono derivada de la fabricación de carbón activo (Abatzoglou y Boivin, 2009).



Por último, los procesos biológicos basados en el uso de arqueas para la bioconversión del CO<sub>2</sub> del biogás a CH<sub>4</sub> mediante inyección de H<sub>2</sub> presentan una limitada aplicación (a escenarios en los que el H<sub>2</sub> es generado por exceso de electricidad renovable), riesgos de operación asociados a la alta explosividad del H<sub>2</sub> y no son capaces de eliminar el H<sub>2</sub>S (Muñoz y col., 2015).

Por su parte, los procesos biológicos de eliminación de H<sub>2</sub>S (basados en la inyección de aire, O<sub>2</sub> o NO<sub>3</sub><sup>-</sup> en el digestor o en biofiltros percoladores externos) todavía presentan problemas operacionales por acumulación de azufre elemental y por contaminación del biometano con O<sub>2</sub> y/o N<sub>2</sub> (a pesar de su alta eficiencia, bajo coste de operación y reducido impacto ambiental) (Montebello y col., 2012). Además, estos últimos no son capaces de eliminar de forma significativa el CO<sub>2</sub> del biogás, aunque estén basados en la oxidación autotrófica de H<sub>2</sub>S.

A pesar de los avances en la mejora de biogás realizados en la última década, no existe a día de hoy ninguna tecnología en el mercado (ni biológica ni físico/química) capaz de eliminar simultáneamente CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S, NH<sub>3</sub> y COVs de una forma eficiente, económicamente viable y medioambientalmente sostenible, y de generar en un solo proceso un biometano de calidad suficiente para su inyección en red de gas natural o su uso como combustible en automoción (Bauer y col., 2013).

En este escenario técnico-energético, la intensificación de la simbiosis entre microorganismos fotosintéticos (microalgas y cianobacterias) y comunidades bacterianas heterótrofas y quimioautótrofas en fotobiorreactores operados a altos pHs (para favorecer el transporte de los gases ácidos CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>S) constituye una plataforma tecnológica de bajo coste y medioambientalmente sostenible para la eliminación simultánea de CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S, NH<sub>3</sub> y COVs del biogás (Bahr y col., 2014). Esta tecnología innovadora, permite eliminaciones de CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>S del 80 % y 100 %, respectivamente, con bajos consumos energéticos e impactos ambientales (Serejo y col., 2015).

En el proceso que nos ocupa, los microorganismos fotosintéticos utilizan la luz solar incidente en el fotobiorreactor para la fijación en forma de biomasa del CO<sub>2</sub> transferido desde el biogás, con la consiguiente generación de O<sub>2</sub>. Este oxígeno generado *in-situ* en el fotobiorreactor es utilizado por las bacterias para la oxidación del H<sub>2</sub>S y NH<sub>3</sub> a SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> y NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, respectivamente, lo que evitaría los problemas de operación derivados de la acumulación de azufre elemental (Muñoz y col., 2015). En la Figura 1.12. puede verse un esquema del mecanismo simbiótico durante el upgrading fotosintético de biogás en fotobiorreactores de microalgas-bacterias.

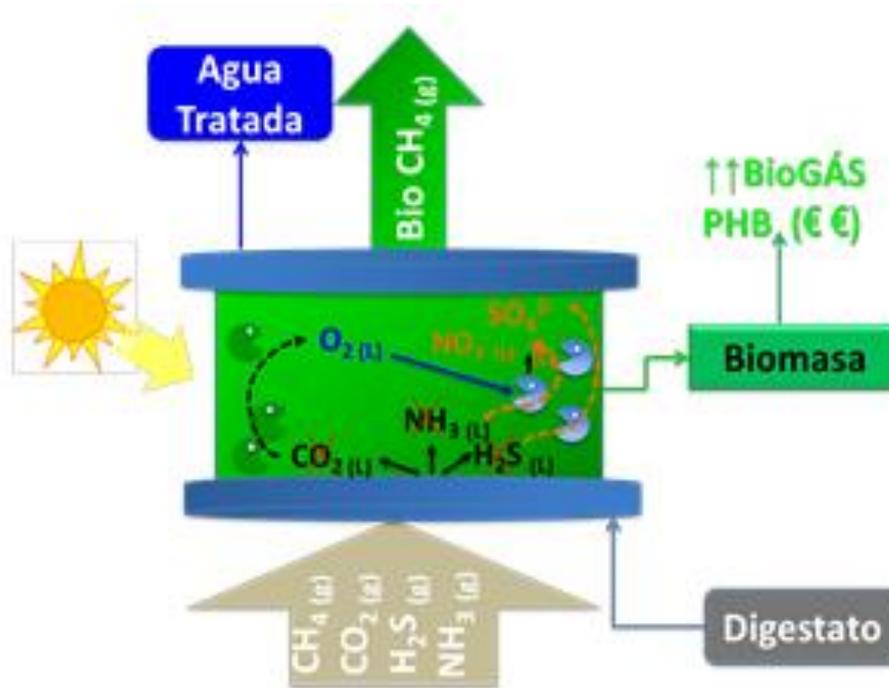


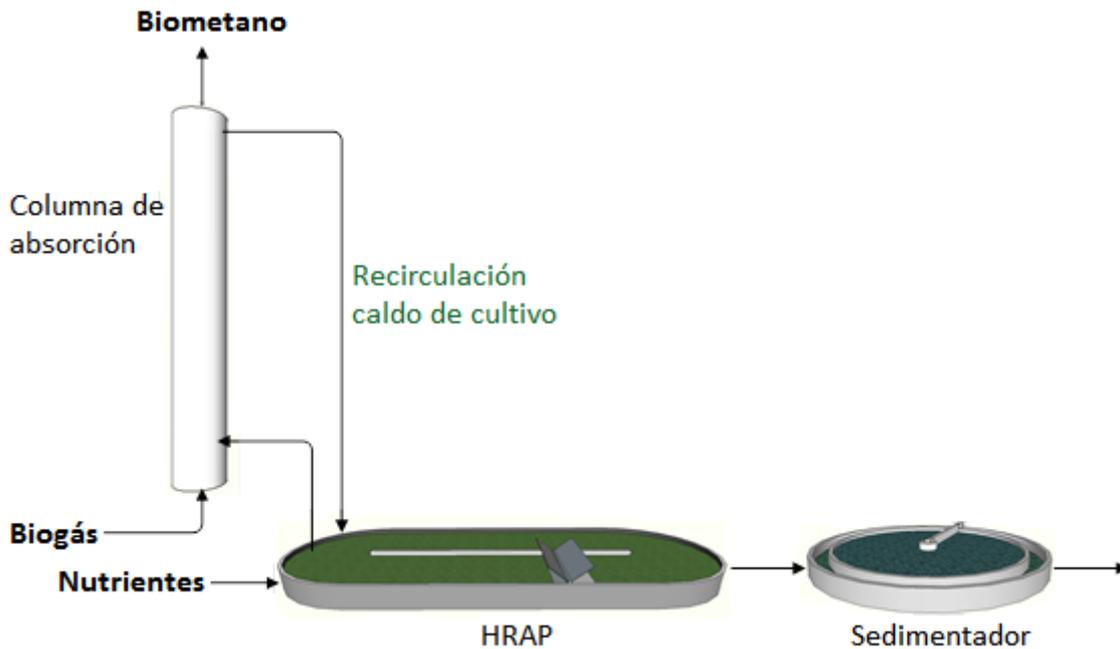
Figura 1.12. Mecanismos simbióticos durante el upgrading.  
(Fuente: Muñoz y col., 2015)

Este oxígeno se usa también en la oxidación de los COVs presentes en el biogás a CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O, pudiendo generarse óxidos de silicio derivados de los siloxanos. La demanda de oxígeno generada en la unidad de absorción de biogás por la oxidación biológica de H<sub>2</sub>S, NH<sub>3</sub> y COVs evita la desorción del O<sub>2</sub> fotosintético presente en el medio de cultivo al biometano (y por lo tanto su contaminación).

Los nutrientes necesarios para el crecimiento de los microorganismos fotosintéticos y bacterias que llevan a cabo el proceso pueden obtenerse de los digestatos anaerobios de la planta (previa separación sólido-líquido), lo que reduciría parcialmente el potencial eutrofizante de los mismos. Por último, la biomasa de microalgas y bacterias generada en el proceso de *upgrading* podría ser digerida anaeróbicamente, lo que aumentaría un 25-30 % el rendimiento global de producción de biometano en planta (energía procedente de la fijación química de la energía solar por parte de las microalgas) (Alcántara y col., 2013; Bahr y col., 2014). La flexibilidad metabólica de determinadas cianobacterias permitiría incluso la co-producción de PHAs como polihidroxibutirato (PHB) a partir del CO<sub>2</sub> del biogás (Haase y col., 2012).

Esta tecnología innovadora de *upgrading* de biogás está siendo evaluada en fotobiorreactores abiertos tipo *High Rate Algal Ponds* (HRAP), interconectados con una columna de absorción de biogás mediante una recirculación continua del medio de cultivo del HRAP, tal y como muestra el esquema de la Figura 1.13. Estos sistemas

sin embargo aún cuentan con limitaciones que impiden la obtención de un biometano de calidad similar al obtenido con otras tecnologías.



*Figura 1.13. Mejora del biogás mediante cultivo de microalgas (Adaptación de Bahr y col., 2014)*

### 1.2.3. Legislación vigente

El Real Decreto 949/2001, por el que se regula el acceso de terceros a las instalaciones gasistas y se establece un sistema económico integrado del sector de gas natural, desarrolla las líneas básicas que deben contener las Normas de Gestión Técnica del Sistema de gas natural, estableciendo en su artículo 13.1 que el Gestor Técnico del Sistema, en colaboración con el resto de los sujetos implicados, elaborará una propuesta de Normas de Gestión Técnica del Sistema, la cual elevará al Ministro para su aprobación o modificación. Por ello el Ministro de Industria, Turismo y Comercio dictó la Orden ITC/3126/2005, por la que se aprueban las Normas de Gestión Técnica del Sistema Gasista.

De esta manera, se establece en el Boletín Oficial del Estado para el Ministerio de Industria, Energía y Turismo, mediante varias resoluciones sucesivas de la Dirección General de Política Energética y Minas, el protocolo de detalle «Medición, Calidad y Odorización de Gas» de las normas de gestión técnica del sistema gasista, cuya primera edición tuvo lugar en el año 2003 para limitar la inyección de gas natural a la red.



Con base a lo anterior, se estableció a fecha de 25 de junio de 2012, la última actualización por parte del Gestor Técnico del Sistema, tratándose de una propuesta de modificación del Protocolo de Detalle PD-01 «Medición, Calidad y Odorización de Gas».

En su virtud, la Dirección General establece las líneas a seguir, de manera que en el Anexo A.1. se indicarán los puntos más significativos para el tema que nos compete. Sin embargo en este apartado cabe destacar la calidad que debe tener el biometano según sus concentraciones máximas y mínimas de cada componente para ser viable de inyectar en la red de gas natural, que deberá ser entregado al consumidor sin contener partículas de polvo u otras impurezas en cantidades superiores a las habituales y que pudieran dañar las instalaciones. Además, todo el gas natural introducido en los puntos de entrada del Sistema Gasista deberá cumplir ciertas especificaciones de calidad.

Junto a estas características, en lo que a la composición se refiere los gases procedentes de fuentes no convencionales, tales como el biogás, el gas obtenido a partir de biomasa u otro tipo de gas producido mediante procesos de digestión microbiana, deberán cumplir con las especificaciones de calidad de la Tabla 1.5.

Propiedad (*)	Unidad	Mínimo	Máximo
Metano (CH <sub>4</sub> )	mol %	95	-
CO	mol %	-	2
H <sub>2</sub>	mol %	-	5
Compuestos Halogenados: Flúor y Cloro	mg/m <sup>3</sup>	-	101
Amoniaco	mg/m <sup>3</sup>	-	3
Mercurio	µg/m <sup>3</sup>	-	1
Siloxanos	mg/m <sup>3</sup>	-	10
Benceno, Tolueno, Xileno (BTX)	mg/m <sup>3</sup>	-	500
Microorganismos	-	Técnicamente puro	
Polvo / Partículas	-	Técnicamente puro	

(\*) Tabla expresada en las siguientes condiciones de referencia: [0°C, V(0°C; 1,01325 bar)].

*Tabla 1.5. Especificaciones de calidad del gas procedente de fuentes no convencionales introducido en el Sistema Gasista (Fuente: BOE-A-2011-15496)*

### 1.3. Problemática de los gases de combustión

Se denominan gases de combustión a los gases de escape generados en los procesos de combustión, de manera que su composición depende del tipo de combustible y de las condiciones en que se produzcan. Sin embargo generalmente consistirá en su mayoría de nitrógeno (normalmente más de dos tercios) derivado del aire de combustión, dióxido de carbono, y vapor de agua, así como exceso de oxígeno (también derivado del aire de combustión). Contiene también un pequeño porcentaje de un número de contaminantes como partículas de hollín, monóxido de carbono, óxidos de nitrógeno compuestos orgánicos volátiles y óxidos de azufre, los cuales tampoco resulta deseable liberarlos al medio ambiente.

Si el desarrollo mundial, el crecimiento demográfico y el consumo energético basado en los combustibles fósiles, siguen aumentando al ritmo actual, se calcula que antes del año 2050 las concentraciones de dióxido de carbono se habrán duplicado con respecto a las que había antes de la Revolución Industrial (mitad del siglo XVIII). Con este dato resulta evidente que la respuesta de la sociedad ante el reto del cambio climático no se corresponde con la gravedad del problema, ya que se sitúa al final de la lista de preocupaciones cuando es comparado con aquellos problemas que la gente percibe como más inmediatos.

Además, tanto el metano como el monóxido de carbono, son gases precursores del ozono troposférico, causante de las altas concentraciones de humo oscuro que en ocasiones se difumina en forma de niebla en nuestras ciudades tal y como puede verse en la Figura 1.14., ocasionando gravísimas consecuencias para la salud humana, la vegetación, los ecosistemas y la propiedad material, siendo a mayores un factor importante a considerar respecto al cambio climático.



*Figura 1.14. Aspecto de la Torre Eiffel (izquierda agosto 2012, derecha actualidad).  
(Fuente: Huffington Post)*

Pese a la entrada en vigor del Protocolo de Kioto, acuerdo en el que se estableció un calendario para reducir las emisiones de este gas a finales de 1997 (aunque no entró en vigor hasta 2005), en algunos países las emisiones de dióxido de carbono siguieron aumentando. Después se ratificó el segundo periodo de vigencia de este protocolo desde 2013 hasta 2020, el cual tenía unas metas concretas, aunque denotó un débil compromiso de los países industrializados, tales como Estados Unidos, Rusia y Canadá, los cuales decidieron no respaldar la prórroga.

Más recientemente, a finales de 2015 se firmó en la capital francesa el Acuerdo de París. China y EE UU estaban a la cabeza de las negociaciones en la ONU sobre la lucha contra el cambio climático y permitieron que se cerrara este histórico acuerdo, que entró en vigor a finales de 2016 tras alcanzar el número suficiente de países.

El impulso del presidente de EE UU, Barack Obama, fue determinante para alcanzar el acuerdo y que entrase en vigor. Sin embargo su sustituto, el republicano Donald Trump, apuesta justo por lo contrario. Es escéptico respecto a la responsabilidad del hombre en el calentamiento global, queriendo cancelar el acuerdo sobre el clima de París y frenar toda la ayuda financiera a los programas de calentamiento global de ONU.

A pesar de todos los acuerdos e intentos, en la Figura 1.15. se pueden apreciar la diferencia así como la evolución de las emisiones de dióxido de carbono de las tres grandes potencias contaminantes.

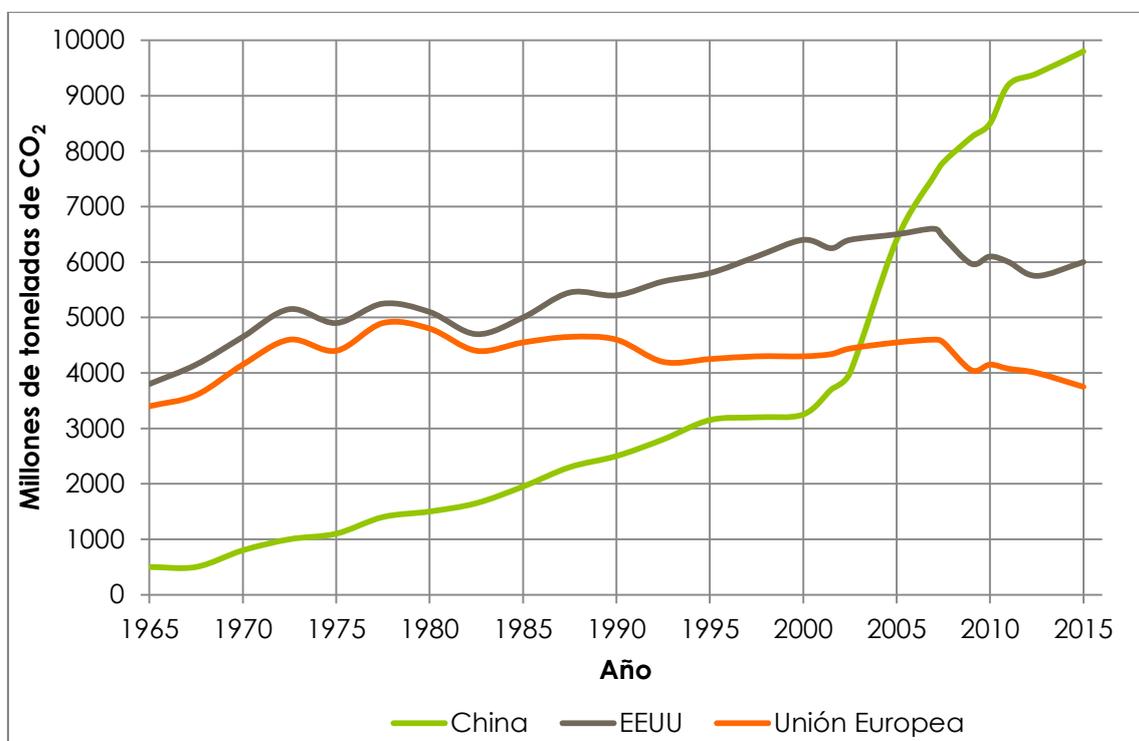
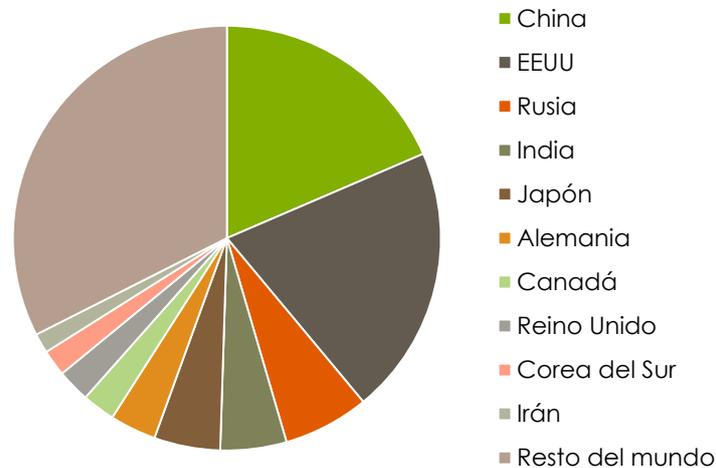


Figura 1.15. Emisiones de CO<sub>2</sub> en China, Estados Unidos y Unión Europea desde 1965 (Fuente: BP, Global Carbon Project)

La Agencia Internacional de Energía asegura que las emisiones de CO<sub>2</sub> aumentarán el 130% de aquí a 2050. Según una estimación inicial de 31,6 millones de toneladas de CO<sub>2</sub> actualmente lanzadas a la atmósfera se realizó la Figura 1.16., donde pueden verse los diez países más contaminantes mediante CO<sub>2</sub> en la última década.



*Figura 1.16. Diez países con más emisiones de CO<sub>2</sub>  
(Fuente: Energy Emission Administration)*

Como ya se ha explicado y puede verse en la imagen, a día de hoy los grandes emisores son Estados Unidos y China, esto es debido a su gran población, consumo energético y su gran industria manufacturera. Cabe destacar también, que los países en vías de desarrollo hoy en día representan según el año incluso más del 50% de las emisiones mundiales, pero en parte debido a la producción de bienes para los países desarrollados.

Por el contrario, destaca Alemania por su plan impuesto sobre el clima y sus bajas emisiones en los últimos años, las cuales a día de hoy aún siguen disminuyendo. Se trata de un programa integral para reducir en un 40% sus emisiones de CO<sub>2</sub> en 2020, en comparación con las que tuvieron en 1990, con una serie de medidas centradas principalmente en la economía energética y una apuesta decidida en favor de las energías renovables.

Varios países en el mundo (incluyendo Estados Unidos) controlan la tasa real de CO<sub>2</sub> de sus atmósferas, a sabiendas de que no expresa la contribución real del país, sino de la de todo el planeta y sus actividades humanas. Sin embargo, tal y como nos muestra la Figura 1.17., en Europa se generan emisiones muy desiguales ya que sus restricciones son poco frecuentes, de forma que se han establecido unos permisos de emisión en función de la industrialización de cada país.

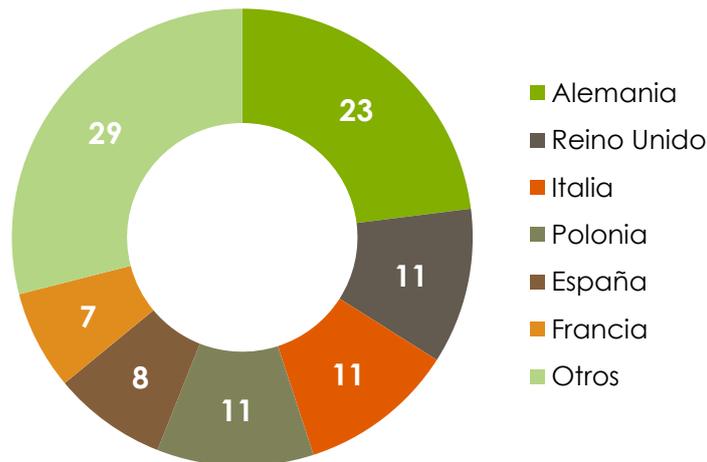


Figura 1.17. Reparto geográfico de permisos europeos de emisión industrial CO<sub>2</sub> (%)  
(Fuente: Energy Emission Administration)

## 1.4. Fundamentos de tecnología de los microorganismos

Son muchos los casos donde se han usado todo tipo de microalgas para la purificación de gases como el CO<sub>2</sub>, la mayoría todavía no tienen aplicación a gran escala por estar aún en investigación de las especies más efectivas, sus rendimientos y el dimensionado de los sistemas.

En la actualidad es un campo en auge, donde la investigación está siendo primordial, de manera que multitud de empresas prestan interés, logrando entre todas un avance tecnológico que será ventajoso tanto para las propias empresas como en aras del cuidado del medio ambiente.

### 1.4.1. Microalgas

Las microalgas son un conjunto heterogéneo de microorganismos fotosintéticos procariontes (cianobacterias) y eucariotes, que se localizan en diversos hábitats (aguas marinas, dulces, salobres, residuales o en el suelo) bajo un amplio rango de temperaturas, pH y disponibilidad de nutrientes. Son microorganismos fotosintéticos de tamaño microscópico, de características similares a las algas comunes pero de tamaño inferior a 1 mm.



Se les considera responsables de la producción del 50% del oxígeno y de la fijación del 50% del carbono en el planeta (Garybay y col., 2009). Además, las aplicaciones de la biomasa algal aún están en investigación, aunque a día de hoy ya son increíblemente variadas y útiles.

Las microalgas han despertado un enorme interés debido a que son microorganismos fotosintéticos que se caracterizan por su rápido crecimiento, las células se duplican en un periodo de 1 a 10 días, pueden tener un alto contenido lipídico (más del 50% en peso de materia seca en algunos casos) y utilizan menos superficie para su cultivo.

Pese a ser estudiadas desde hace décadas, ha sido unos pocos años atrás cuando se ha empezado a descifrar su código genético y su clasificación globalizada. Esto se debe a que existen grandes colecciones alrededor del mundo, que a día de hoy son posibles de distinguir.

Por su carácter fototrófico, las microalgas son una interesante opción para mitigar las emisiones de dióxido de carbono, ya que son los mayores biofijadores de CO<sub>2</sub> del planeta y realizan este proceso a presión y temperatura ambiente.

#### **1.4.1.1. Obtención de biomasa de algas**

Las algas para transformar la energía solar en energía química necesitan luz, CO<sub>2</sub>, nutrientes y agua. La luz la obtienen de forma natural del sol, por lo que su utilización está limitada por el ciclo de luz natural y la variación estacional, y a parte está restringida su viabilidad comercial a áreas con alta irradiación solar. Es debido a estas limitaciones que aparece la opción de utilizar luz artificial, con la cual se obtienen buenos resultados a la par que es posible controlarla y adecuarla a las necesidades.

Por otra parte, el CO<sub>2</sub> que necesitan pueden fijarlo de la atmósfera o bien de emisiones de gases industriales, lo que contribuye a la limpieza de dichas emisiones antes de ser liberadas a la atmósfera. La mayoría de las microalgas pueden utilizar cualquier tipo de agua, lo que minimiza enormemente el consumo de agua dulce.

En cuanto a los nutrientes necesarios para su crecimiento, son fundamentalmente nitrógeno y fósforo, que se tienen que adicionar en los sistemas de cultivo; bien en forma de sales minerales o a partir de aguas residuales, siendo éste último uno de los métodos actuales más efectivos desde el punto de vista económico para favorecer el tratamiento de aguas residuales.

Las microalgas pueden ser también una fuente de lípidos, carbohidratos o proteínas. Esta composición, tal y como puede verse en la Tabla 1.6., dependerá de la especie de microalga así como de las condiciones de cultivo que se proporcionen.



Algae	Light intensity	LC (% DW)	BP (mg L <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> )	LP (mg L <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> )
<i>Chlorella</i> sp. L1	LL	22.90 ± 0.18	192.28 ± 8.63	44.05 ± 2.31
	ML	28.70 ± 2.60	261.65 ± 5.13	75.08 ± 6.61
	HL	33.03 ± 1.34	217.41 ± 17.10	71.85 ± 6.95
<i>M. dybowskii</i> Y2	LL	30.70 ± 1.73	137.73 ± 4.17	42.34 ± 3.60
	ML	38.99 ± 1.04	217.90 ± 10.72	85.05 ± 6.52
	HL	43.47 ± 1.33	188.15 ± 6.30	81.81 ± 4.24

Algae	Light intensity	Protein (mg/g, DW)	Carbohydrate (mg/g, DW)	Lipid (mg/g, DW)
<i>Chlorella</i> sp. L1	LL	424.04 ± 18.84	343.84 ± 1.68	229.03 ± 1.84
	ML	373.87 ± 22.85	295.38 ± 2.55	287.03 ± 26.02
	HL	329.80 ± 11.69	269.62 ± 9.94	330.32 ± 13.41
<i>M. dybowskii</i> Y2	LL	384.14 ± 3.36	308.15 ± 11.05	307.07 ± 17.26
	ML	349.96 ± 8.11	213.13 ± 18.83	389.97 ± 10.44
	HL	323.82 ± 21.63	170.46 ± 5.88	434.73 ± 13.11

Tabla 1.6. Composición *Chlorella* sp. L1 y *M. dybowskii* Y2 bajo diferentes intensidades de luz Contenido de lípidos (LC), productividad de la biomasa (BP), productividad de lípidos (LP) y contenido de proteínas, carbohidratos y lípidos (Qiaoning He y col., 2015)

Para producir un kg de biomasa seca se necesitan como mínimo 1,88 kg de dióxido de carbono (Yusuf Chisti, 2008), aunque la cantidad realmente necesaria de CO<sub>2</sub> puede llegar a ser varias veces este valor, siempre dependiendo del sistema de cultivo, así como de las condiciones operativas. Por otro lado, el contenido de carbono, nitrógeno y fósforo de las microalgas suele variar entre 45-55%, 5-9% y 0,5-1,5% respectivamente.

#### 1.4.1.2. Sistemas de cultivo

Los sistemas de cultivo de microalgas pueden clasificarse en función de su configuración y su tipo de funcionamiento, en sistemas abiertos (estanques o HRAPs) y fotobiorreactores cerrados (FBRs).

- Los sistemas abiertos son los más comunes para la producción comercial de microalgas y son una tecnología relativamente sencilla, cultivándose las microalgas en estanques de unos 20 a 50 centímetros de profundidad. Los más empleados son los estanques de canales, que suelen ser de hormigón y ovalados, donde el cultivo se recircula y mezcla para favorecer la estabilización del crecimiento y productividad de las microalgas.

Las microalgas obtienen el CO<sub>2</sub> que necesitan por difusión desde la atmósfera o de emisiones de gases industriales, siendo necesario instalar difusores en el fondo del estanque en este último caso.

La producción mediante estanques tiene la gran ventaja de ser un método más barato que los FBRs, en inversión, mantenimiento y consumo energético. Sin embargo tiene desventajas, como su facilidad de contaminación, mezclado poco eficiente, la baja eficiencia en el transporte de CO<sub>2</sub> y la limitación de la luz en las capas más bajas del estanque. En estos sistemas es difícil mantener una sola especie (se puede lograr bajo condiciones de cultivo extremas), aunque esto sólo es válido para algunos tipos de algas.

En la Figura 1.18. se puede observar este tipo de configuración, a pequeña y gran escala.



*Figura 1.18. Estanques de cultivo.  
(Fuente: Microalgae Research Group, Uva (izquierda); Seambiotic Ltd (derecha))*

- b) Los fotobiorreactores son sistemas cerrados transparentes, de plástico o vidrio, con geometrías de diversos tipos (tubulares, cilíndricas o planas). Aparecen más tarde que los sistemas abiertos y su configuración y geometría dependen de condiciones locales, del producto a obtener y de las especificaciones económicas del proyecto.

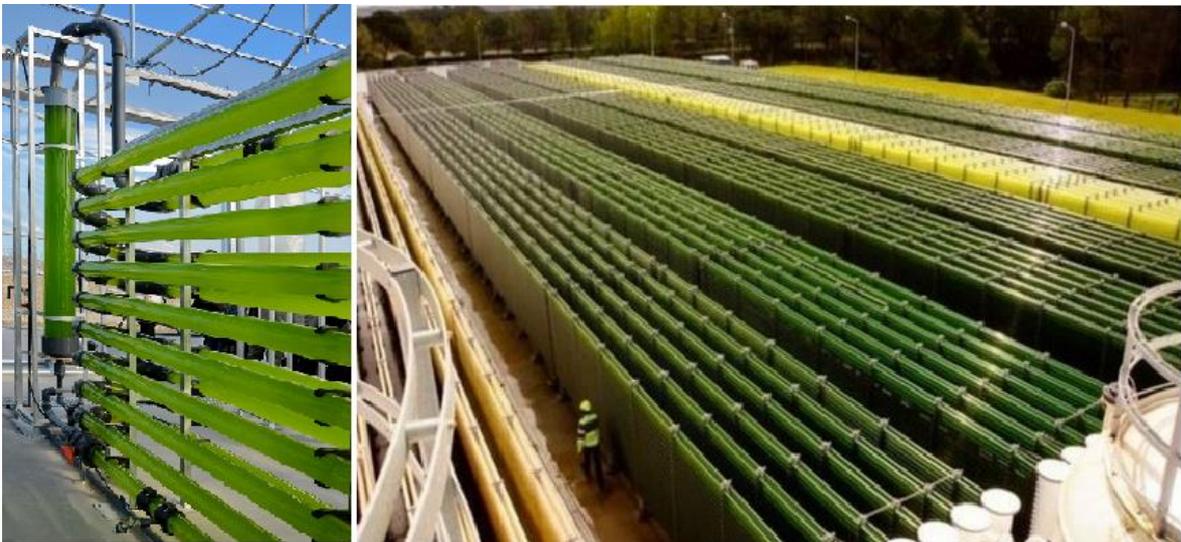
En estos sistemas se obtiene una mayor productividad, fundamentalmente porque mejora la eficiencia de la fotosíntesis y la capacidad de fijación del CO<sub>2</sub>. Frente a los estanques, los FBRs necesitan un menor espacio y ofrecen menores costes para la recolección de biomasa. Otra ventaja es su mayor facilidad para mantener un monocultivo sin contaminación por otras especies, lo que permite obtener un producto de pureza apta para su procesamiento en la industria farmacéutica o alimentaria.

Su desventaja fundamental es su coste, muy superior al de los estanques, tanto en inversión, como operación y mantenimiento. Además, la

productividad obtenida en los FBRs todavía no es la máxima teórica debido a efectos de fotoinhibición, temperatura y reflexión de luz. El desarrollo y optimización de FBRs que permitan el cultivo económico de microalgas a gran escala, es aún una de las principales tareas a realizar en este campo (Ho, 2011).

Hoy en día se están optimizando nuevos diseños de FBRs para mejorar su eficiencia y abaratar costes. De hecho, casi todas las plantas de producción operativas de microalgas a gran escala utilizan a día de hoy estanques abiertos (Molina Grima, 2003).

En la Figura 1.19. se puede observar este tipo de configuración, a pequeña y gran escala.



*Figura 1.19. Fotobiorreactores tubulares y cerrados.  
(Fuente: AlgaEnergy (izquierda); Shane Starling, nutraingredients (derecha))*

En la práctica, la eficiencia de fijación de CO<sub>2</sub> en los estanques puede ser únicamente del 35% y en los de poca profundidad disminuye incluso a un 10%. En cambio, la eficiencia de fijación en FBRs es superior llegando en fotobiorreactores tubulares hasta un 75% (Ho, 2011).

En la Tabla 1.7. se muestra una comparación de las variables más significativas que afectan al cultivo de microalgas en sistemas abiertos y fotobiorreactores. Como es de esperar, se obtienen mejores resultados en todas las variables mediante el cultivo en FBRs, excepto en aspectos relativos al precio y el escalado.



	Estanques	FBRs
Capacidad de fijación CO <sub>2</sub>	Baja	Alta
Productividad de biomasa	Baja	Alta
Velocidad de crecimiento	Baja	Alta
Riesgo de contaminación	Extremadamente alto	Bajo
Pérdidas por evaporación	Altas	Bajas
Eficiencia de fotosíntesis	Baja	Alta
Área superficial	Baja	Extremadamente alta
Control de proceso	Difícil	Fácil
Coste de operación	Bajo	Alto
Escalado	Fácil	Difícil

Tabla 1. 7. Comparación entre estanques y FBRs para el cultivo de microalgas (Fuente: F. Lamiot, *Uso y aplicaciones de microalgas*, 2014)

Como se ha comentado, las microalgas necesitan luz para realizar su ciclo vital, por lo que la elección y el diseño del reactor es un factor muy importante para que llegue la luz necesaria a la mayor parte del cultivo y así maximizar su exposición.

Como conclusión, un fotobiorreactor cerrado permitirá un control más eficaz del cultivo de microalgas, siempre a expensas de un mayor coste y de la posible desorción del O<sub>2</sub> que las microalgas producen (que puede provocar graves problemas en el sistema si se acumula demasiado), y la formación de biopelículas sobre la superficie interior de los tubos. Para evitar este último problema se puede operar con estrategias de adición de partículas de arrastre en suspensión junto con las microalgas, o bien proceder a la limpieza periódica de ciertas partes del FBR.

De esta manera, la elección de un fotobiorreactor u otro dependerá en gran medida del objetivo final de su cultivo, la calidad requerida en la biomasa algal y las cantidades necesarias a producir.

#### 1.4.1.3. Aplicaciones

Actualmente, la producción mundial de microalgas se destina principalmente a aplicaciones de alto valor añadido (Milledge, 2011), ya que la biomasa de algas contiene tanto vitaminas y pigmentos, que serían las aplicaciones de mayor valor, además de proteínas, lípidos esenciales, carbohidratos y minerales.

Los posibles usos de las microalgas son como fuente de energía, como biocatalizador para la biomitigación del CO<sub>2</sub> de gases de combustión y el tratamiento de aguas residuales, y como materia prima para la obtención de productos de alto valor añadido con aplicaciones en la alimentación humana, animal, cosmética, etc. La mayor parte de esta biomasa se comercializa como alimentos medicinales en forma de tabletas o polvo como aditivos.

Por otra parte, el consumo humano de microalgas está restringido a unas pocas especies debido a las estrictas regulaciones de seguridad alimentaria, factores comerciales y demanda del mercado. Las especies que mayoritariamente se cultivan para consumo humano son *Spirulina*, *Dunaliella* y *Chlorella*, que tienen como denominador común, crecer en estanques en ambientes altamente selectivos siendo inmunes a la contaminación de otras algas y protozoos. Podemos observarlas a continuación en la Figura 1.20. vistas al microscopio.

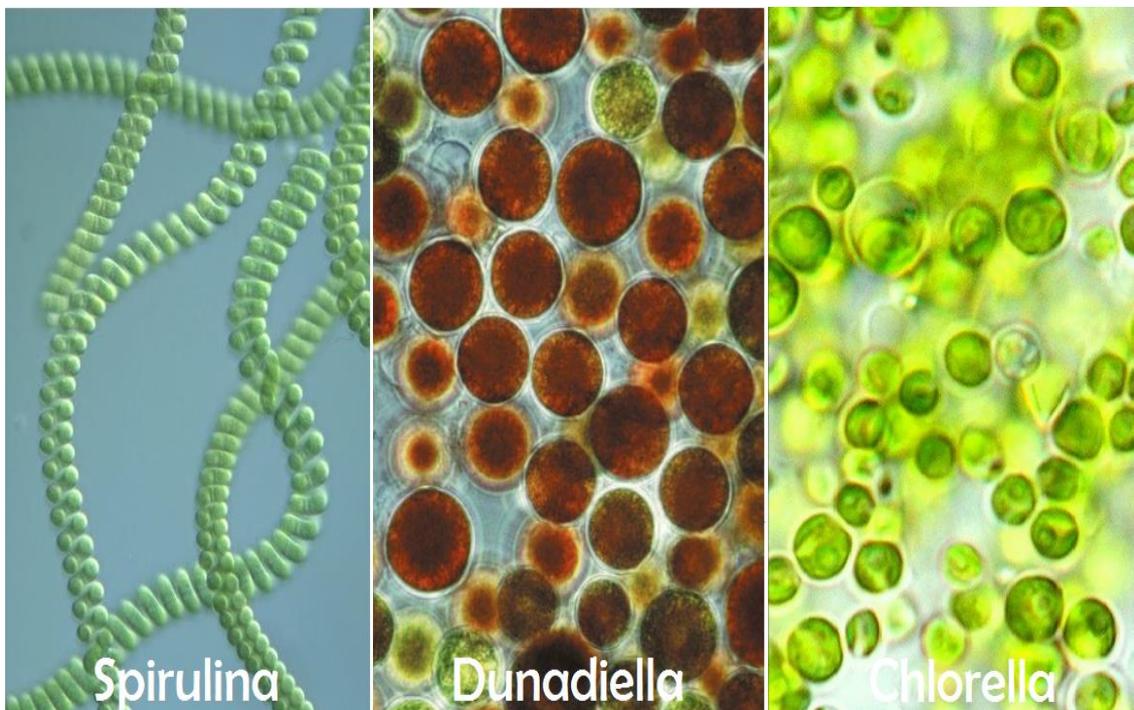


Figura 1.20. *Spirulina*, *Dunaliella* y *Chlorella* vistas al microscopio.  
(Adaptación de <http://www.algomed.de/es/galeria-fotografica/>)

Entre los beneficios citados, *Spirulina* (*Arthrospira*) se utiliza debido a su elevado contenido proteico y su excelente valor nutricional; también es una fuente esencial de ácidos grasos y ácido linoleico, el cual no pueden sintetizar los humanos. En cuanto a *Dunaliella* salina se utiliza fundamentalmente por su elevado contenido en  $\beta$ -caroteno (provitamina que se transforma en vitamina A cuando es asimilada por el organismo). Por su parte, *Chlorella* puede utilizarse para el tratamiento de úlceras gástricas, acción preventiva frente a la arterioesclerosis e hipercolesterol y actividad antitumoral.



Una de las aplicaciones más comunes de las microalgas es como fuente de proteínas, ya que contienen proteínas similares a los alimentos que ya ingerimos, pero cuentan con una mayor calidad y unas propiedades mejoradas. Por esta razón se utilizan como complementos alimenticios o formando parte de alimentos (aproximadamente un 30% de la producción actual de algas se vende para alimentación animal). Este es el caso de su uso como harinas o como alimentación animal, donde destaca como alimentación para peces.

Las microalgas son también una fuente de ácidos grasos poliinsaturados (Polyunsaturated fatty acids, PUFA) y suministran estos componentes vitales a plantas superiores y animales que carecen de las enzimas necesarias para sintetizarlos, siendo esenciales para el desarrollo humano y fisiológico. Estas limitaciones se han superado empleando los PUFA de las microalgas como aditivos a leches infantiles y a pollos para producir huevos enriquecidos con Omega-3. Algunas especies de microalgas producen extractos que se utilizan en productos cosméticos (cremas antiarrugas, regeneradoras, protección del sol, etc.).

En la Tabla 1.8. se resumen posibles aplicaciones de algunas especies de microalgas.

Especie de microalga	Posible aplicación
<i>Chorella</i>	Salud Aditivo de alimentación Nutrición animal Cosméticos Biocombustibles
<i>Dunaliella salina</i>	Betacaroteno Suplemento alimentario Cosméticos
<i>Botryococcus braunii</i>	Biodiesel
<i>Spirulina platensis</i>	Fármacos Nutrición humana
<i>Haematococcus pluvialis</i>	Astaxantina Aditivo alimentario Fármacos
<i>Artrospira</i>	Carotenos Cosméticos
<i>Nannocloropsis</i>	Ácido ecosapentanoico Biodiésel

Tabla 1.8. Posibles aplicaciones de algunas especies de microalgas  
(Fuente: F. Lamiot, 2014)

Debido al alto precio del petróleo, a problemas medioambientales globales y a la necesidad de independencia energética, las sociedades se han visto obligadas a buscar nuevas fuentes alternativas de energía, siendo las microalgas una opción muy atractiva. Es por esto que el aumento en el cultivo de algas se debe básicamente a sus propósitos energéticos, siendo su principal uso para la obtención del biodiesel o incluso otros biocombustibles.

En la actualidad, la tecnología necesaria para obtener biocombustibles a partir de las microalgas a escala industrial no está disponible. Los valores teóricos y los obtenidos a escala de laboratorio o de planta piloto, dan fe de la potencialidad de estas tecnologías para la obtención de biocombustibles. Sin embargo, estas tecnologías no son económicamente viables ni medioambientalmente sostenibles a día de hoy (F. Lamiot, 2014).

No debemos olvidar que las microalgas representan un recurso en gran parte sin explotar ya que sólo se ha estudiado una pequeña parte de ellas.

En la Figura 1.21. se muestra un modelo conceptual para la integración de la producción de biomasa de microalgas y la producción de biocombustibles.

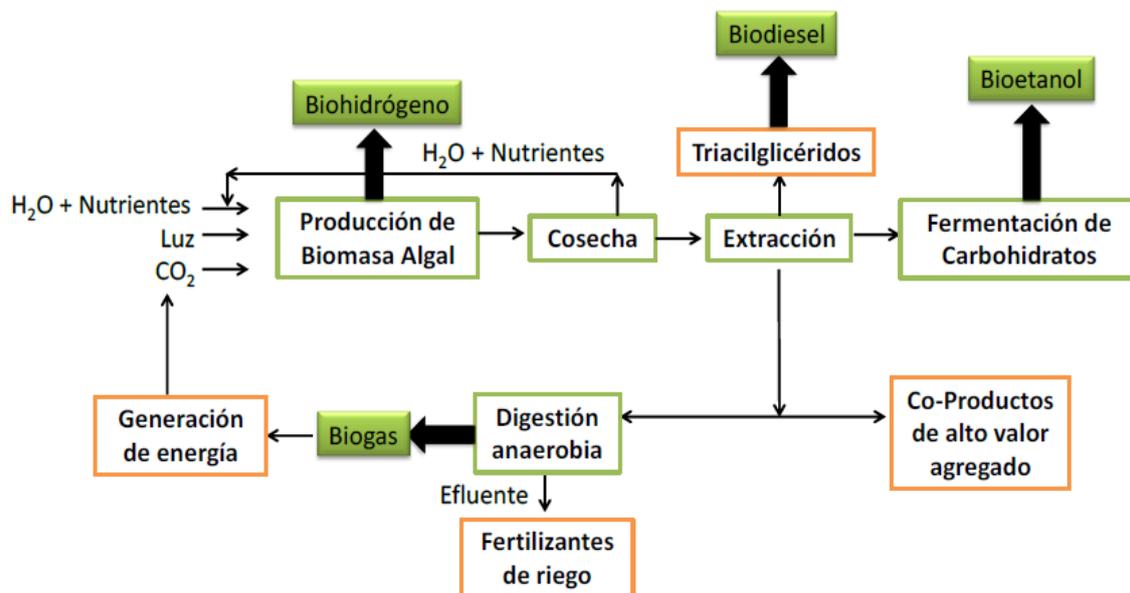


Figura 1.21. Producción de biomasa de microalgas y de biocombustibles (Adaptación de Singh y Dhar, 2010)

El biodiésel de microalgas ha sido el biocombustible más estudiado ya que estas son la mejor fuente de lípidos convertibles a biodiésel debido a su elevado crecimiento y posibilidad de acumular altos porcentajes bajo limitación de nutrientes. El parámetro clave para que esta producción sea factible es la productividad de lípidos, que depende tanto de la productividad de la biomasa de microalgas como del contenido celular de lípidos en la propia microalga (Q. Li y col., 2008).

Desafortunadamente, es muy difícil obtener altas productividades de lípidos, dado que las células con alto contenido lipídico se obtienen bajo condiciones de estrés fisiológico, el cual está asociado a condiciones limitantes de nutrientes y, por ello, se obtiene una baja productividad de biomasa. El contenido total de lípidos en las microalgas se suele encontrar entre el 20% y el 50% del peso seco, dependiendo de la especie y de las condiciones de cultivo (Yusuf Chisti, 2007). Los factores que más afectan a la alta productividad de lípidos son la deficiencia de nutrientes (nitrógeno, fósforo, azufre y silicio), especialmente el nitrógeno (Gouveia y Oliveira, 2009), y las altas intensidades luminosas, ya que incrementan la cantidad de triglicéridos.

### 1.4.2. Interacciones microalga-bacteria

La eliminación de contaminantes (C, N, P y patógenos) de las aguas residuales domésticas en cualquier fotobiorreactor algal-bacteriano se basa en la hidrólisis-oxidación de materia orgánica y nutrientes en CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (o NH<sub>4</sub><sup>+</sup> en ausencia de nitrificación) y PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>; así como de la asimilación de parte de la materia orgánica, nutrientes y CO<sub>2</sub> en la biomasa. Estos procesos se llevan a cabo por microalgas y bacterias en conjunto, las cuales pueden desempeñar funciones tanto complementarias como competitivas.

En presencia de luz, las microalgas (o cianobacterias) como cualquier planta producen el O<sub>2</sub> usando el CO<sub>2</sub> liberado durante el proceso de mineralización (Figura 1.22.). Recientemente, esta sinergia microbiana ha sido optimizada en fotobiorreactores avanzados que consiguen una mayor eliminación de nitrógeno (Alcántara y col., 2015, de Godos y col., 2014). Dado que el O<sub>2</sub> producido durante la asimilación fotosintética del CO<sub>2</sub> se origina a partir de la oxidación bioquímica de agua, el suministro potencial de O<sub>2</sub> de este tipo de procesos basados en microalgas es casi ilimitado.

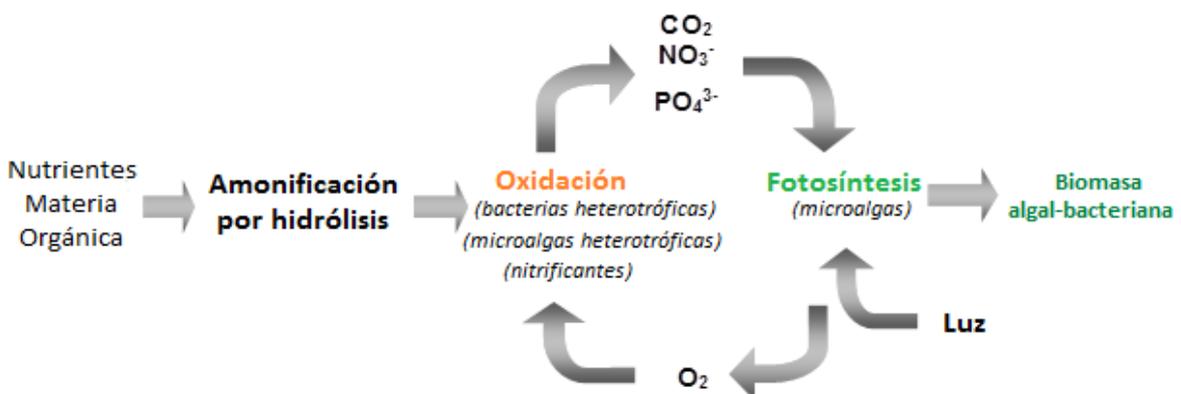


Figura 1.22. Diagrama esquemático de la simbiosis en consorcios algal-bacterianos durante el tratamiento de aguas residuales domésticas. (Fuente: Alcántara y col., 2015)



Sin embargo, las interacciones entre microalgas y bacterias no sólo se limitan a un simple intercambio de CO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub>, sino que también pueden ejercer efectos mutuos sinérgicos y antagonistas sobre su actividad respectiva (Figura 1.23.).

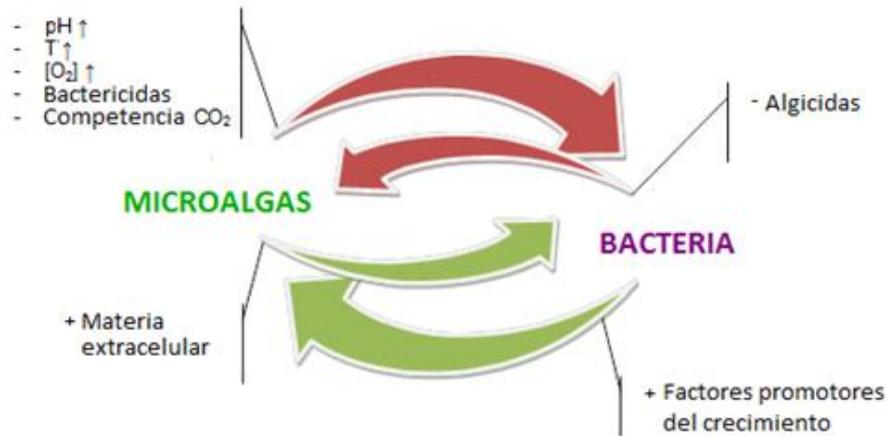
Por tanto, las microalgas pueden causar un efecto negativo en la actividad bacteriana debido a:

- a) El aumento inducido por fotosíntesis del pH (hasta 10 - 11), la concentración de oxígeno disuelto (hasta 30-40 mg/L) y la temperatura del caldo de cultivo
- b) La excreción de metabolitos inhibitorios
- c) Una competencia más eficiente por el carbono inorgánico (Oswald, 2003).

De hecho, estos mecanismos antibacterianos son responsables de la eliminación del 99% de la concentración de patógenos como *Escherichia Coli* en estanques de algas de alta tasa de tratamiento de aguas residuales domésticas (Posadas y col., 2015). De la misma manera, Muñoz y sus colaboradores recientemente han informado de una inhibición de la actividad de nitrificación mediada por microalgas como resultado a la competencia que se produce por el CO<sub>2</sub> entre microalgas y bacterias nitrificantes (Alcántara y col., 2015 ; de Godos y col., 2014).

Por otra parte, las microalgas pueden ejercer una influencia positiva en la actividad bacteriana al liberar materia extracelular que cometabolicamente ayuda a la degradación bacteriana de los contaminantes recalcitrantes (Wolfaardt y col., 1994). Además, el crecimiento bacteriano puede potenciar la actividad de las microalgas mediante la liberación de factores promotores del crecimiento (González y Bashan, 2000 ; Kazamia y col., 2000), y así aliviar la inhibición de la actividad de las microalgas a altas concentraciones de O<sub>2</sub> (Mouget y col., 1995). Por su parte, las bacterias también pueden inhibir a las microalgas produciendo metabolitos algicidas extracelulares (Fukami y col., 1997).

Las interacciones descritas entre microalgas y bacterias pueden ser aún más complejas, con lo que puede aparecer una selección mutua de grupos comunitarios e incluso determinar las variaciones en la estructura de las comunidades. En este contexto, la implementación de herramientas moleculares avanzadas permitirá identificar especies que tienden a aparecer juntas en relaciones simbióticas y correlacionar la estructura de la población con las funcionalidades macroscópicas observadas en el fotobiorreactor (Ferrero y col., 2012).



*Figura 1.23. Interacciones entre microalgas y bacterias durante el tratamiento de aguas residuales en fotobiorreactores algal-bacterianos. (Oswald, 2003)*

## 1.5. Aguas residuales

Las aguas residuales son cualquier tipo de agua cuya calidad se haya visto afectada negativamente por influencia de la acción humana. Las aguas residuales incluyen las aguas usadas domésticas y urbanas, y los residuos líquidos industriales o mineros eliminados, o las aguas que se mezclaron con las anteriores (aguas pluviales o naturales). Su importancia es tal que requiere sistemas de canalización, tratamiento y evacuación. Su tratamiento nulo o indebido genera graves problemas de contaminación para el medio ambiente.

### 1.5.1. Problemática de las aguas residuales

Todas las aguas residuales deben ser tratadas, tanto para proteger la salud pública como para preservar el medio ambiente, y previamente se deberá conocer su composición. Esto se consigue en una estación depuradora de aguas residuales (EDAR), cuya función es eliminar toda contaminación química y bacteriológica que contenga el agua y pueda ser nociva para los seres humanos, la flora y la fauna. Por otra parte, el proceso debe ser optimizado de manera que la planta no genere olores ofensivos.

Una planta de aguas residuales bien operada debe eliminar al menos un 90 % de la materia orgánica y de los microorganismos patógenos presentes en ella. De esta manera, el agua se devuelve al medio ambiente en condiciones adecuadas.

Debido a las regulaciones ambientales cada vez más estrictas, y a las crecientes expectativas de la población sobre las obligaciones de las compañías privadas de

agua, el número de quejas de olor público ha aumentado sustancialmente durante las últimas décadas. Más de la mitad de las quejas recibidas por las agencias reguladoras ambientales en todo el mundo se refieren a malos olores.

En este contexto, las emisiones olorosas de las EDAR, compuestas principalmente de compuestos sulfurados (H<sub>2</sub>S y mercaptanos) y compuestos orgánicos volátiles, se clasifican entre las más desagradables. Por lo tanto, la minimización y reducción de las emisiones de olores desagradables se está convirtiendo en uno de los mayores desafíos para las empresas de servicios públicos de tratamiento de aguas residuales de todo el mundo, cada vez más preocupados por su imagen pública (Muñoz y Lebrero, 2015). En la Figura 1.24. se puede observar la configuración de una de estas estaciones.



*Figura 1.24. Vista aérea de una EDAR.  
(Fuente: <http://www.masscience.com/2015/07/07/que-hariamos-sin-edar/>)*

### **1.5.2. Integración del tratamiento de aguas residuales en el proceso**

El empleo de aguas residuales como medio de cultivo presenta una opción económica y medioambientalmente sostenible de cultivar microalgas y captura de CO<sub>2</sub>. El agua residual contendrá todos los nutrientes necesarios para el metabolismo de las microalgas como fosfatos, sulfatos y nitrógeno, constituyendo así una primera etapa de tratamiento de esta agua residual con la consiguiente reducción de los caudales de



agua residual a tratar en la EDAR. Cabe destacar que la composición puede sufrir fluctuaciones por su propia naturaleza, aunque podemos considerar que será constante.

Asimismo, durante una parte de la experimentación se utilizaron aguas residuales como fuente de nutrientes, confirmando la posibilidad de trabajar con esta fuente en lugar de con medio mineral sintético. La degradación de los compuestos contaminantes de estas aguas hasta los compuestos asimilables por las microalgas de nuestro medio de cultivo se lleva a cabo mediante la acción de las bacterias presentes en el caldo de cultivo, consiguiendo una purificación de las aguas residuales.

## 1.6. Sistema de estudio

Con todo lo expuesto anteriormente, en nuestro estudio, se utilizó una especie de microalga junto con lodo activo (conjunto de bacterias) en un FBR tubular cerrado, de manera que conseguimos que consuma en un primer estudio el CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>S de una corriente de biogás, así como en un segundo estudio el CO<sub>2</sub> de un gas de combustión.

Ambos análisis se realizaron buscando una absorción previa del gas a tratar en una columna de absorción operada en co-corriente con el caldo de cultivo del sistema.

El fotobiorreactor de estudio se encontraba operando en el momento de comenzar este trabajo fin de grado, cuyo objetivo se centró en la optimización de las condiciones de operación para la depuración de gases de CO<sub>2</sub> con diferentes medios de cultivo y estrategias de operación para modificar la composición de la biomasa algal generada.



## 2. *Objetivos*



## 2.1. Objetivo general

Estudiar la eliminación de dióxido de carbono presente en biogás y en gases de combustión para conseguir la purificación de los mismos mediante tecnologías de microalgas-bacterias de bajo coste y medioambientalmente sostenibles.

## 2.2. Objetivos específicos

- Estudiar la eliminación del CO<sub>2</sub> y del H<sub>2</sub>S de biogás en un fotobiorreactor tubular de microalgas y bacterias bajo diferentes condiciones de operación.
- Estudiar la eliminación del CO<sub>2</sub> presente en un gas de combustión en un fotobiorreactor tubular de microalgas bajo diferentes condiciones de operación.
- Estudiar la influencia del uso de aguas residuales procedentes de digestatos de EDAR como medio de cultivo en los fotobiorreactores.
- Determinar el efecto de la limitación de nitrógeno sobre el crecimiento y la acumulación de lípidos y carbohidratos de la microalga *Chlorella Sorokiniana*.



# ***3. Materiales y Métodos***

Pese a ser muchos los estudios de purificación de gases y tratamiento de aguas residuales mediante microalgas, este estudio se centrará en el rendimiento según unos patrones establecidos para la limpieza de biogás sintético y de gases de combustión.

Una vez establecidas las bases del estudio y conocida la función y utilidad de las microalgas, así como los tipos de reactores disponibles, se describe el funcionamiento del sistema experimental. Además, se presentan paso a paso los métodos analíticos empleados.

## 3.1. Inóculo y medio mineral

### 3.1.1. Microalgas

El alga empleada en este estudio fue *Chlorella Sorokiniana*, caracterizada por su forma esférica y de entre 2 y 10 micras de diámetro (Figura 3.25.). Esta especie, es la que mayor porcentaje de clorofila tiene, por lo que se multiplica rápidamente, requiriendo únicamente dióxido de carbono, agua, luz solar y pequeñas cantidades de minerales (Wan y col., 2012).

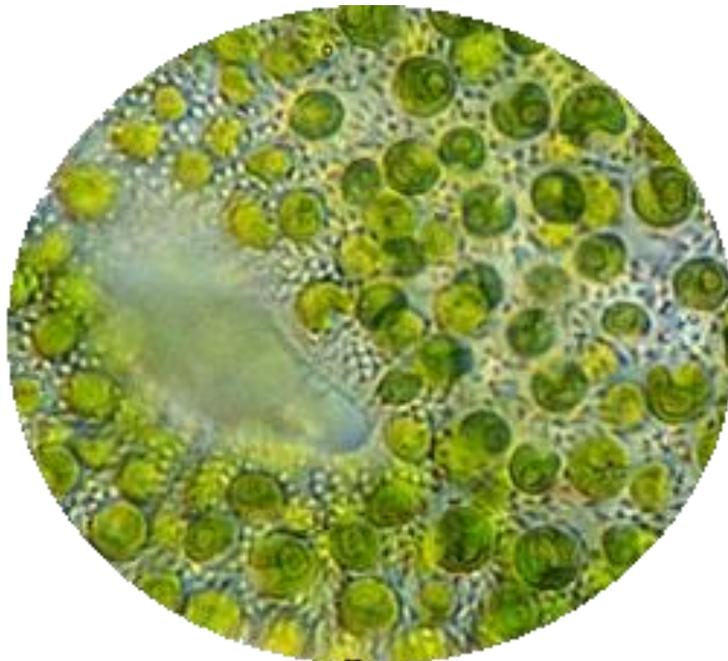


Figura 3.25. *Chlorella sorokiniana* al microscopio  
(Fuente: VladiDamian 2016)

*Chlorella sorokiniana* es una microalga verde de agua dulce con un característico color verde esmeralda y un agradable olor a hierba. Su tasa de división celular es bastante rápida y se divide en cuatro nuevas células cada 17 a 24 horas. Esta microalga también



se ha utilizado ampliamente como un sistema modelo para estudiar las enzimas implicadas en el metabolismo vegetal más elevado. Además, esta especie ha sido anteriormente utilizada para investigar una manera de mejorar la eficiencia de producción de biocombustibles (Wang y col., 2008).

Tal y como se explicó en la introducción, las algas para realizar la fotosíntesis toman el CO<sub>2</sub> que introducimos en la corriente gaseosa y expulsan O<sub>2</sub>. Para ello necesitan una fuente de energía como es la luz solar (en nuestro caso artificial), y una serie de micronutrientes. Con estos aportes, favorecemos que los microorganismos puedan realizar su metabolismo y reproducción, de manera que esta serie de necesidades serán las que debamos suministrar al sistema para un correcto funcionamiento.

En este trabajo fin de grado, *Chlorella sorokiniana* se obtuvo de la colección de microalgas de SAG (*Sammlung von Algenkulturen der Universität Göttingen*), que es un centro integral de recursos biológicos de material de cultivo vivo de microalgas, el cual está entre las tres mayores colecciones de servicios de algas en el mundo.

### 3.1.2. Propagación y medio de cultivo

Las concentraciones del medio sintético utilizado para el cultivo de *Chlorella Sorokiniana* se obtuvieron de un medio Bristol modificado, y fueron las indicadas en la Tabla 3.9. Se indica también en la tabla la casa comercial donde se adquirió cada una de las sales.

Componente	Cantidad	Concentración de Disolución Madre	Concentración Final
NaNO <sub>3</sub> (Fisher BP360-500)	10 mL/L	10 g/400 mL H <sub>2</sub> O	2,94 mM
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O (Sigma C-3881)	10 mL/L	1 g/400 mL H <sub>2</sub> O	0,17 mM
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O (Sigma 230391)	10 mL/L	3 g/400 mL H <sub>2</sub> O	0,3 mM
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (Sigma P 3786)	10 mL/L	3 g/400 mL H <sub>2</sub> O	0,43 mM
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (Sigma P 0662)	10 mL/L	7 g/400 mL H <sub>2</sub> O	1,29 mM
NaCl (Fisher S271-500)	10 mL/L	1 g/400 mL H <sub>2</sub> O	0,43 mM

Tabla 3.9. Concentración de nutrientes incorporados como medio de cultivo



A la disolución anterior se añade 1mL/L de una disolución de micronutrientes con una composición indicada en la Tabla 3.10.

Componente	Cantidad	Concentración Final
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> (Baker 0084)	2,86 g/L	46 mM
MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O (Baker 2540)	1,81 g/L	9 mM
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O (Sigma Z 0251)	0,22 g/L	0,77 mM
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O (J.T. Baker 3764)	0,39 g/L	1,6 mM
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O (MCIB 3M11)	0,079 g/L	0,3 mM
Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O (Mallinckroft 4544)	49,4 g/L	0,17 mM

*Tabla 3.10. Concentración de micronutrientes incorporados al medio*

Este medio de cultivo se preparó en agua destilada y desionizada. Con el objeto de establecer en el fotobiorreactor condiciones de cultivo bajo limitación de nutrientes, el medio mineral arriba descrito se preparó de forma similar a lo descrito en las Tablas 3.10. y 3.11., eliminando la fuente de nitrógeno.

Finalmente, en una tercera etapa el medio mineral sintético fue sustituido por un centrado de la depuradora de aguas residuales (proveniente de la centrifugación del lodo mixto digerido) de Valladolid empleado como fuente de nutrientes. Este centrado fue diluido con agua potable en una proporción 1:10.

El flujo de entrada del medio de cultivo se calculó de acuerdo a la necesidad de nitrógeno del sistema para el crecimiento de las microalgas en función de su concentración en el caldo. Para ello se asumió un contenido del 6,5% en peso de nitrógeno en la biomasa algal y adicionalmente, este flujo debe evitar el lavado de biomasa.

## 3.2. Sistema experimental

El sistema experimental estuvo compuesto por un fotobiorreactor tubular cerrado, interconectado a una cámara de mezcla y a una columna de absorción. Los volúmenes fueron respectivamente 45,6, 65 y 2,4 L, haciendo un total de 113 litros, con una velocidad de recirculación en el fotobiorreactor de 0,5 m/s obtenida mediante una bomba centrífuga. La temperatura del cultivo se mantuvo dentro de unos límites admisibles de entre 22 y 28°C.

El procedimiento experimental se dividió en cuatro etapas (ver apartado 3.3.). En la primera y segunda etapa se mantuvo un caudal de alimentación constante a lo largo del experimento de medio sintético (aporte de nutrientes), de 3,06 y 10,14 mL/min respectivamente. Por su parte, el flujo de gas fue fijado en 34 mL/min. Ambas corrientes fueron suministradas durante el periodo de iluminación del fotobiorreactor con el objetivo de favorecer la fotosíntesis algal.

En las dos etapas restantes la alimentación de nutrientes se realizó mediante el aporte de centrado, manteniendo fijos tanto el caudal de líquido de la segunda etapa, como el caudal de gas entrante, pero siendo introducidos durante las horas de oscuridad, ya que en esta ocasión el objetivo era forzar a los microorganismos a subsistir a partir de la mínima cantidad nutrientes. Es por ello que en la tercera etapa se disminuyó prácticamente en su totalidad la adición de nitrógeno. Por último, durante la cuarta etapa, se introdujo diariamente la cantidad exacta de nitrógeno necesario que los organismos necesitaban para subsistir.

A continuación se muestran los esquemas del sistema empleado para el tratamiento de biogás (etapa 1, Figura 3.26.) y para el tratamiento de los gases de combustión (etapas 2, 3 y 4, Figura 3.27).

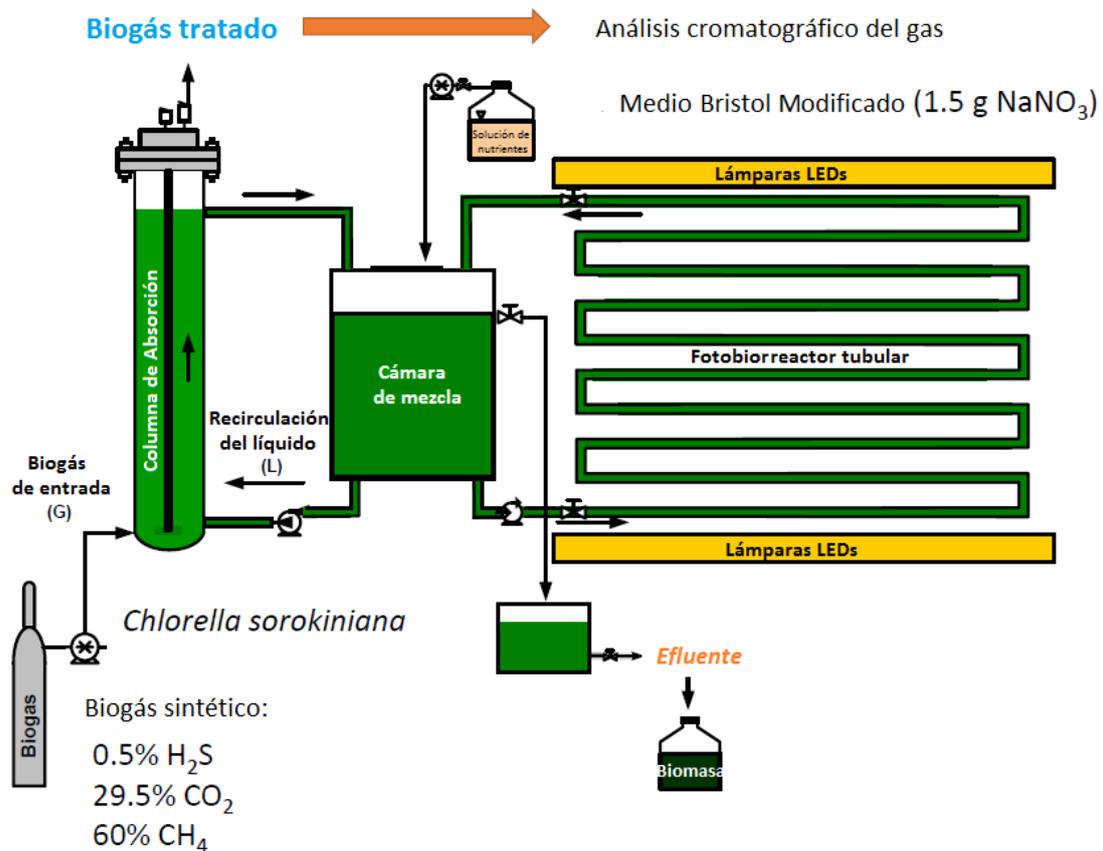


Figura 3.26. Diagrama del sistema experimental para tratamiento de biogás sintético

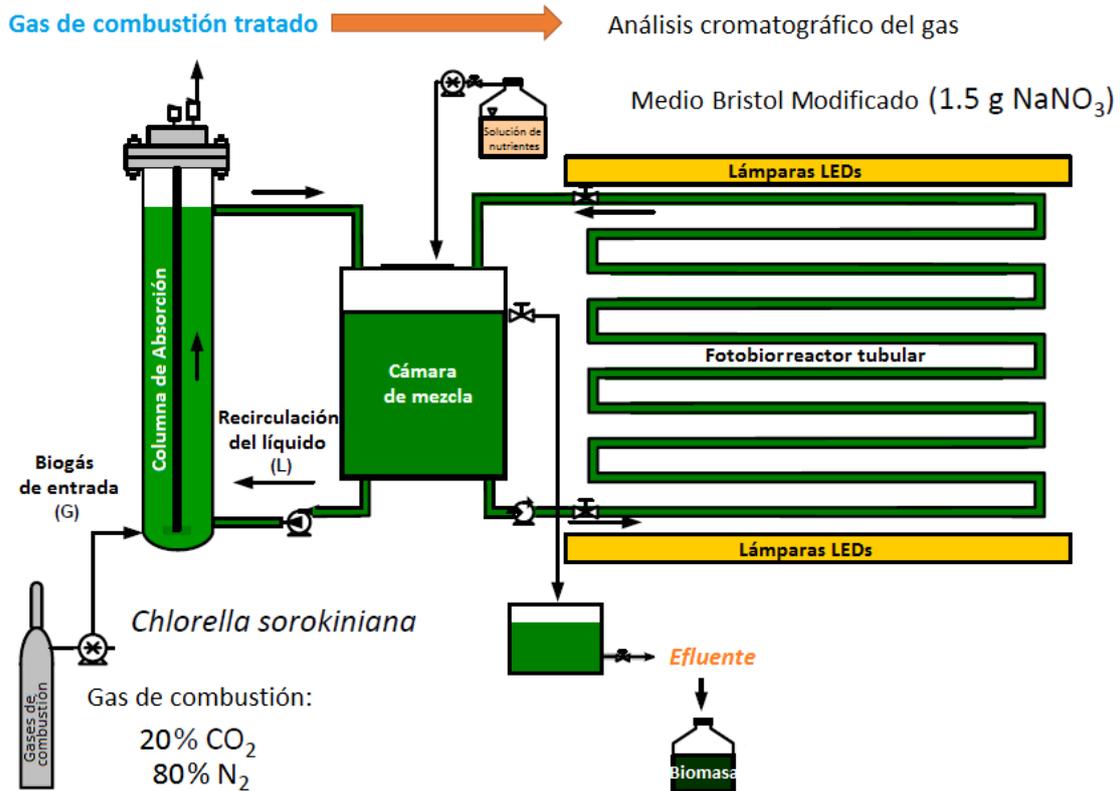


Figura 3.27. Diagrama del sistema experimental para el tratamiento de gases de combustión

Como se puede observar en ambas figuras, el caldo de cultivo circulaba a través del reactor tubular impulsado por una bomba centrífuga desde la cámara de mezcla. Una parte de este caldo de cultivo se recirculaba a través de la columna de absorción mediante una bomba de impulsión en sentido ascendente, donde entraba en contacto con la corriente de gas (biogás o gas de combustión). Este gas era alimentado a la torre de absorción a través de un difusor metálico de 2 micras de diámetro de burbuja (Figura 3.28., Supelco, EEUU), de manera que ambos fluidos circulaban en co-corriente desde la parte inferior. Desde la cámara de mezcla se retiraba el efluente por rebose, recolectándose en una garrafa y permitiendo así separar el sobrenadante y obtener la biomasa.



Figura 3.28. Difusor metálico de burbujeo para la corriente gaseosa.  
(Fuente: Supelco)



De esta forma, se conseguía llevar a cabo un intercambio de CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub> entre gas y líquido, de manera que el CO<sub>2</sub> era absorbido en la corriente líquida que posteriormente se recirculaba al reactor (previo paso por la cámara de mezcla).

Se detallan a continuación cada uno de los componentes del sistema experimental.

### 3.2.1. Suministro de gas con CO<sub>2</sub>

El biogás sintético (70% CH<sub>4</sub>, 29,5% CO<sub>2</sub>, 0,5% H<sub>2</sub>S, Abello Linde, España) empleado para el primer estudio, era incorporado al sistema a través de la columna de absorción desde bolsas Tedlar herméticas de 2 L de capacidad mediante una bomba peristáltica. Esta forma de trabajo se estableció para evitar tener una bombona de un gas tan peligroso en el laboratorio que pudiera dar lugar a posibles fugas o explosiones, dado el potencial de explosividad del metano y la toxicidad del H<sub>2</sub>S. Estas bolsas se mantuvieron aisladas en un recipiente de plástico rígido para evitar en la medida de lo posible el contacto con el operario (ver Anexo B.2. Hojas de seguridad).

Las bolsas se vaciaban a diario antes de ser llenadas de nuevo con el fin de evitar introducir nitrógeno y oxígeno al sistema. El suministro de biogás al sistema tuvo lugar únicamente durante las 12 horas de iluminación del fotobiorreactor.

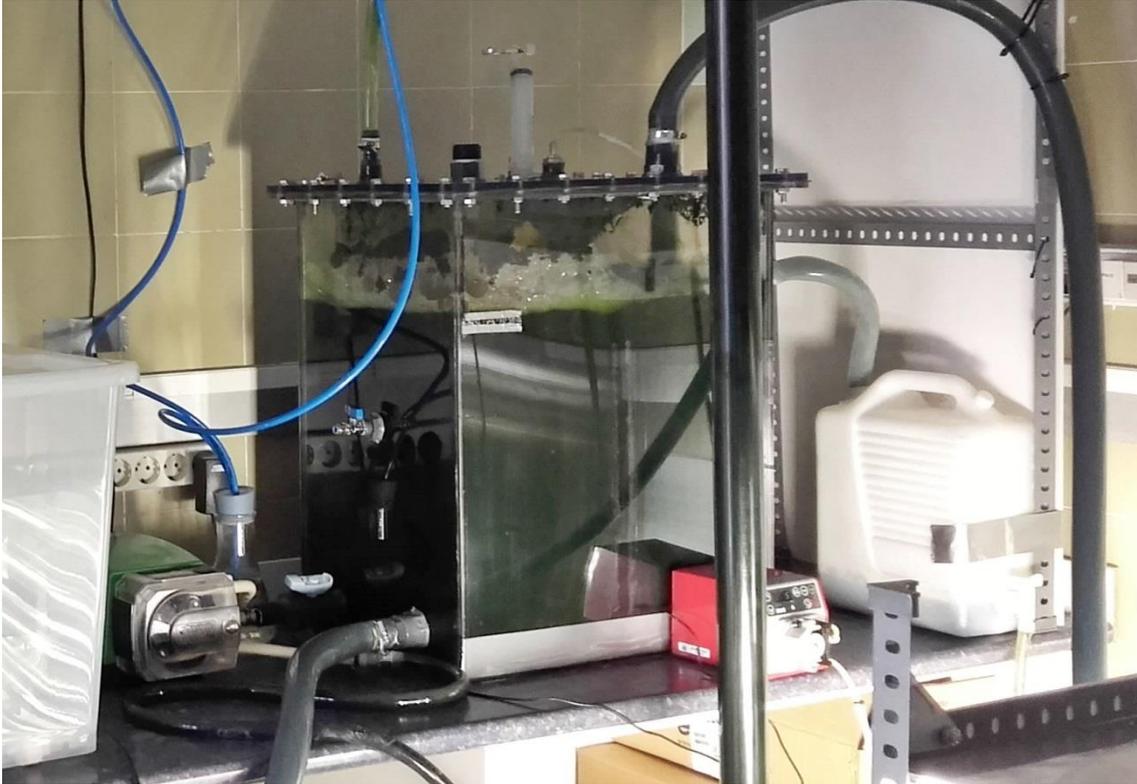
Por otro lado, el abastecimiento de los gases de combustión al fotobiorreactor (a través de la columna de absorción) se realizó mediante una bombona de biogon 20 (80% N<sub>2</sub> y 20% CO<sub>2</sub>, Abello Linde, España) conectada de manera directa desde el propio laboratorio, controlando el caudal de entrada mediante un controlador de flujo másico.

### 3.2.2. Cámara de mezcla

El sistema experimental disponía de una cámara de PVC transparente de 113 litros de capacidad (Figura 3.29.) que contenía 65 L de medio de cultivo. Esta cámara permitía mezclar el medio de nutrientes y suministrar el caldo de cultivo tanto al fotobiorreactor a la columna de absorción.

La cámara se mantuvo hermética con el objetivo de evitar la intrusión de aire que contaminase con O<sub>2</sub> y N<sub>2</sub> el biometano o gases tratados, lo cual se consiguió mediante un sello hidráulico en la tubería de salida de evacuación del medio. En la cámara se colocó un punto de muestreo de caldo de cultivo para la monitorización del oxígeno disuelto, el pH y la temperatura del medio, la cual se mantuvo en torno a 25 (± 3 °C).

La cámara contaba además con un rebose de salida de caldo de cultivo colocado a una cierta altura, con el fin de evacuar el efluente y mantener un volumen constante en el sistema de estudio. El flujo de medio de cultivo evacuado se medía diariamente en el recipiente de recolección conectado al rebose de la cámara de mezcla.



*Figura 3.29. Cámara de mezcla hermética*

### 3.2.3. Fotobiorreactor tubular cerrado

La parte principal del sistema responsable de la captura del CO<sub>2</sub> y crecimiento de microalgas es el fotobiorreactor tubular, el cual consiste en un total de 12 tubos de metacrilato de 0,94 m de longitud y 6 cm de diámetro colocados en serie (Figura 3.30.). El volumen total de trabajo del fotobiorreactor es de 45,55 L.

En estudios previos del grupo de investigación se observó la formación de biopelícula sobre la superficie interna de los tubos del fotobiorreactor, que afectaba a la penetración de la luz. Por ello se decidió introducir una pequeña cantidad de polímeros de abrasión con densidad similar a la del agua, que al rozar con los tubos evitasen o disminuyeran lo máximo posible esta adhesión de biomasa en la pared interna. El caldo de cultivo de microalgas circuló a través de los tubos con una velocidad de 0,5 m/s.

El fotobiorreactor se iluminó con luz blanca mediante un total de 6 placas LED situadas a ambos lados del sistema que irradiaban su superficie con una radiación fotosintéticamente activa de  $\sim 1100 \mu\text{mol}/\text{cm}^2\text{s}$ , alternando ciclos de 12 horas de luz / 12 horas de oscuridad de manera que se simuló un ciclo de radiación solar.



*Figura 3.30. Fotobiorreactor tubular*

### 3.2.4. Bombas

A lo largo de todo el sistema se emplearon distintas bombas:

- Bomba peristáltica de introducción del medio de cultivo. Dicha bomba operaba con un flujo de 2,2 y 7,3 L/día en función del experimento, introduciendo el medio de cultivo desde un contenedor de 25 L a la cámara de mezcla.
- Bomba centrífuga para la circulación del caldo por el fotobiorreactor tubular, la cual debía impulsar también los polímeros de abrasión para evitar la formación de biopelículas. Esta bomba impulsaba el caldo de cultivo desde la cámara de mezcla a una velocidad de 0,5 m/s.



- Bomba peristáltica que impulsaba el caldo de cultivo desde la cámara de mezcla por la columna de absorción de manera ascendente con una velocidad de 355 mL/min. Se instaló una malla que impidiese el paso de las partículas de abrasión a la columna. El retorno del caldo de cultivo con el CO<sub>2</sub> absorbido desde la columna a la cámara de mezcla se llevó a cabo por gravedad.
- Bomba peristáltica de abastecimiento de biogás a la columna de absorción desde las bolsas Tedlar (únicamente en la primera etapa experimental). Para el resto de la experimentación se trabajó con gases de combustión sintéticos introducidos directamente desde la botella mediante un controlador de flujo. Indistintamente del experimento, la velocidad de circulación de la corriente gaseosa por la columna se fijó en 34 mL/min.

### 3.2.5. Columna de absorción

La absorción es una operación en la que se transfiere materia desde una corriente gaseosa a otra líquida. Constituye el fenómeno básico de numerosos equipos y procesos industriales de separación, y en el caso de nuestro sistema determina la eficiencia de purificación de los gases a tratar.

Con esta columna de absorción estándar se buscaba limpiar una corriente gaseosa haciéndola pasar a través de un líquido de lavado (el caldo de cultivo), de manera que los compuestos a eliminar del gas (CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>S) eran transferidos a la fase líquida. El contacto entre las dos fases produce la transferencia del soluto de la fase gaseosa a la fase líquida, debido a que el soluto presenta afinidad por el disolvente.

Se busca que este contacto entre corrientes sea el máximo posible, así como que el tiempo de residencia sea suficiente para que el soluto pueda pasar en su mayor parte de una fase a otra y conseguir por tanto una mayor limpieza del gas a tratar.

El nivel de líquido en la columna de 5 cm de diámetro empleada en esta experimentación fue de 1,25 m, lo que representó un volumen total de 2,45 litros. La columna (Figura 3.31.) operada en co-corriente, fue fabricada en PVC transparente con cuatro aperturas (dos en la parte inferior y otras dos en la parte superior):

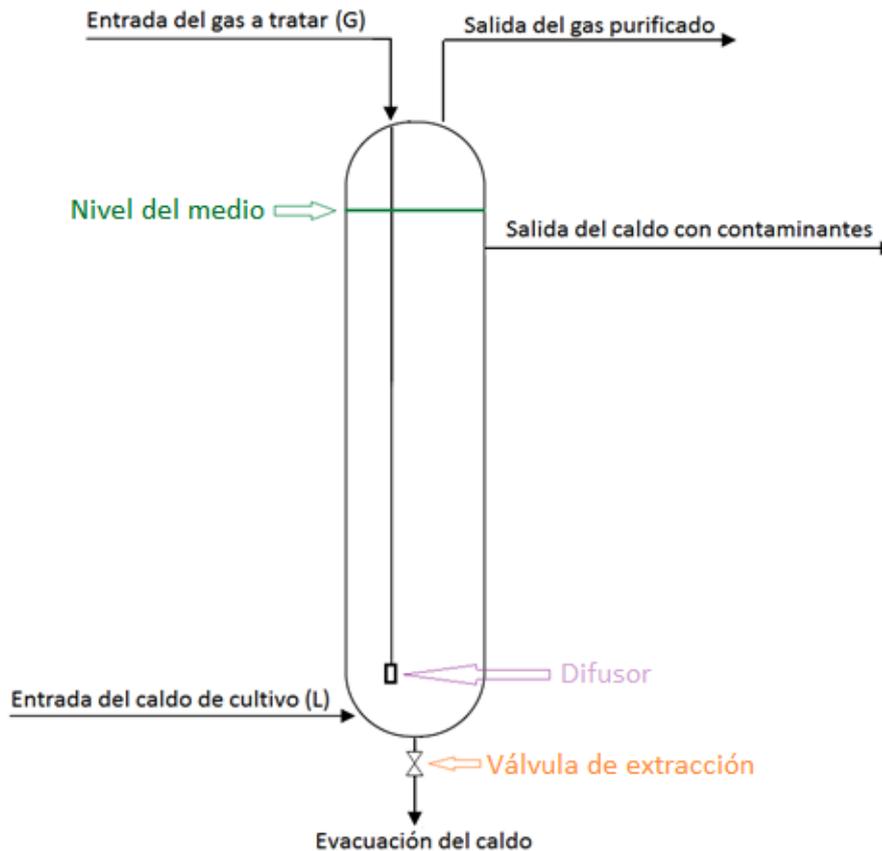


Figura 3.31. Columna de absorción

- Parte inferior:
  - Entrada del caldo por un lateral con flujo controlado.
  - Válvula en la parte inferior para el vaciado total o parcial de la columna.
- Parte superior:
  - Entrada del gas a tratar por la conducción metálica hasta el fondo de la columna donde se situó el difusor. Éste hace burbujear el gas en paralelo o co-corriente con el medio para que se produzca el intercambio.
  - Tubo de salida del gas ya tratado que ventea a un ventilador, expulsando el gas tratado al exterior.

De esta manera, en la torre de absorción ambas corrientes circulan en sentido ascendente. El caldo de cultivo lo hace impulsado por la bomba peristáltica antes citada, mientras que el gas asciende como consecuencia de la diferencia de presión entre la entrada y la salida de la columna. El montaje experimental dispone de puertos toma-muestras para la medición de la composición de los gases de entrada y salida.

El caudal del gas suministrado a la columna (G) fue de 34 mL/min y el de recirculación del caldo de cultivo de 355 mL/min, lo que representó una L/G óptima de 10. Esta relación óptima para la maximización del transporte de CO<sub>2</sub> gas-líquido fue obtenida en un estudio previo expuesto en el Anexo A.2.

Con cierta regularidad se realizaba una limpieza del espacio de cabezas de la columna, en la que se acumulaban restos de biomasa liberada por stripping. Periódicamente se purgaba la válvula situada en la parte baja para evacuar la biomasa algal sedimentada. Cabe destacar que entre las distintas etapas experimentales se vació la columna por completo para limpiar las paredes de biomasa acumulada.

En la Figura 3.32. se puede apreciar el sistema de operación (a excepción del fotobiorreactor tubular).

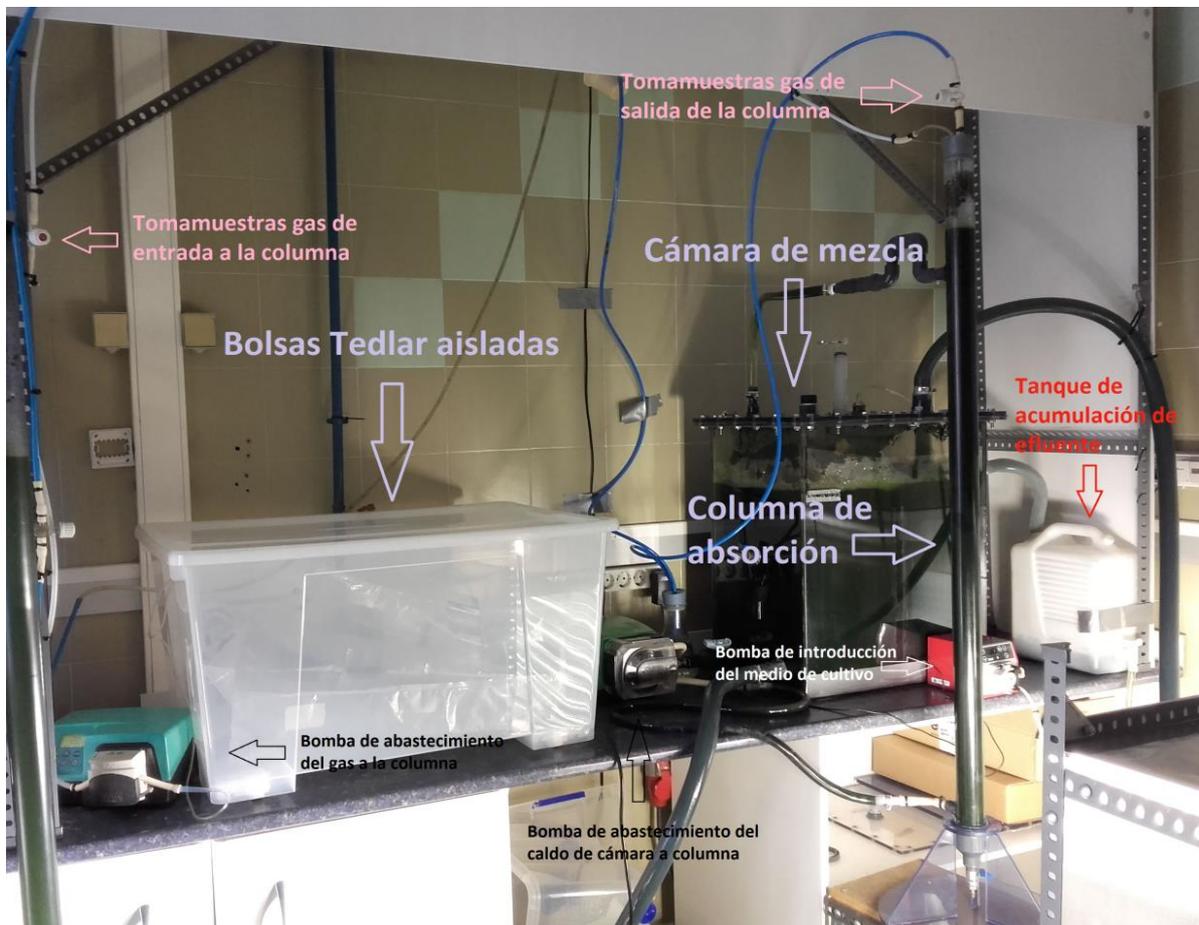


Figura 3.32. Vista general del sistema experimental



### 3.3. Diseño experimental

A la vista de los objetivos planteados para este trabajo fin de grado y del sistema experimental anteriormente descrito, el trabajo experimental fue dividido en cuatro etapas detalladas a continuación:

#### **Etapa 1: Tratamiento de biogás sintético.**

Dicha experimentación se realizó usando biogás sintético (70% CH<sub>4</sub>, 29,5% CO<sub>2</sub>, 0,5% H<sub>2</sub>S) con una relación en la columna L/G=10 y medio mineral sintético alimentado a una velocidad de dilución de 0,0195 d<sup>-1</sup> (Anexo A.3.). En esta etapa, la eliminación de CO<sub>2</sub> absorbido en la columna se llevó a cabo mediante el crecimiento de microalgas, que liberan el O<sub>2</sub> necesario para que las bacterias oxidantes aeróbicas conviertan el H<sub>2</sub>S a sulfato con el consiguiente aumento en la concentración de CH<sub>4</sub> en el biogás tratado.

#### **Etapa 2: Tratamiento de gases de combustión.**

Esta experimentación se realizó usando biogon 20 (80% N<sub>2</sub> y 20% CO<sub>2</sub>) para representar un gas de combustión sintético empleando N<sub>2</sub> en lugar de CH<sub>4</sub> por cuestiones de seguridad de operación. Al igual que en el caso anterior se empleó una relación L/G=10 y medio mineral sintético alimentado a una velocidad de dilución de 0,065 d<sup>-1</sup>. Esta etapa se centró en la eliminación del CO<sub>2</sub> de gases de combustión con el objetivo de minimizar las emisiones de GEIs a la atmósfera derivadas de la combustión de combustibles fósiles.

#### **Etapa 3: Influencia del aporte de aguas residuales como medio de cultivo.**

Durante esta etapa se continuó alimentando biogon 20 (80% N<sub>2</sub> y 20% CO<sub>2</sub>) y al igual que en las dos primeras etapas experimentales se trabajó con una relación L/G=10, pero en este caso el medio mineral sintético fue sustituido por centrado diluido diez veces con agua (1:10) y alimentado a una velocidad de dilución de 0,065 d<sup>-1</sup>. En este experimento las corrientes gaseosa y líquida fueron abastecidas durante las horas de oscuridad. El uso de agua residual como fuente de nutrientes para soportar el crecimiento algal conlleva un beneficio económico derivado del ahorro en la adquisición de sales minerales para la preparación de medios de cultivo sintético, así como un beneficio ambiental derivado de la disminución del potencial eutrofizante de los digestatos.



### **Etapa 4: Influencia de estrategias de crecimiento bajo limitación de nitrógeno en la composición de la biomasa algal.**

En este último estudio, que duró algo más de dos meses, se mantuvieron las condiciones de trabajo de la tercera etapa, de manera que se trabajó con una relación en la columna de L/G=10 y como medio mineral se utilizó el centrado diluido durante las horas de oscuridad.

El objetivo en este caso fue favorecer la acumulación de compuestos de reserva (lípidos o carbohidratos) en el interior de las microalgas bajo aporte continuo de CO<sub>2</sub> pero con limitación en el crecimiento por nitrógeno. De esta manera se puede comparar el perfil bioquímico del caldo de cultivo obtenido en esta etapa con los de las anteriores y conocer cómo afectan las estrategias de limitación a la composición bioquímica de los microorganismos.

En el Anexo A.1. se adjuntan los diagramas de bloques de cada experimento. Además, los parámetros que se midieron para realizar el seguimiento del sistema experimental, junto con su frecuencia de análisis se muestran en la siguiente tabla resumen (Tabla 3.11.).

Parámetro	Etapa 1	Etapa 2	Etapa 3	Etapa 4	Frecuencia de análisis
Temperatura	Caldo de cultivo	Caldo de cultivo	Caldo de cultivo	Caldo de cultivo	2 veces /semana
	Laboratorio	Laboratorio	Laboratorio	Laboratorio	Diario
pH	Caldo de cultivo	Caldo de cultivo	Caldo de cultivo	Caldo de cultivo	2 veces /semana
Oxígeno disuelto	Caldo de cultivo	Caldo de cultivo	Caldo de cultivo	Caldo de cultivo	2 veces /semana
Flujo volumétrico	Gases de entrada y salida	2 veces /semana			
Composición gases	Gases de entrada y salida	2 veces /semana			
Nitrógeno total (TN)	Caldo de cultivo y alimentación (a)	Caldo de cultivo y alimentación (a)	Caldo de cultivo y alimentación (b)	Caldo de cultivo y alimentación (b)	(a) 2 veces /semana (b) diario
Carbono inorgánico (IC)	Caldo de cultivo y alimentación	2 veces /semana			
Aniones	Caldo de cultivo	Caldo de cultivo	Caldo de cultivo	Caldo de cultivo	2 veces /semana

*Tabla 3.11. Parámetros de seguimiento del sistema*



El mantenimiento del fotobiorreactor es muy importante de cara al correcto funcionamiento y a la prevención de accidentes y fallos del sistema. Es por ello, que antes de cada experimento los reactores se limpiaron, para eliminar toda contaminación biológica y físico-química proveniente de experimentos anteriores.

El reactor se vació, procediendo a eliminar las biopelículas formadas en el interior de los tubos y realizándose un lavado final con agua destilada para conseguir el mayor grado posible de limpieza.

En algún caso se llenó el fotobiorreactor con una mezcla de agua y ácido clorhídrico concentrado, se dejó airear, se vació y se lavó con agua destilada repetidamente, para finalmente completar la esterilización lavando los reactores con agua destilada y 30ml de una solución de hipoclorito de sodio al 10 %. Por último, el fotobiorreactor fue lavado agua estéril (Sánchez y col., 2013).

A lo largo de los cuatro experimentos se realizaba de forma periódica una inspección ocular de todos los puntos del sistema que pudiesen ocasionar problemas y un mantenimiento de ciertas partes, lo cual incluye:

- Comprobación de tuberías y uniones para verificar la ausencia de fugas y taponamientos por biomasa.
- Las fugas solían ser frecuentes en los conductos del gas antes o después de su paso por la columna, mientras que los taponamientos (una vez eliminadas la biopelícula en la parte tubular del fotobiorreactor) solían darse en la tubería de efluente.
- Control del nivel en el tanque de efluente del sistema, así como su vaciado para evitar que desborde.
- Control del nivel del tanque de medio de cultivo de alimentación.

También como parte del mantenimiento era conveniente evaluar la luz que incidía en la superficie del reactor para comprobar que emitía la radiación fotosintética correcta así como de manera continuada. Por esta razón, se midió este parámetro al comienzo de cada experimentación mediante un medidor de luz LI-250A (LI-COR Biosciences, Alemania).

### 3.4. Procedimientos analíticos

Los análisis realizados durante el experimento pueden dividirse en tres tipos:

- Análisis realizados al medio de cultivo
- Análisis realizados al gas a tratar
- Análisis realizados al sistema como mantenimiento y control del proceso



### 3.4.1. Temperatura, pH y concentración de oxígeno disuelto

Se midió tanto la temperatura del caldo de cultivo como del laboratorio, intentando mantener el sistema siempre entre 22 y 28°C gracias al control de la temperatura de la habitación mediante un sistema portátil de aire acondicionado, instalado para disminuir la temperatura del cultivo. Este es el rango de temperaturas óptimas de operación, las cuales son determinantes para mantener una actividad biológica concreta. Por otra parte, el oxígeno disuelto será proporcional a la actividad fotosintética de las microalgas, por lo que una bajada del mismo alertaría de un mal funcionamiento del sistema.

Para la determinación de la temperatura, el oxígeno disuelto y el pH se tomaron 100 mL de muestra líquida. En primer lugar, la medición del oxígeno disuelto y la temperatura del sistema se realizó mediante un medidor de oxígeno con una sonda de temperatura modelo CELLOX 325. La medida se tomó por intrusión del sensor en la muestra líquida extraída de la cámara de mezcla mediante una jeringa buscando mantener la hermeticidad. Para evitar fluctuaciones en el oxígeno disuelto por la posible formación de burbujas era conveniente no evacuar el líquido de la jeringa de manera brusca. Por otra parte, para evitar fluctuaciones en la medida de temperatura del sistema con la del laboratorio, se buscaba hacer la medición a la mayor brevedad posible.

Por otro lado, el pH del caldo de cultivo se analiza empleando un electrodo de membrana de vidrio modelo PH BASIC 20 (Crison) previamente calibrado con soluciones estándar de pH 4, 7 y 10, el cual se introdujo en esa misma muestra líquida.

### 3.4.2. Flujo de efluente

El flujo de efluente del sistema se estimó como el volumen de caldo de cultivo evacuado por rebose desde la cámara de mezcla al tanque de efluente, dividido entre el tiempo entre muestreos.

### 3.4.3. Determinación de la biomasa

La concentración de biomasa que contiene el medio de cultivo se estimó como concentración de sólidos suspendidos totales (SST), parámetro que nos indica la cantidad de microorganismos por unidad de volumen (g SST/L).

La cuantificación de la concentración de biomasa a lo largo de los experimentos se realizó de acuerdo al procedimiento normalizado descrito en Standar Methods (Eaton,



A.D. y col. 2005). Este procedimiento implica filtrar un cierto volumen de caldo de cultivo en una membrana mediante vacío, y secar en un horno la biomasa retenida hasta peso constante. La diferencia de peso entre el filtro con muestra seca y el filtro seco inicial permite obtener la materia seca contenida en el volumen filtrado.

Este procedimiento se llevó a cabo en un filtro Millipore de 0,45 µm de tamaño de poro filtrando un volumen de 10 mL o 5 mL de caldo de cultivo en función de la concentración observada.

### 3.4.4. Análisis de la composición de gases

Las concentraciones de CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S, O<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> y N<sub>2</sub> tanto en biogás como en gas de combustión a la entrada y salida de la columna de absorción fueron determinadas por cromatografía de gases. El análisis se realizó con un cromatógrafo *Varian CP-3800* (USA) acoplado con un detector de conductividad térmica y equipado con una columna *CP-Molsieve 5A* (15 m×0.53 mm×15 µm) y *CP-PoraBOND Q* (25 m×0.53 mm×15 µm). Las temperaturas del inyector y detector se mantuvieron a 150 °C y 175 °C respectivamente. El gas de transporte fue Helio con un caudal de 13,7 mL/min.

Mediante una jeringa de cierre hermético de Hamilton de 100 µL se obtenía la muestra del gas tanto a la entrada como a la salida de la columna para conocer su composición exacta y evaluar así la eficiencia de la eliminación de CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>S de la columna de absorción. Todas las mediciones de composición de gas de entrada y salida se realizaron por duplicado.

### 3.4.5. Análisis del carbono y el nitrógeno

Para determinar las concentraciones de carbono orgánico (TOC) e inorgánico (IC) y nitrógeno total (TN) disuelto, se tomaron muestras de 50 mL del caldo de cultivo. Debido a la alta concentración de microorganismos contenidos en el caldo, fue necesario centrifugar la muestra antes del filtrado a 4500 rpm durante 10 min. Este sobrenadante se filtró a través de una membrana de 0,22 µm de diámetro de poro.

Las muestras se analizaron en un analizador de carbono *Shimadzu TOC-VCSH analyzer* (Japón) equipado con un módulo de quimioluminiscencia TNM-1.

Mediante este mismo procedimiento se comprobó de manera esporádica que la alimentación del medio sintético introducido al reactor contenía las cantidades especificadas de nitrógeno, puesto que se preparaba en grandes cantidades para un largo periodo de tiempo.



### 3.4.6. Concentración de aniones

La concentración de nitritos (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>), nitratos (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), sulfatos (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) y fosfatos (PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>) presentes en el medio de cultivo se determinó mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) con detector de conductividad iónica, usando una bomba de HPLC Waters 515 y un Kit Anion Guard-Pak IC-Pak acoplado con un detector de conductividad Waters 432 y equipado con un Anión HC IC-PAK (4,6 Mm x 150 mm) (Waters, MA, EE.UU.). El cromatógrafo dispone de una columna LC-18 AQ+C Supelcosil y una pre-columna C18 AQ+ (Waters, Bellefonte, EEUU). Para la preparación de la muestra se filtraba 1 mL del medio ya centrifugado a través de filtros de 0,22 µm.

Por otro lado, se analizó la concentración de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> mediante un Sensor Orion Dual Star de electrodo de amonio (Thermo Scientific, Holanda), igualmente en muestras previamente centrifugadas y filtradas.

### 3.4.7. Perfil bioquímico

Utilizando diversos instrumentos y técnicas experimentales, se puede estudiar la composición química de los seres vivos presentes en el caldo de cultivo una vez que este haya sido extraído y aislado. En cuanto a los métodos utilizados para determinar las propiedades químicas de las biomoléculas, radican en un conjunto de reacciones de manera que finalmente por diferencia de pesada o según la capacidad para absorber o emitir luz a una determinada longitud de onda, podemos cuantificar la composición de cada elemento.

El contenido de carbohidratos y proteínas de la biomasa fue determinado por Dubois y col. (1956) y Lowry y col. (1951), respectivamente.

Para la determinación de carbohidratos se mezclaron 1,5 ml de caldo de cultivo (concentración de biomasa ~ 0,2 g/L) con 4 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1 M. Después la muestra se calentó durante 20 minutos a 100 °C y se centrifugó durante 5 min a 10.000 rpm. Se mezcló un volumen de 0,5 ml de sobrenadante con 0,5 ml de una disolución de fenol al 5% y se mantuvo durante 40 min. Después de ese periodo, se añadieron 2,5 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado. A continuación se determinó la DO a 485 nm. A partir de un patrón se hacían distintas muestras de concentración conocida de carbohidratos, de manera que se establece una recta de calibrado (Figura 3.33.), a partir de la cual podíamos saber la concentración de nuestra muestra a partir de la absorbancia medida en el espectrómetro.

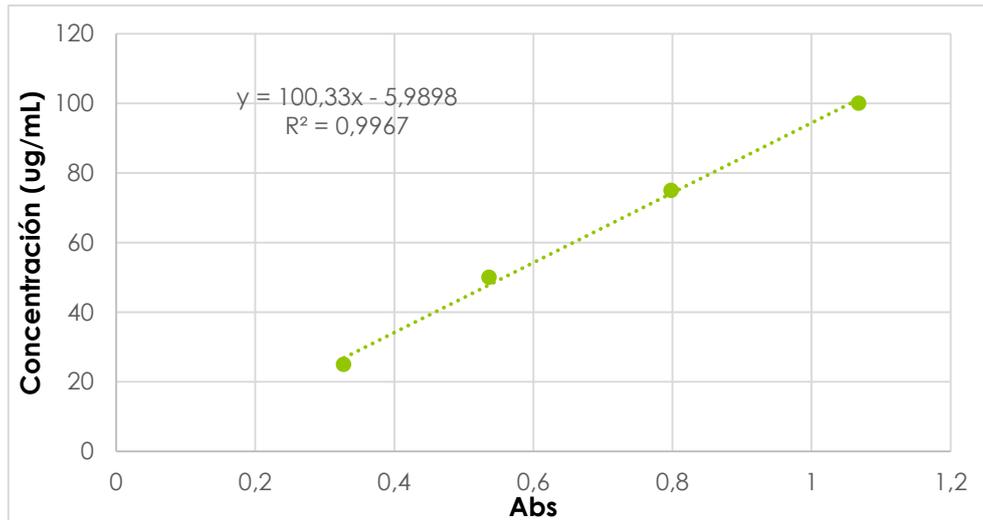


Figura 3.33. Recta de calibrado para la determinación de carbohidratos

Por su parte, el contenido de proteína se midió mezclando 1 ml de caldo de cultivo y 1 ml de NaOH 1 N y se calentó a 100 °C durante 20 min. Después de la centrifugación (5 min a 10.000 rpm) se mezclaron 0,4 ml del sobrenadante con 2 ml de una solución compuesta de 1:25 (v / v) de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 5% (p / v) y CuSO<sub>4</sub> al 0,5% (p / v) En tartrato sódico potásico al 1% (p / v). La mezcla se mantuvo durante 10 min. Posteriormente, se añadieron 0,4 ml de reactivo de fenol 1N Folin y Ciocalteu y se mantuvo en oscuridad durante 30 min. Se leyó la DO a 750 nm. La composición elemental de la biomasa se determinó utilizando un analizador CHNS (LECO CHNS-932) para los contenidos de C y N, mientras que se utilizó un espectrómetro de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente (ICP-OES, Varian 725-ES) para la determinación del contenido de P y S. De la misma manera que antes era necesario elaborar previamente una curva de calibrado de proteínas (Figura 3.34.).

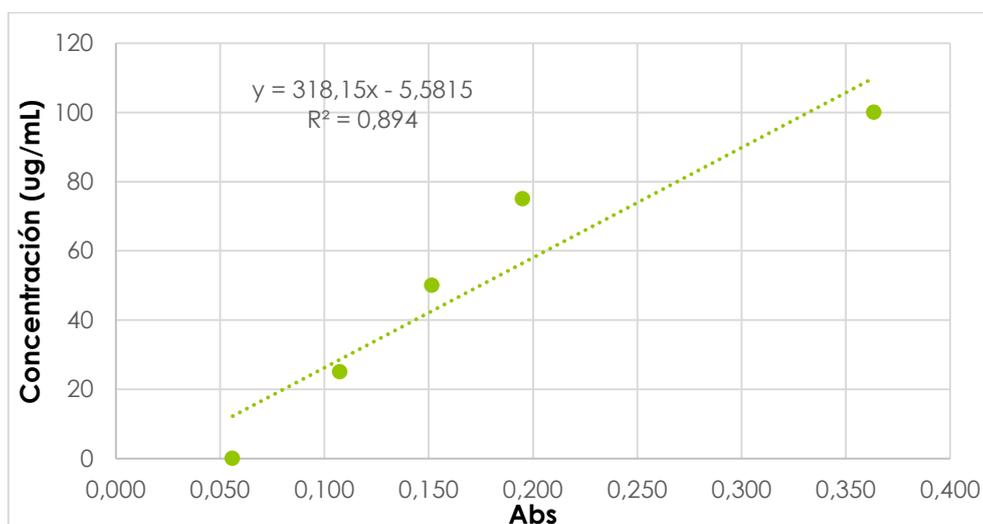


Figura 3.34. Recta de calibrado para la determinación de proteínas



En cuanto a los lípidos, se debía secar la biomasa y homogeneizar con el mortero, para más tarde pesar y adicionar alúmina y cloroformo-metanol. Se agitaba y centrifugaba varias veces buscando el contenido lipídico pase al sobrenadante. Tras una serie de adiciones se podía extraer una fase negra precipitada, la cual mediante pesada y a partir del valor inicial de biomasa, proporcionaba el porcentaje de lípidos presentes.

Por último, para la determinación de cenizas bastaba con pesar una muestra de biomasa e introducirla a la mufla buscando su calcinación. Por diferencia de pesada se conocía el porcentaje de éstas en los organismos.

## 3.5. Definición de los parámetros de rendimiento del sistema

### 3.5.1. Flujo de gas de entrada y salida

El cromatógrafo de gases con detector de conductividad térmica, únicamente nos proporciona la composición en porcentaje molar de los gases en la muestra gaseosa analizada. Por lo tanto, para conocer el flujo volumétrico real eliminado, es necesario conocer el flujo volumétrico de entrada y salida a la columna de absorción.

El gas de entrada y salida de la columna se acumuló en una bolsa Tedlar de 2L durante un cierto periodo de muestreo (t). El volumen acumulado se midió por desplazamiento de una columna invertida de agua y el flujo volumétrico de salida se estimó como el volumen acumulado dividido entre el tiempo de muestreo (acumulación), de acuerdo a la Ecuación 3.1.

$$G_{E\ vol} = \frac{V_E}{t}$$

*Ecuación 3.1. Cálculo del flujo volumétrico*

donde  $G_E$  es el flujo volumétrico de gas a la entrada de la columna (mL/min) y  $V_E$  es el volumen acumulado en la bolsa (mL) durante un tiempo t (min).

De igual manera se calcularía el flujo volumétrico de gas a la salida ( $G_S$ ).

A partir de este flujo volumétrico total y gracias a los porcentajes de concentración proporcionados por el cromatógrafo se determinó el flujo volumétrico de cada uno de los componentes introducidos al sistema en un día (L/d).



### 3.5.2. Cálculo de eficiencias de eliminación

En todos los experimentos se intentó maximizar la eliminación de CO<sub>2</sub> en la corriente gaseosa a purificar. Para ello debemos determinar el flujo másico de cada elemento, estimado con el producto de la concentración del elemento por el flujo volumétrico de corriente de gas, de acuerdo con la Ecuación 3.2.

$$m_{E\ comp} = \frac{\% \text{ molar}_{comp}}{100} \cdot G_{E\ vol} \cdot \frac{P_{lab} \cdot M_{comp}}{R \cdot T_{lab}}$$

*Ecuación 3.2. Cálculo del flujo másico de cada compuesto*

siendo  $m_{E\ comp}$  el flujo másico de un compuesto determinado a la entrada de la columna (mg/d),  $\% \text{ molar}_{comp}$  el porcentaje molar de concentración de ese compuesto facilitado por el cromatógrafo,  $P_{lab}$  la presión en el laboratorio (atm),  $M_{comp}$  la masa molar compuesto de que se trate (g/mol),  $R$  la constante de los gases ideales (0,082 atml·L/mol·K) y  $T_{lab}$  la temperatura del laboratorio (K).

De igual manera se calcularía el flujo másico de cada compuesto a la salida ( $m_{S\ comp}$ ).

Una vez determinados los flujos másicos de entrada y salida en la columna, se puede evaluar la eficiencia de eliminación de CO<sub>2</sub> ( $\%R_{CO_2}$ ), calculada mediante la Ecuación 3.3.

$$\% R_{CO_2} = \frac{m_{E\ CO_2} - m_{S\ CO_2}}{m_{E\ CO_2}} \cdot 100$$

*Ecuación 3.3. Cálculo de la eliminación de CO<sub>2</sub>*

De la misma manera, se puede estimar la eficiencia de eliminación de H<sub>2</sub>S ( $\%R_{H_2S}$ ).

Las masas molares de cada compuesto se indican en la Tabla 3.12.:

Compuesto	Masa molar (g/mol)
CO <sub>2</sub>	44,01
H <sub>2</sub> S	34,08

*Tabla 3.12. Masas molares de los compuestos a eliminar*

### 3.5.3. Alimentación del medio de cultivo

Tanto el caudal como la composición de medio mineral se eligieron en base a la biomasa que se podría formar con el carbono absorbido en la columna, considerando que la eliminación de dióxido de carbono del gas que atraviesa la columna es total, y teniendo en cuenta que la composición del fertilizante (1,5 g/L de NaNO<sub>3</sub>) y que 1 g de biomasa contiene 0,5 g de carbono y 0,1 g de nitrógeno (Posadas y col., 2015). De esta manera, se suministró únicamente el nitrógeno necesario para formar la biomasa o mantenerla, según los requerimientos en cada caso.

Durante la etapa de aclimatación y crecimiento previa al comienzo de los experimentos, la cual tuvo una duración aproximada de dos meses, se trabajó introduciendo nutrientes en exceso para asegurar que la concentración de biomasa del medio aumentase y hasta alcanzar condiciones estacionarias de concentración de biomasa (2,5 g/L). A partir de esta situación, comenzaron las etapas experimentales estableciendo distintas condiciones según las exigencias de cada etapa, tal como muestra la Tabla 3.13. (ver cálculos en Anexo A.3.).

	<b>Etapa 1</b>	<b>Etapa 2</b>	<b>Etapa 3</b>	<b>Etapa 4</b>
Medio de cultivo	Medio sintético	Medio sintético	Digestato	Digestato
Requerimientos SST	Mantener	Mantener	Disminuir	Mantener
Caudal del medio (L/d)	2,2	7,3	7,3	7,3
Velocidad de dilución (d <sup>-1</sup> )	0,0195	0,065	0,065	0,065
Horario de alimentación	Luz	Luz	Oscuridad	Oscuridad

*Tabla 3.13. Medio de cultivo introducido en cada etapa.*

De esta manera, en los cálculos que se expondrán a continuación evaluaremos la eliminación de estos dos gases, la cual era medida dos veces por semana.



# ***4. Resultados y Discusión***

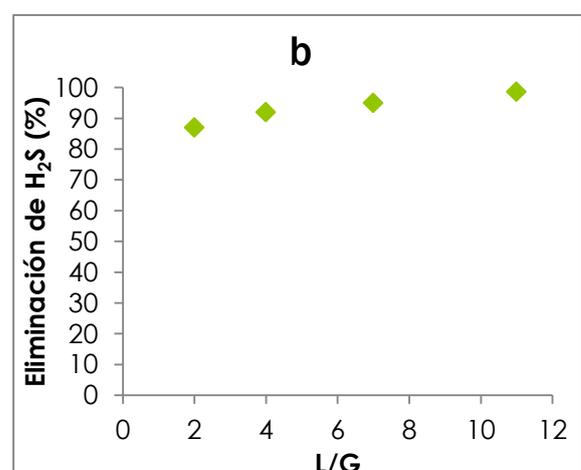
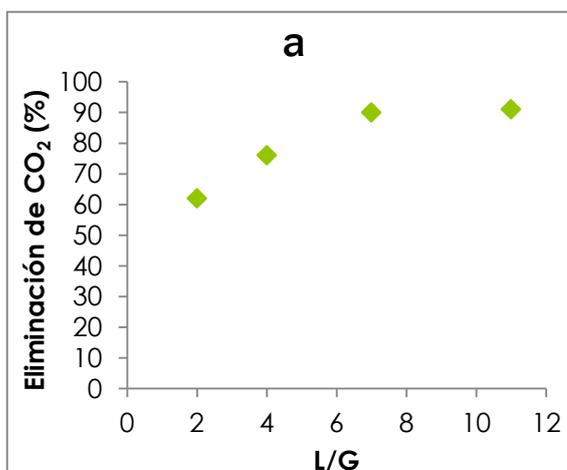
## 4.1. Selección de la relación L/G óptima para la columna de absorción

Anteriormente a la puesta en marcha global del sistema, se determinó la relación de flujos L/G más adecuada para optimizar la transferencia de materia en la columna de absorción. Para ello, en primer lugar se estudiaron varios ratios L/G en la columna, seleccionando el valor que permite eliminar el CO<sub>2</sub> en su totalidad.

La relación flujo de líquido recirculado/flujo de gas (L/G) en la columna de absorción determina la capacidad de transporte de los diferentes gases desde la fase gas a la fase líquida. El transporte entre ambas fases es clave en el tratamiento de los gases, ya que la degradación de los contaminantes gaseosos tiene lugar en la fase líquida. De esta manera, la optimización de este parámetro fue fundamental para asegurar el funcionamiento del proceso.

Se inició el experimento con una relación L/G = 1, sin embargo se observó la acumulación de azufre elemental en las paredes de la columna, por lo que se decidió aumentar el flujo de recirculación de líquido para aumentar la cantidad de oxígeno transferido y con ello permitir la oxidación completa del H<sub>2</sub>S a SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>.

Por otra parte, la relación L/G para nuestro sistema tiene mayor efecto sobre la cantidad de CO<sub>2</sub> transportado, al tratarse de un gas más insoluble que el H<sub>2</sub>S. Los resultados mostraron que la eliminación de CO<sub>2</sub> junto con la concentración de O<sub>2</sub> aumentan linealmente al aumentar la relación L/G hasta un valor de ~7 (Figuras 4.35a. y 4.35c.), mientras que la eliminación de H<sub>2</sub>S se mantiene prácticamente constante a partir de una L/G ~4 (Figura 4.35b.). La capacidad máxima de transferencia de CO<sub>2</sub> (~91%) se alcanza con una relación L/G de 11, mientras que para este mismo valor la eficacia de transferencia del H<sub>2</sub>S fue del 98.6%.



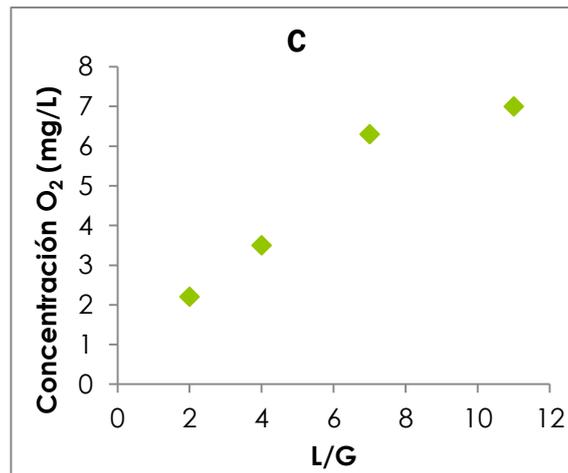


Figura 4.35. Influencia de la relación L/G en la eficiencia de eliminación de CO<sub>2</sub> (a) y H<sub>2</sub>S (b) y en la concentración de O<sub>2</sub> (c) durante los ensayos de transferencia.

La mayor transferencia de CO<sub>2</sub> y el aumento de concentración de O<sub>2</sub> observados pudieron deberse a dos efectos combinados, por un lado el incremento del coeficiente global de transferencia de masa ( $K_{LaCO_2}$  y  $K_{LaO_2}$ ) a mayores relaciones L/G como consecuencia del aumento de la turbulencia; y por otro a un mayor potencial de transporte del líquido de recirculación para ambos gases al no saturarse el líquido con CO<sub>2</sub>, presentando por lo tanto mayores gradientes de concentración disponibles para el transporte gas-líquido (aunque a expensas de un aumento de la desorción de O<sub>2</sub>).

Por encima de un flujo crítico, los valores de  $K_{La}$  no experimentan aumentos importantes al incrementarse el flujo de recirculación, además de que el proceso de absorción está operando a gradientes de concentración máximos.

Por lo tanto, se concluyó que el pH era un factor importante de cara a la limitación en la absorción del medio, ya que un aumento de éste para aumentar su basicidad, permite una mayor absorción del CO<sub>2</sub>, que es el compuesto más relevante en cuanto a eliminación respecto a la relación L/G más adecuada para todo el sistema que estamos buscando.

De acuerdo a esta serie de resultados, se seleccionó una relación L/G de 10 para operar la columna de absorción como el valor óptimo de trabajo. Esta relación elevada generaría un gasto energético mayor, y por lo tanto económico, sin embargo aseguraría la elevada eficacia del sistema en cuanto al tratamiento del gas contaminado.

Cabe indicar que en otras ocasiones (Toledo-Cervantes A., 2010) se han fijado relaciones bajas que evitan altas concentraciones de oxígeno, mientras que se compensa la baja absorción de los compuestos no deseados añadiendo una solución tampón que hace que el pH aumente en todo el sistema para favorecer el proceso de absorción del dióxido de carbono y así conseguir unos valores de purificación del gas



adecuados. Sin embargo en esta experimentación se buscó evitar el daño producido a los microorganismos debido a esta solución, introduciendo únicamente los nutrientes necesarios.

De esta manera, en todos los experimentos durante el periodo de iluminación se alimentó la corriente gaseosa a una velocidad de alimentación a la columna de 34 mL/min, que corresponde a un tiempo de residencia del gas de 73 min, y la velocidad de recirculación del medio se fijó en 355 mL/min, implicando la relación L/G de 10 (ver cálculos en Anexo A.2.).

## 4.2. Selección de la velocidad de recirculación óptima de medio por el fotobiorreactor

En cuanto al fotobiorreactor, éste fue incidido por las lámparas LED con un ciclo de luz/oscuridad, haciéndolo coincidir con la alimentación de la corriente gaseosa por la columna en ciclos de 12/12h.

En los fotobiorreactores cerrados la velocidad de recirculación del medio de cultivo por los tubos es un parámetro de operación clave para evitar la formación de películas y daños por estrés mecánico en las microalgas. Con la menor de las velocidades estudiadas se observó sedimentación de la biomasa, mientras que a una velocidad de 0,64 m/s se produjo daño celular, limitando el crecimiento de las microalgas. Por ello, se seleccionó para la operación del reactor en todos los experimentos una velocidad intermedia de 0,5 m/s, añadiendo las partículas anteriormente citadas.

## 4.3. Etapa 1

Durante este primer periodo experimental se operó el sistema durante 45 días con un tiempo de residencia hidráulico (TRH) del medio de cultivo de 52 días correspondientes a una alimentación del medio mineral sintético de 2,2 L/día, a una velocidad de dilución de 0,0195 d<sup>-1</sup>.

La velocidad de recirculación en el fotobiorreactor fue de 0,53 m/s, mientras que la velocidad de alimentación del biogás sintético (70% CH<sub>4</sub>, 29,5% CO<sub>2</sub>, 0,5% H<sub>2</sub>S) a la columna fue 34 mL/min, lo que corresponde a un tiempo de residencia del gas de 72 min.

Se mantuvo el sistema en todo momento con la cámara de mezcla aislada por completo para así evitar la difusión del nitrógeno al medio de cultivo, trabajando en ciclos de luz/oscuridad de 12/12 h.

Se muestran a continuación los resultados obtenidos para los diferentes parámetros de operación durante esta primera etapa, así como el rendimiento del sistema.

- Temperatura:

Una vez instalado el sistema de aire acondicionado en el laboratorio se consiguió que la temperatura se mantuviese en  $25,4 \pm 2,4$  °C, de manera que no se puso en peligro la vida de los microorganismos.

Como era de esperar, debido a la incidencia de las luces LED instaladas en el sistema, en todas las mediciones la temperatura de operación fue mayor que la temperatura del laboratorio.

- pH y OD:

Por su parte, el pH del caldo del fotobiorreactor se mantuvo en  $9,9 \pm 1$  como consecuencia de la alta actividad fotosintética, alcanzando una concentración de oxígeno disuelto de  $10,5 \pm 0,5$  mgO<sub>2</sub>/L. La evolución se muestra en la Figura 4.36.

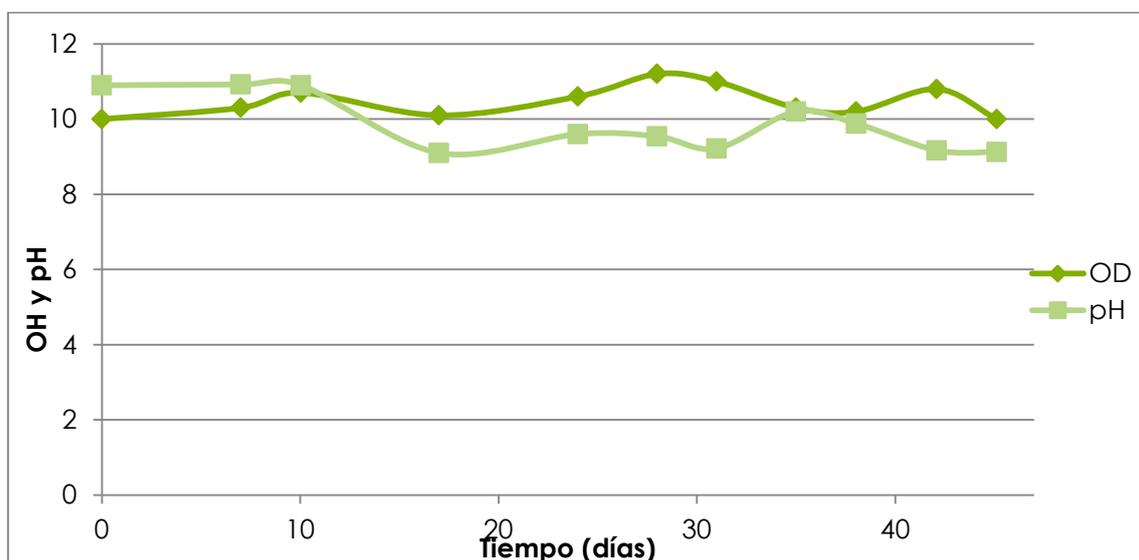


Figura 4.36. Oxígeno disuelto y pH de la Etapa 1

Los cambios de pH y de oxígeno disuelto en el medio líquido se produjeron de forma simultánea, como puede observarse en el gráfico anterior. Un aumento de estos dos parámetros en el sistema indica una mayor actividad fotosintética, es decir, que las microalgas fijaban el CO<sub>2</sub> produciendo oxígeno (que será después empleado por las

bacterias oxidantes aeróbicas para convertir el H<sub>2</sub>S presente en el biogás a sulfato) con el consiguiente aumento de la concentración de CH<sub>4</sub> en la corriente de gas tratada.

- SST:

La concentración de sólidos totales (biomasa) se mantuvo prácticamente constante en un valor de  $2,4 \pm 0,08$  g<sub>SST</sub>//L. Este valor está conforme a la productividad de biomasa estimada de acuerdo a la cantidad de nutrientes (nitrógeno) introducida con el medio mineral sintético (Figura 4.37.).

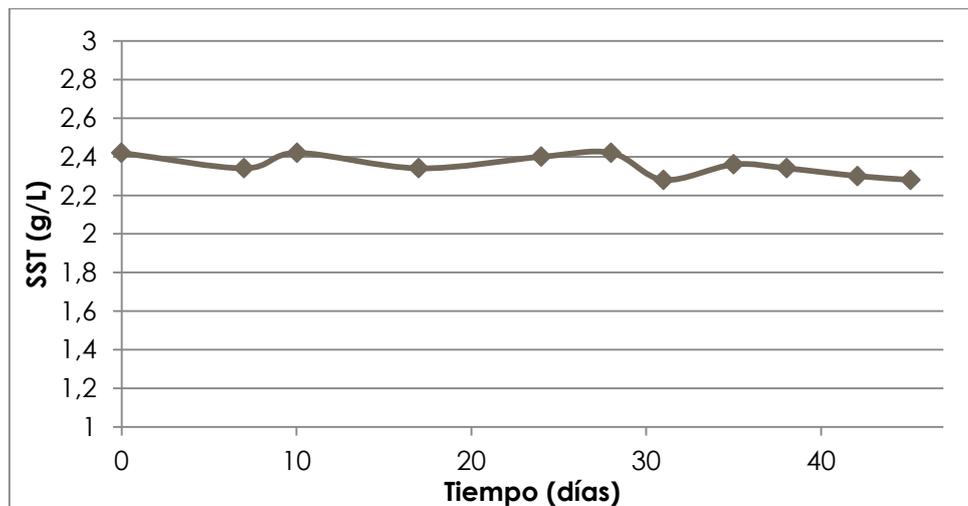


Figura 4.37. Sólidos suspendidos totales de la Etapa 1

En esta primera etapa experimental se comenzó con una concentración de microorganismos de  $2,4$  g<sub>SST</sub>/L, la cual se obtuvo debido a un mayor aporte previo tanto de nutrientes como de gas a tratar (manteniendo el mismo flujo pero con aporte durante 24h).

- Producción de biomasa:

El sistema operó en continuo, siendo el efluente de  $2,1$  L/día, lo que implicó una productividad de  $5$  g<sub>biomasa</sub>/día, con una tasa de evaporación de  $0,1$  L/día (ver cálculos en Anexo A.4.).

- Composición del caldo de cultivo:

Las concentraciones de nitrógeno (TN) y carbono inorgánico (IC) en el medio se mantuvieron estables en  $59,8 \pm 12$  g/L y  $161 \pm 26,2$  g/L, respectivamente. Por otro lado, la elevada concentración de oxígeno disuelto evitó la limitación por oxígeno

durante el proceso de oxidación del H<sub>2</sub>S, de manera que la concentración de sulfato derivada de la oxidación del H<sub>2</sub>S se mantuvo prácticamente estable durante todo el periodo experimental en 110,5 ± 18 mg/L. Se muestran las distintas evoluciones en la Figura 4.38.

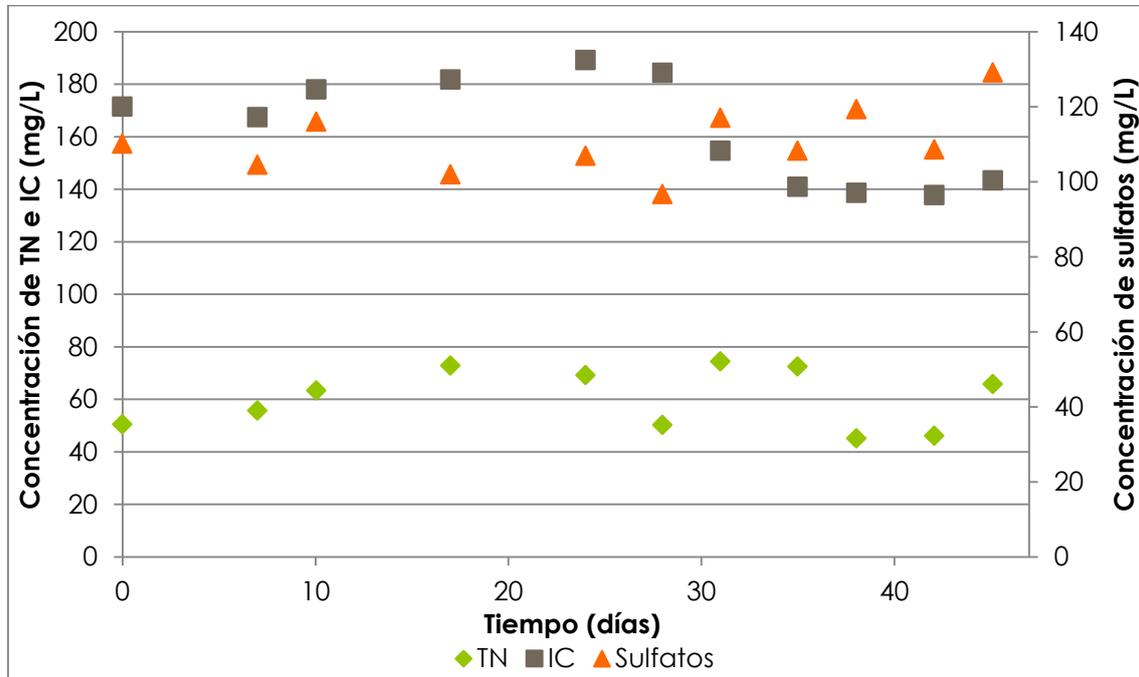


Figura 4.38. Composición del caldo de cultivo de la Etapa 1

Los valores de nitrógeno total y de carbono inorgánico en el medio se mantuvieron estables, lo que indica un consumo constante del nitrógeno alimentado así como del carbono absorbido en la columna para la formación de biomasa.

- Rendimiento del sistema:

El biometano obtenido tras el tratamiento del biogás sintético en el fotobiorreactor se caracterizó por tener concentraciones muy bajas tanto de CO<sub>2</sub> como de H<sub>2</sub>S (0,33 y 5,5·10<sup>-4</sup> mg/L respectivamente), gracias al crecimiento mediante fotosíntesis de las microalgas, que liberan el O<sub>2</sub> necesario para que las bacterias oxidantes aeróbicas conviertan el H<sub>2</sub>S a sulfato.

El gas de salida, pese a ser prácticamente en su totalidad metano, contaba con una pequeña parte de nitrógeno y oxígeno (6,88 y 9,39 mg/L respectivamente). En la Figura 4.39. se muestra la composición del gas a la salida.

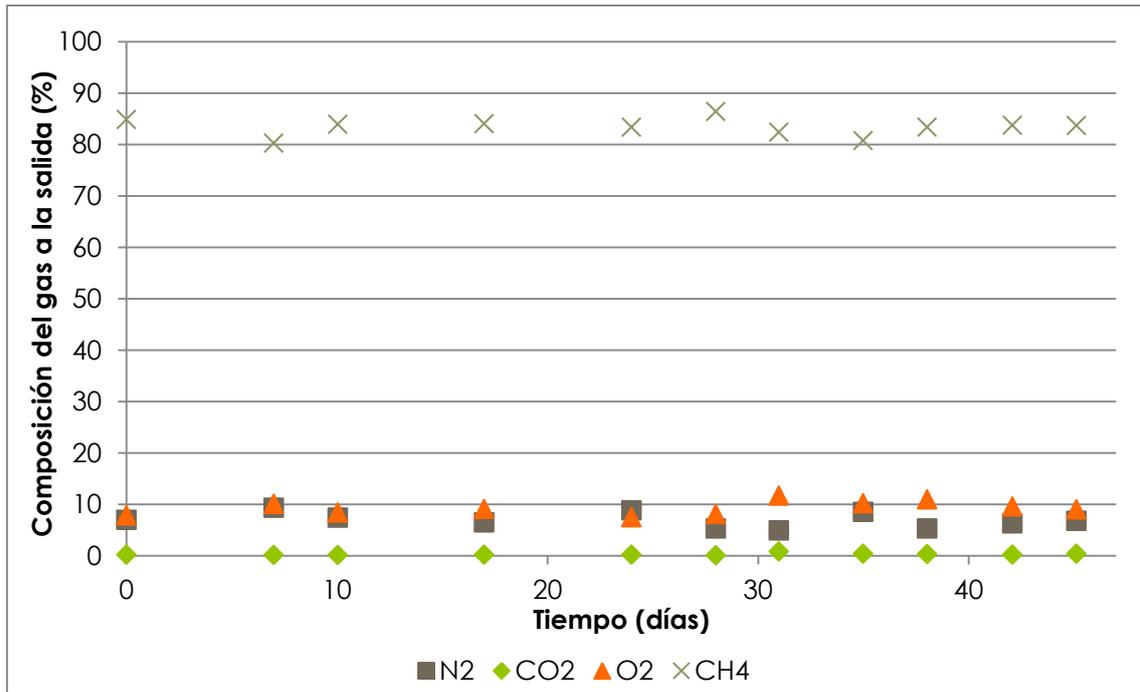


Figura 4.39. Composición del gas a la salida de la columna de absorción en la Etapa 1

En cuanto a la eficacia del sistema, se obtuvieron eliminaciones de CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>S del 99,2 ± 1 % y 99,9 ± 0,4 % respectivamente, como puede verse en la Figura 4.40.

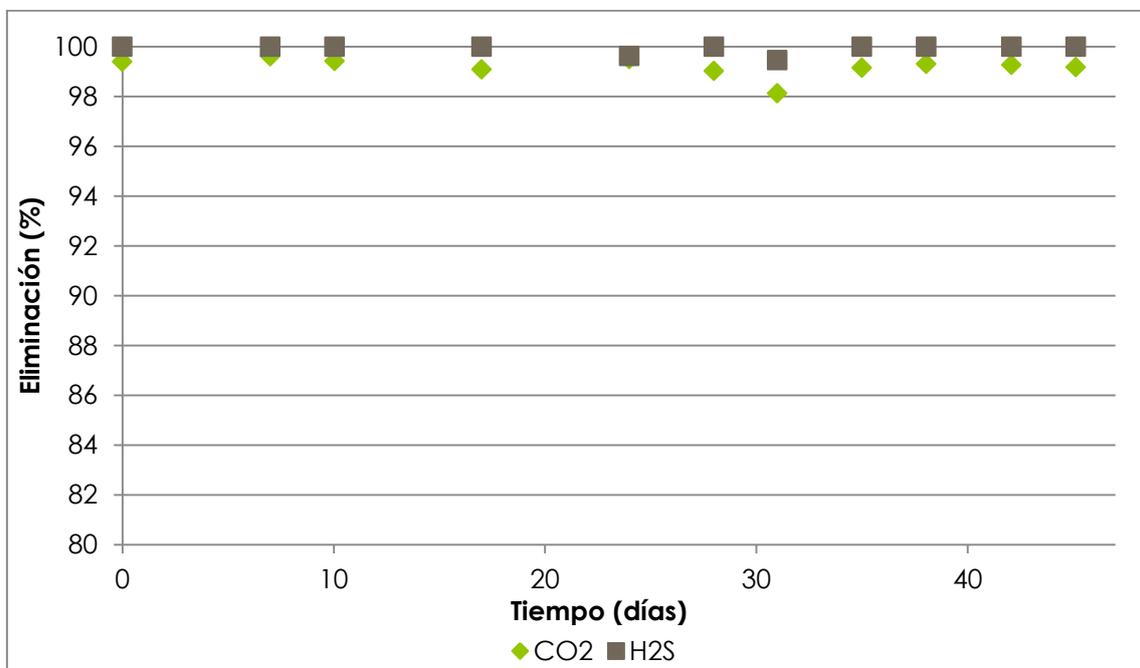


Figura 4.40. Eficiencia de eliminación de CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>S en la Etapa 1



Como puede observarse el sistema es altamente eficaz, eliminando casi en su totalidad tanto el dióxido de carbono como el ácido sulfhídrico introducidos en la corriente gaseosa, convirtiéndola en biometano con una baja composición de CO<sub>2</sub> y por debajo de los límites de detección en el caso del H<sub>2</sub>S, por lo que era apto para su posterior uso con una concentración final de  $83,4 \pm 3$  % de CH<sub>4</sub>.

## 4.4. Etapa 2

En el segundo experimento se operó durante 40 días con un tiempo de residencia hidráulico mucho más breve, de 15 días correspondientes a una alimentación del medio mineral sintético de 7,3 L/día, con una velocidad de dilución de  $0,065 \text{ d}^{-1}$ .

Como ya se ha dicho, la velocidad de recirculación en el fotobiorreactor y la velocidad de alimentación del gas de combustión a la columna se mantuvieron en 0,53 m/s y 34 mL/min respectivamente, lo que corresponde a un tiempo de residencia del gas de 72 min. De nuevo se trabajó con la cámara de mezcla aislada por completo para evitar la difusión del nitrógeno del gas al medio de cultivo, y al igual que antes se trabajó en ciclos de luz/oscuridad de 12/12 h.

En este caso el sistema operó durante 40 días utilizando biogon 20 (80% N<sub>2</sub> y 20% CO<sub>2</sub>) y medio mineral sintético. Esta etapa se centró en la eliminación únicamente de CO<sub>2</sub> de gases de combustión, siendo el objetivo minimizar las emisiones de gases efecto invernadero expulsados a la atmósfera.

- Temperatura:

En este caso, la experimentación tuvo lugar en el mes de abril, por lo que el sistema de aire acondicionado no fue necesario ya que la temperatura se mantuvo de manera natural en  $24,1 \pm 4,2$  °C (Figura 4.4.1.), de forma que nuevamente este factor no suponía un riesgo para la vida de los microorganismos.

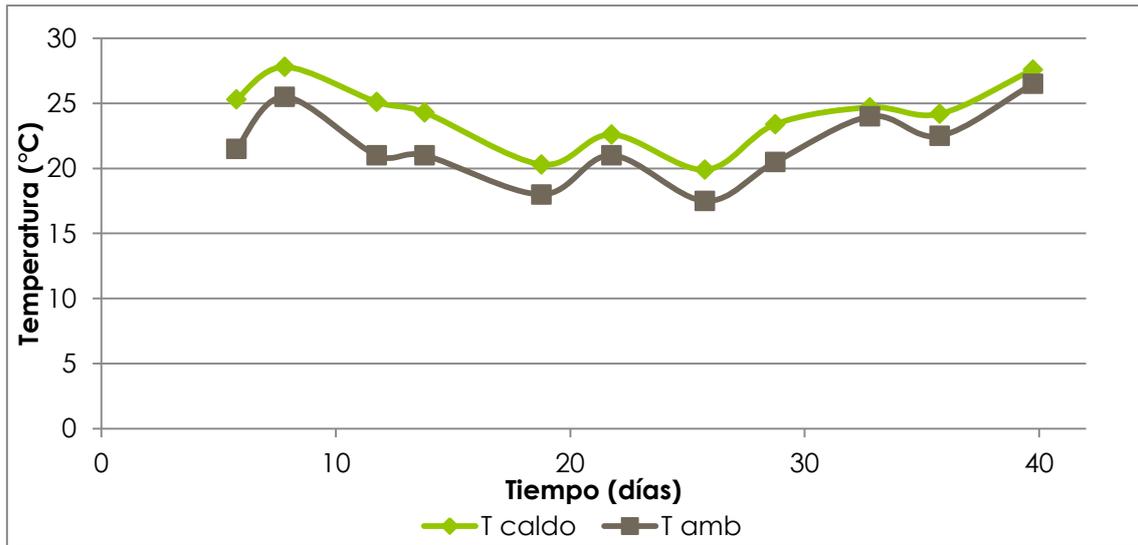


Figura 4.41. Temperaturas de la Etapa 2

De nuevo y como puede observarse, debido a la incidencia de las luces LED, la temperatura de operación es mayor que la del laboratorio, sin embargo en este caso las diferencias así como las oscilaciones son algo mayores debido a la climatología exterior.

- pH y OD:

El pH del caldo del fotobiorreactor se mantuvo en  $9,1 \pm 1$  indicando de nuevo alta actividad fotosintética, alcanzando una concentración de oxígeno disuelto de  $11,4 \pm 1,3$  mgO<sub>2</sub>/L, la cual también pese a pequeñas oscilaciones, permanecía constante. Podemos ver estos dos factores en la Figura 4.42.

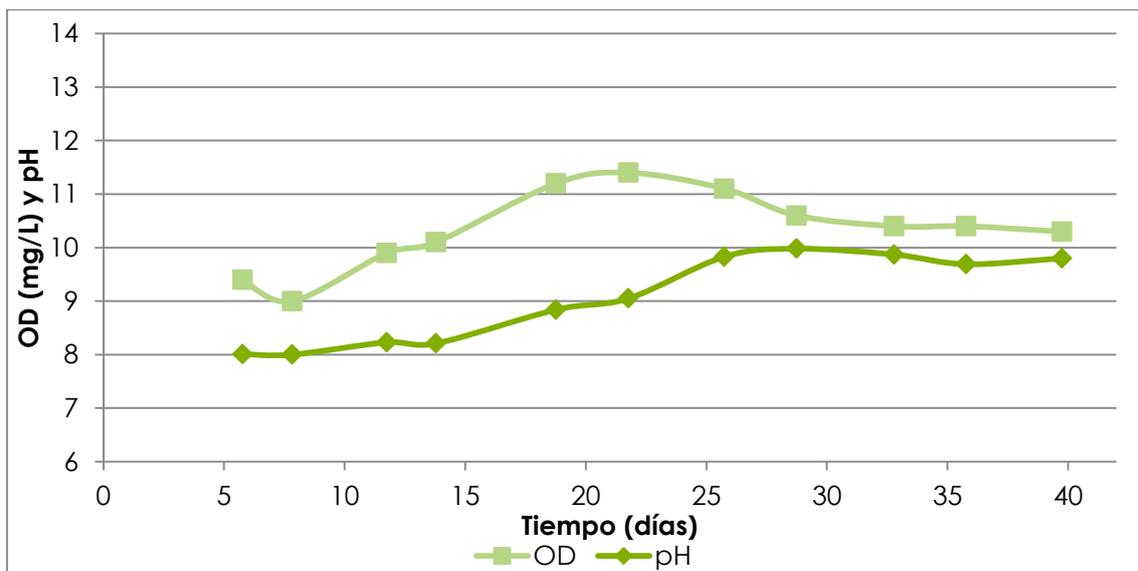


Figura 4.42. Oxígeno disuelto y pH de la Etapa 2

Los cambios de pH y de oxígeno disuelto en el medio líquido se producen de manera simultánea y se mantienen en valores elevados, lo cual indica que existe actividad fotosintética, por lo que las microalgas tal y como se buscaba fijaban el CO<sub>2</sub> y producían oxígeno.

- SST:

La concentración de sólidos totales se mantuvo constante en  $1,5 \pm 0,08$  g/L, tal y como se había estimado mediante el abastecimiento del medio Bristol modificado (Figura 4.43.).

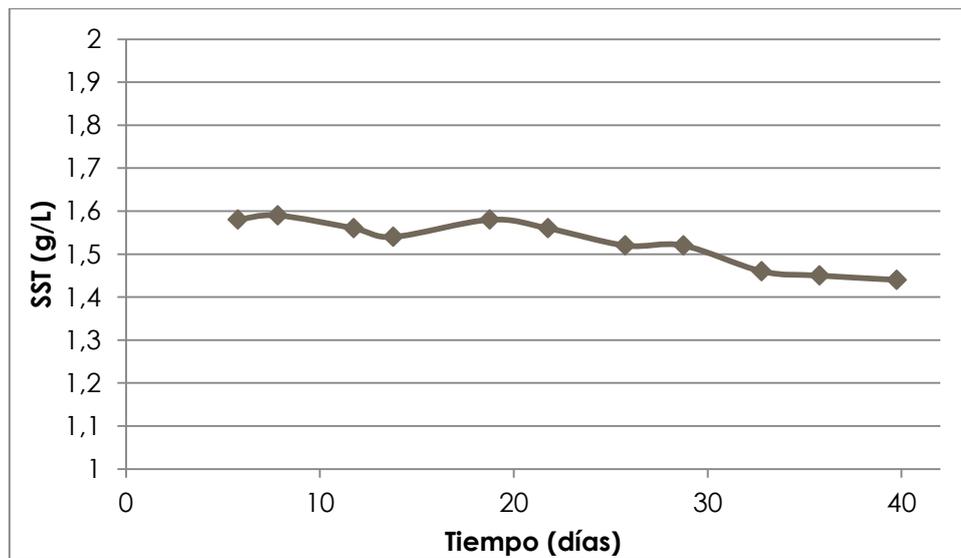


Figura 4.43. Sólidos suspendidos totales de la Etapa 2

En este caso la concentración de microorganismos es menor debido al aumento de flujo de medio introducido, pero de igual manera permanece constante.

- Producción de biomasa:

El sistema de nuevo se operó en continuo, siendo el efluente de 6,7 L/día, lo que implica una productividad de  $10 \text{ g}_{\text{biomasa}}/\text{día}$ , con una tasa de evaporación de 0,6 L/día.

- Composición del caldo de cultivo:

La concentración de nitrógeno total en el caldo se mantuvo prácticamente constante en  $71,4 \pm 7$  mg/L, mientras que la de carbono inorgánico sufrió una disminución progresiva debido al descenso de SST del caldo, estabilizándose finalmente en torno a un valor de 65 mg/L (Figura 4.44.).

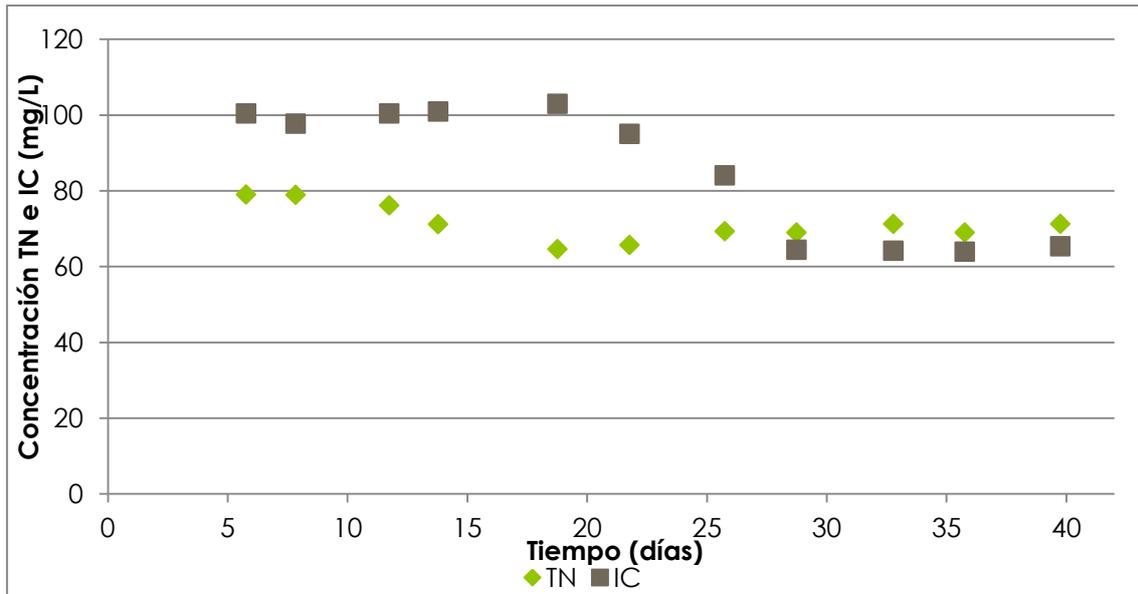


Figura 4.44. Composición del caldo de cultivo de la Etapa 2

La concentración de nitratos se duplicó con respecto a la primera etapa teniendo valores de  $256,5 \pm 14$  mg/L, lo cual se debe a una menor absorción del nitrógeno suministrado al caldo, ya que se introduce la misma cantidad de antes y la concentración de microorganismos es menor.

Por su parte, las concentraciones de cloruros, fosfatos y sulfatos fueron de  $75,1 \pm 15$ ,  $59,6 \pm 12$  y  $73,9 \pm 16$  mg/L respectivamente. En la figura 4.45. se puede ver la evolución de aniones en el sistema.

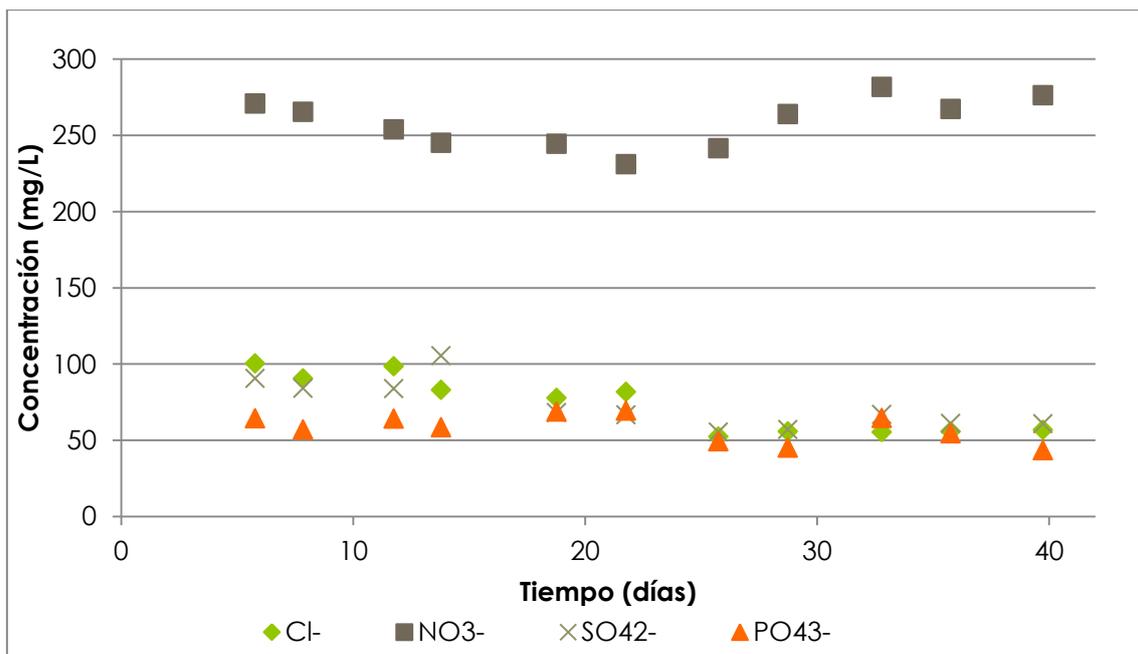


Figura 4.45. Concentración de aniones del caldo de cultivo de la Etapa 2

- Rendimiento del sistema:

A la salida de la columna de absorción se tuvo un gas de combustión prácticamente sin CO<sub>2</sub> y que además contiene una pequeña parte de oxígeno, llegando a obtener concentraciones de 0,19 y 9,65 mg/L respectivamente. En la Figura 4.46. se muestra la composición del gas a la salida.

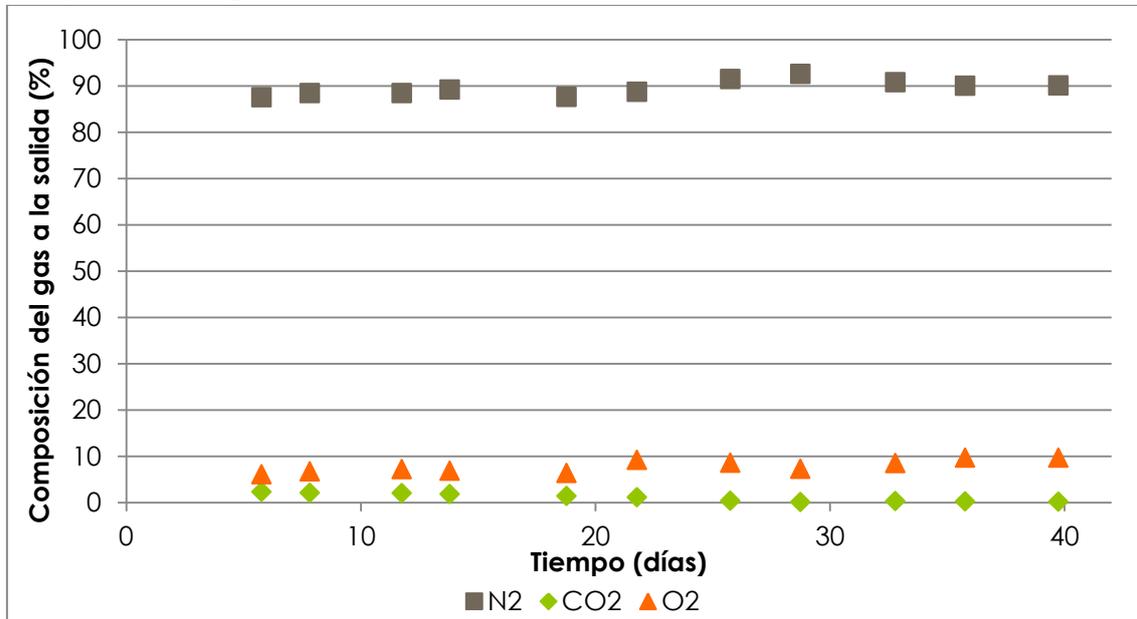


Figura 4.46. Composición del gas a la salida en la Etapa 2

En esta etapa la eficacia del sistema era mayor a medida que el sistema se estabilizaba, de manera que al comienzo hubo una eliminación de CO<sub>2</sub> del 92% y se incrementó hasta un valor estable final de 99,5% a partir de las cuatro semanas de experimentación, tal y como puede apreciarse en la Figura 4.47.

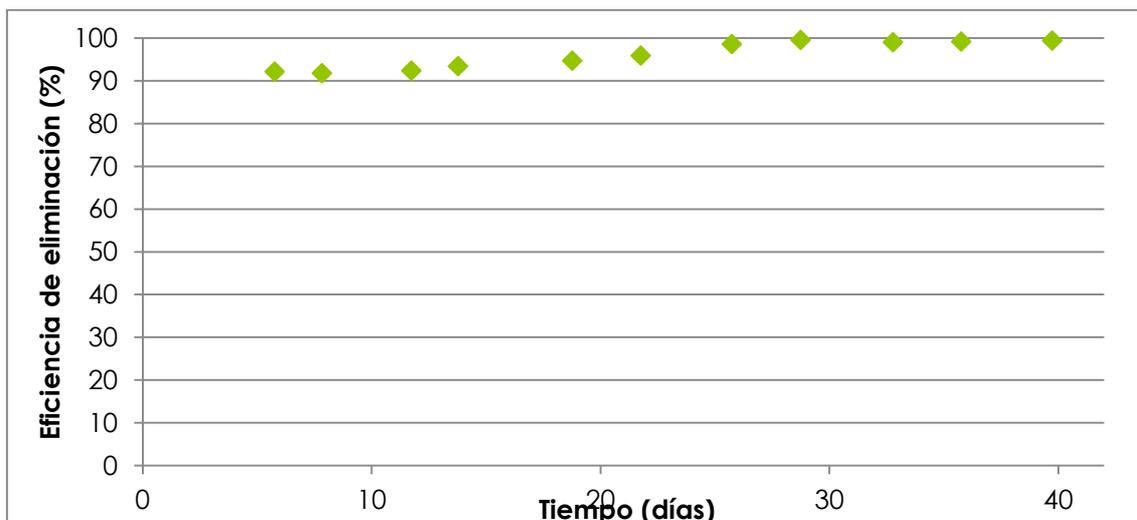


Figura 4.47. Eficiencia de eliminación de CO<sub>2</sub> en la Etapa 2



Como puede observarse, de nuevo en este segundo experimento el sistema es altamente eficaz, eliminando casi en su totalidad el dióxido de carbono introducido en la corriente gaseosa, convirtiéndola en gases aptos para evacuar a la atmósfera ocasionando el menor daño atmosférico posible por contener una pequeña parte de oxígeno, siendo nitrógeno prácticamente en su totalidad.

### 4.5. Etapa 3

Una vez comprobada la eficacia del fotobiorreactor cerrado para la eliminación del CO<sub>2</sub> del gas de combustión y la producción de biomasa algal, se sustituyó la alimentación sintética por un centrado procedente de la planta de tratamiento de aguas residuales de Valladolid. De este modo se combinaba el potencial del sistema para el tratamiento del gas con el tratamiento parcial de este efluente líquido.

Para esta tercera experimentación se utilizó biogon 20 (80% N<sub>2</sub> y 20% CO<sub>2</sub>) y se mantuvieron los parámetros de operación de la etapa 2, empleando aguas residuales diluidas 1:10 para alimentar al caldo de cultivo durante las horas de oscuridad, de manera que cuando comience a incidir la luz en el sistema, éste ya tenga todos los nutrientes presentes en el caldo y únicamente se le abastezca en estas 12 horas de la luz y del CO<sub>2</sub> por medio de la corriente gaseosa. Sin embargo, en las anteriores etapas al medio se le suministraron nutrientes con una concentración de 4,12 g/L de nitrógeno, mientras que en este caso diluyendo el centrado se le introducían aproximadamente 0,3 g/L.

El uso del centrado como fuente de nutrientes para favorecer el crecimiento algal supone un beneficio económico propiciado del ahorro en la adquisición de las sales minerales que suponía la preparación del medio de cultivo sintético, contando además con un beneficio ambiental por darle un uso alternativo a estos digestatos.

- Temperatura:

En este caso, la experimentación tuvo lugar en la segunda quincena de mayo, por lo que fue necesaria únicamente en días puntuales la utilización del sistema de aire acondicionado. De esta manera la temperatura del sistema se mantuvo a lo largo de todo el experimento en  $26 \pm 1,5$  °C. Por su parte, la temperatura del laboratorio se mantuvo en  $25,1 \pm 2,3$  °C, siendo siempre menor que la del sistema.

- pH y OD:

El pH del caldo del fotobiorreactor comenzó en 9,5 y se mantuvo durante los 8 primeros días, aumentando después de forma progresiva hasta alcanzar un valor de 12

a partir del día 13 de operación. Las variaciones posiblemente fueron debidas al cambio en la composición del centrado utilizado, que como se verá a continuación aporta una menor cantidad de IC, reduciéndose la capacidad buffer del medio de cultivo. En cuanto al oxígeno disuelto se alcanza una concentración en torno a 8,2 mgO<sub>2</sub>/L hasta el día 11, cuando empieza a caer alcanzando un valor de 7,2 al final de la etapa experimental (Figura 4.48.).

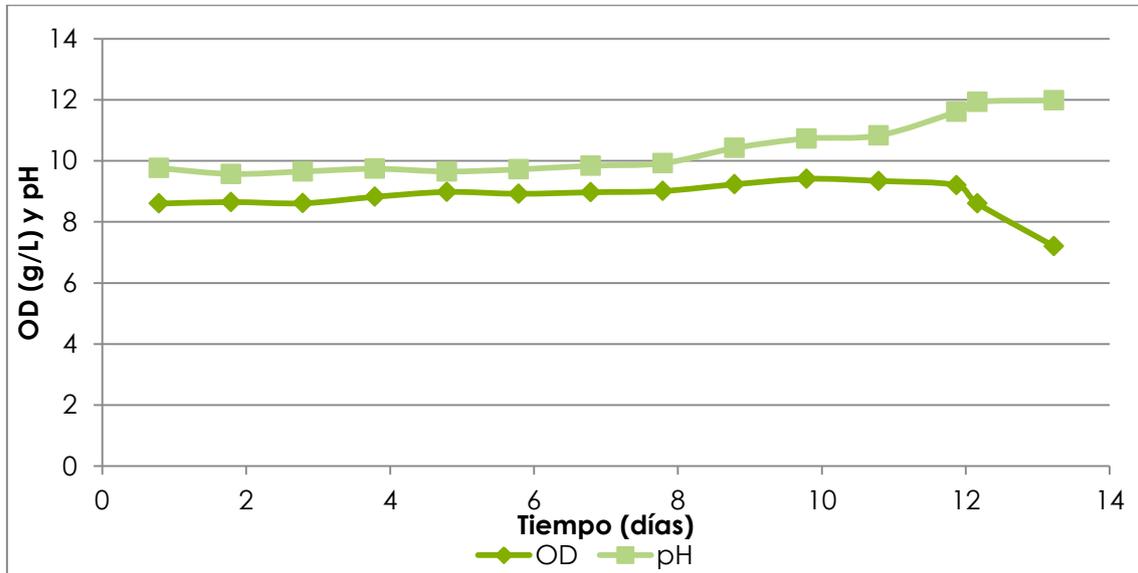


Figura 4.48. Oxígeno disuelto y pH de la Etapa 3

- SST:

La concentración de sólidos totales en un principio disminuyó con el cambio de nutrientes, pero finalmente se mantuvo de manera continuada en  $1,2 \pm 0,2$  g/L tras 7 días de operación, tal y como buscábamos con la introducción del nitrógeno a partir de las aguas residuales (Figura 4.49.).

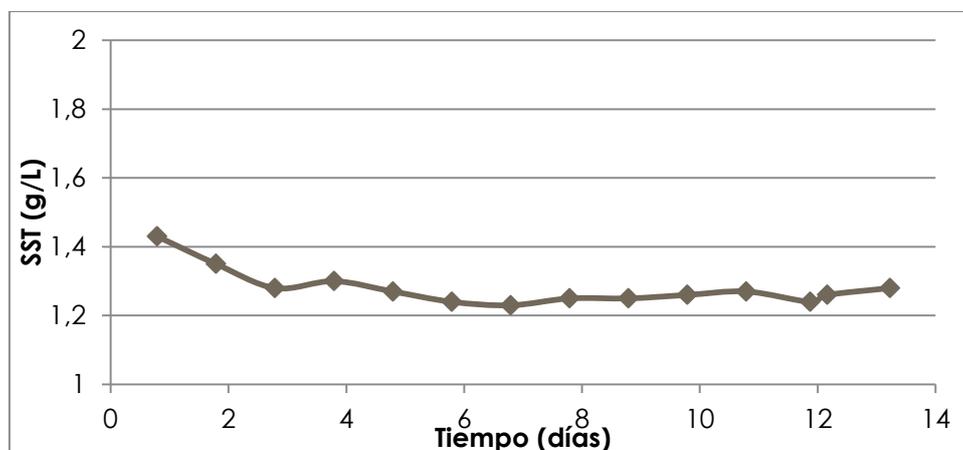


Figura 4.49. Sólidos suspendidos totales de la Etapa 3

- Producción de biomasa:

El sistema continúa operando en continuo y por su parte, el efluente se mantiene en torno a 6,2 L/día, lo que proporciona una productividad de 7,4 g<sub>biomasa</sub>/día y una tasa de evaporación de 1,1 L/día.

- Composición del caldo de cultivo:

En este caso la concentración de nitrógeno y carbono inorgánico en el medio (Figura 4.50.) como era de esperar disminuyeron progresivamente. Así, el nitrógeno disminuye desde 69 a 1,8 mg/L, mientras que la concentración de carbono inorgánico se reduce desde 65,4 a 20,2 mg/L, debido a la limitación de nutrientes establecida mediante la alimentación del centrado.

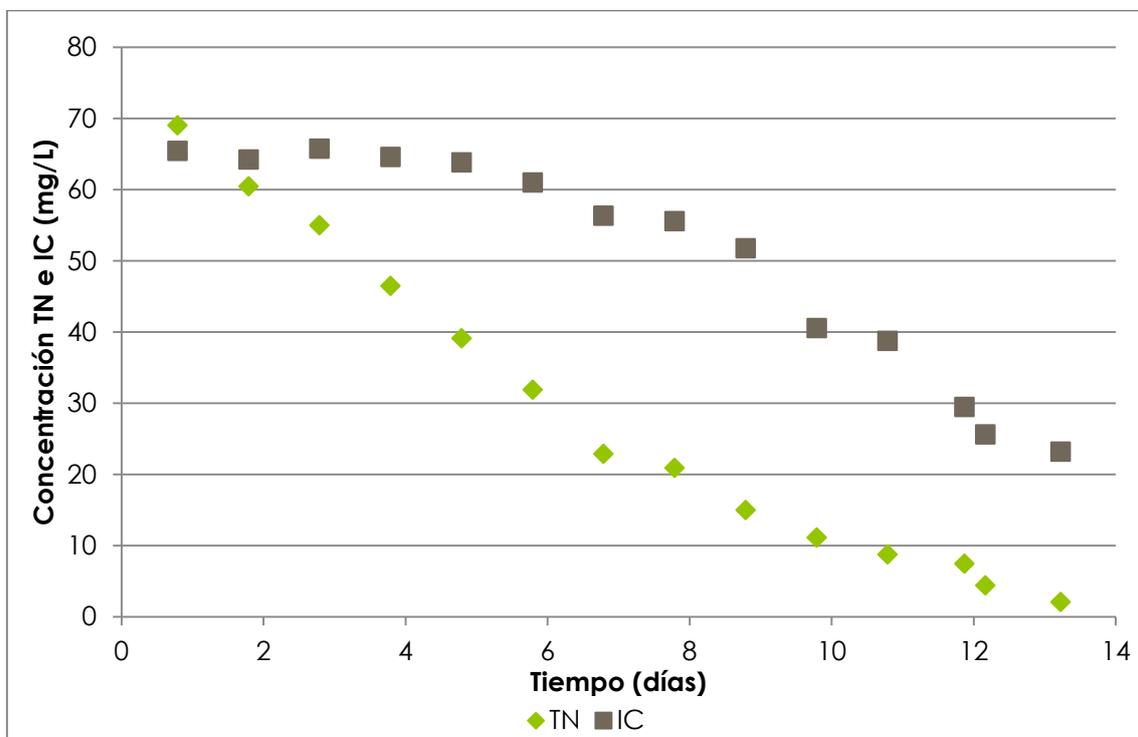


Figura 4.50. Composición del caldo de cultivo de la Etapa 3

En cuanto a los aniones, en este tercer experimento es evidente que el valor más relevante es el de nitratos, disminuyendo de 276,2 a 15 mg/L, los cuales caen de manera brusca mientras que la concentración de cloruros, fosfatos y sulfatos se podría decir que pese a oscilaciones, permanecen constantes en  $54,8 \pm 3,8$ ,  $46,9 \pm 7$  y  $56,6 \pm 3$  mg/L (Figura 4.51.).

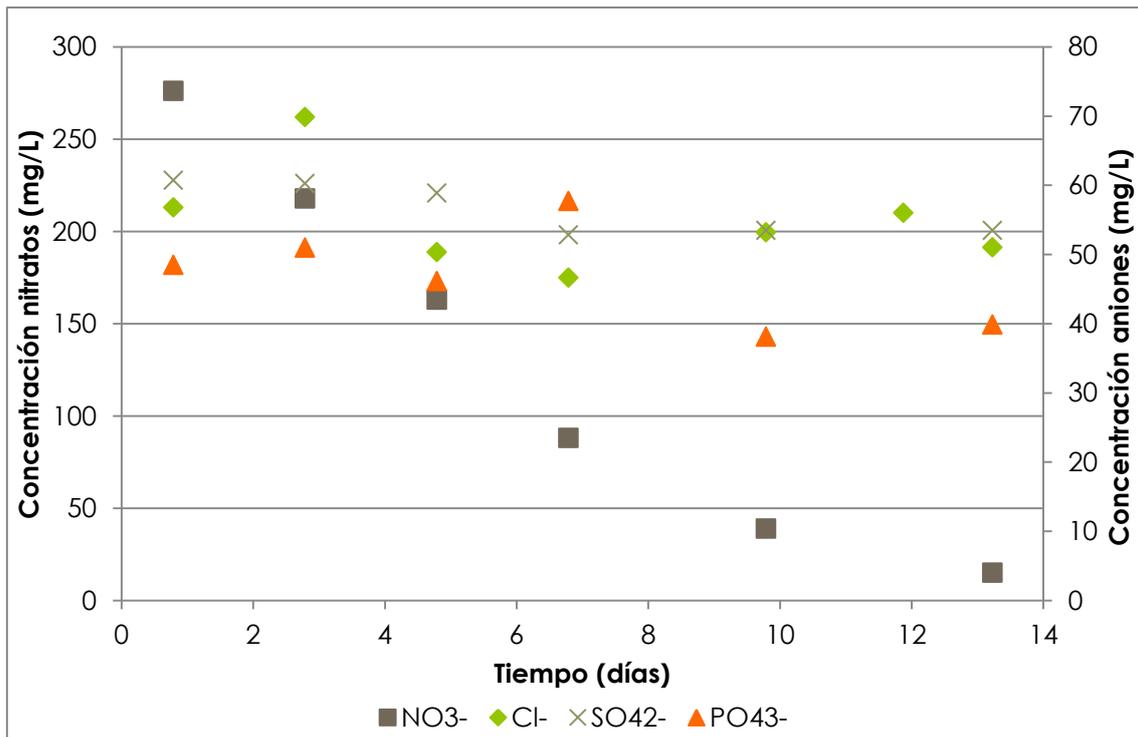


Figura 4.51. Concentración de aniones del caldo de cultivo de la Etapa 3

Los valores de nitrógeno y carbono están relacionados con el crecimiento de la biomasa algal, de manera que al mantener los sólidos suspendidos totales constantes (aunque en un valor menor al de las anteriores etapas experimentales) y alimentar menores cantidades de nutriente con el fertilizante introducido, la concentración de éstos en el medio de cultivo disminuye.

- Rendimiento del sistema:

A la salida de la columna de absorción se obtuvo un gas de combustión prácticamente sin CO<sub>2</sub> y que además contiene una pequeña parte de oxígeno, llegando a obtener concentraciones de 0,19 y 8,6 mg/L respectivamente. En la Figura 4.52. se muestra la composición del gas a la salida.

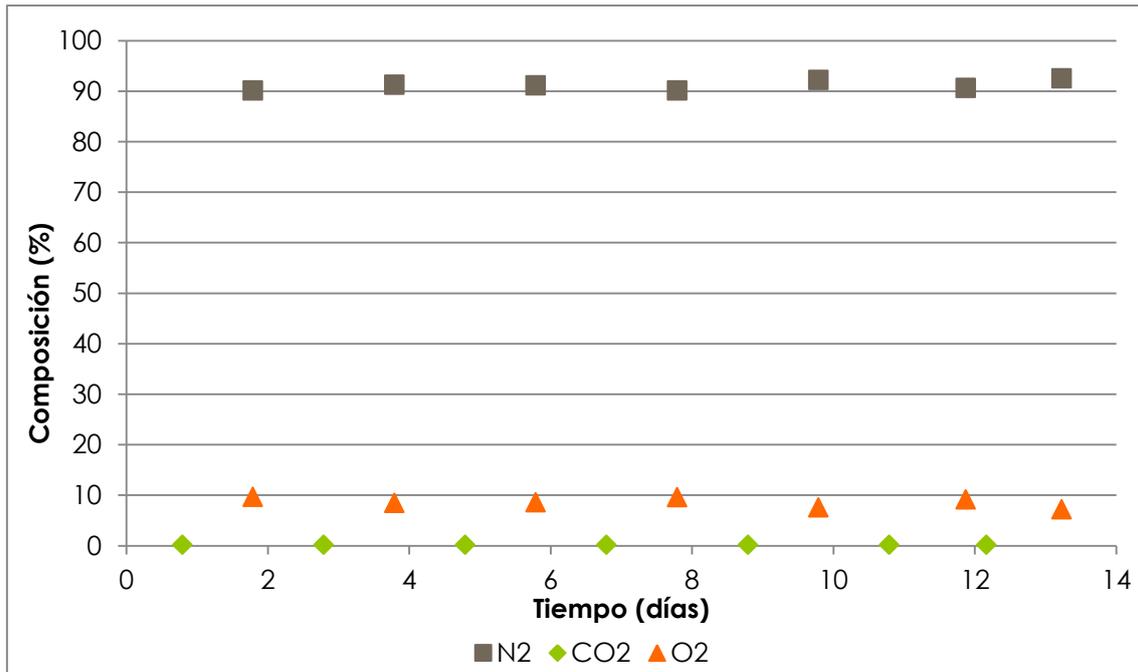


Figura 4.52. Composición del gas a la salida en la Etapa 3

En cuanto a la eficacia del sistema (Figura 4.53.), en este caso tenemos un valor medio de eliminaciones de CO<sub>2</sub> del  $99,2 \pm 0,3$  %, el cual se mantiene durante toda la etapa experimental.

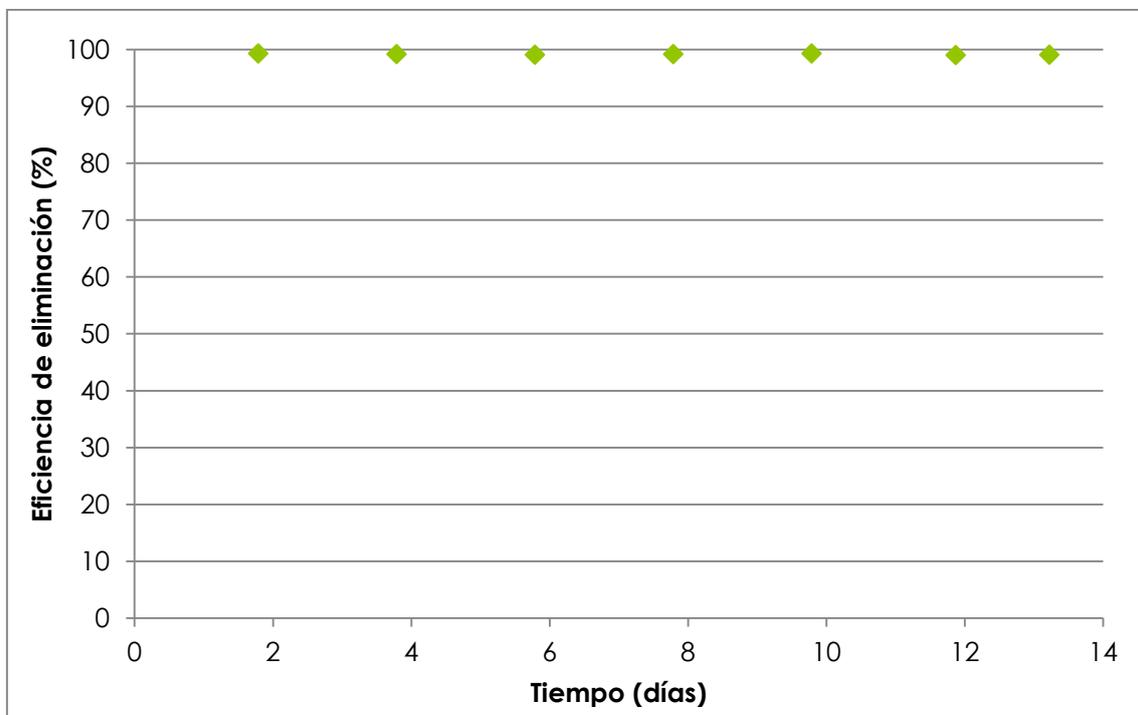


Figura 4.53. Eficiencia de eliminación de CO<sub>2</sub> en la Etapa 3

Puede verse que una vez más el sistema es altamente eficaz, eliminando casi en su totalidad el dióxido de carbono introducido mediante la corriente gaseosa, convirtiéndola al igual que en el anterior caso anterior en gases aptos para evacuar a la atmósfera ocasionando el menor daño de efecto invernadero posible por contener de nuevo una pequeña parte de oxígeno, siendo nitrógeno prácticamente en su totalidad.

## 4.6. Comparativa entre experimentos

En vista de lo expuesto anteriormente y según las mediciones de las 3 etapas experimentales de este trabajo fin de grado, los resultados obtenidos son los siguientes (Tabla 4.14.):

	Etapa 1	Etapa 2	Etapa 3
Corriente gaseosa	Biogás	Biogon 20	Biogon 20
Alim medio	Medio Bristol	Medio Bristol	Digestato
Caudal del medio (L/d)	2,2	7,3	7,3
Operación (días)	45	40	15
Temperatura (°C)	25,4 ± 2,4	24,1 ± 4,2	26 ± 1,5
pH	9,9 ± 1	9,1 ± 1	9,7 ± 2,2
OD (mg <sub>O2</sub> /L)	10,5 ± 0,5	11,4 ± 1,3	8,2 ± 1
SST (g/L)	2,4 ± 0,08	1,5 ± 0,08	1,2 ± 0,2
Vol. Efluente (L/d)	2,1	6,7	6,2
Productividad (g <sub>biomasa</sub> /d)	5	10	7,4
Tasa evaporación (L/d)	0,1	0,6	1,1
Nitrógeno total (g/L)	59,8 ± 12	71,4 ± 7	69 a 1,8
Carbono inorgánico (g/L)	161 ± 26,2	85,4 ± 20	65,4 a 20,2
Sulfatos (mg/L)	110,5 ± 18	105,4 ± 18	-
Nitratos (mg/L)	120 ± 80	256,5 ± 25	276,2 a 15
Eliminación CO <sub>2</sub> (%)	99,2 ± 1	~ 96 ± 3,8	96 ± 3,8
Eliminación H <sub>2</sub> S (%)	99,9 ± 0,4	-	-

Tabla 4.14. Comparativa de resultados entre etapas

Tras el análisis de los resultados con las distintas condiciones, podemos analizar los distintos parámetros comparando según la etapa experimental.

En cuanto a la temperatura, podría decirse que pese a las fluctuaciones debidas a los cambios climáticos o a la instalación del aire acondicionado de manera puntual, se mantuvo estable, siendo la misma para las tres etapas.

El pH nos indica que en todos los casos se tuvo un caldo de cultivo básico, disminuyendo en la segunda etapa debido a la menor concentración de biomasa presente, y aumentando en la tercera debido a la propia basicidad del centrado alimentado.

Por su parte, el oxígeno disuelto tuvo mayores variaciones. En la primera etapa se mantuvo en torno a 10,5 mg<sub>O<sub>2</sub></sub>/L, mientras que en la segunda ascendió coincidiendo con un menor oxígeno a la salida de la corriente gaseosa, lo cual indica una menor actividad fotosintética por parte de la biomasa algal. Por su parte, en la tercera etapa disminuyó hasta valores de 8 mg<sub>O<sub>2</sub></sub>/L manteniendo el porcentaje de oxígeno en el gas de salida, lo cual también indica la menor producción de oxígeno en la fotosíntesis de los microorganismos, pudiendo coincidir con la menor concentración de los mismos.

En cuanto a estos dos últimos parámetros, su alta tasa nos indica un nivel adecuado de actividad fotosintética, que a su vez está relacionado con los altos rendimientos de eliminación de CO<sub>2</sub> obtenidos en el fotobiorreactor.

Estos tres parámetros se pueden visualizar en la Figura 4.54.

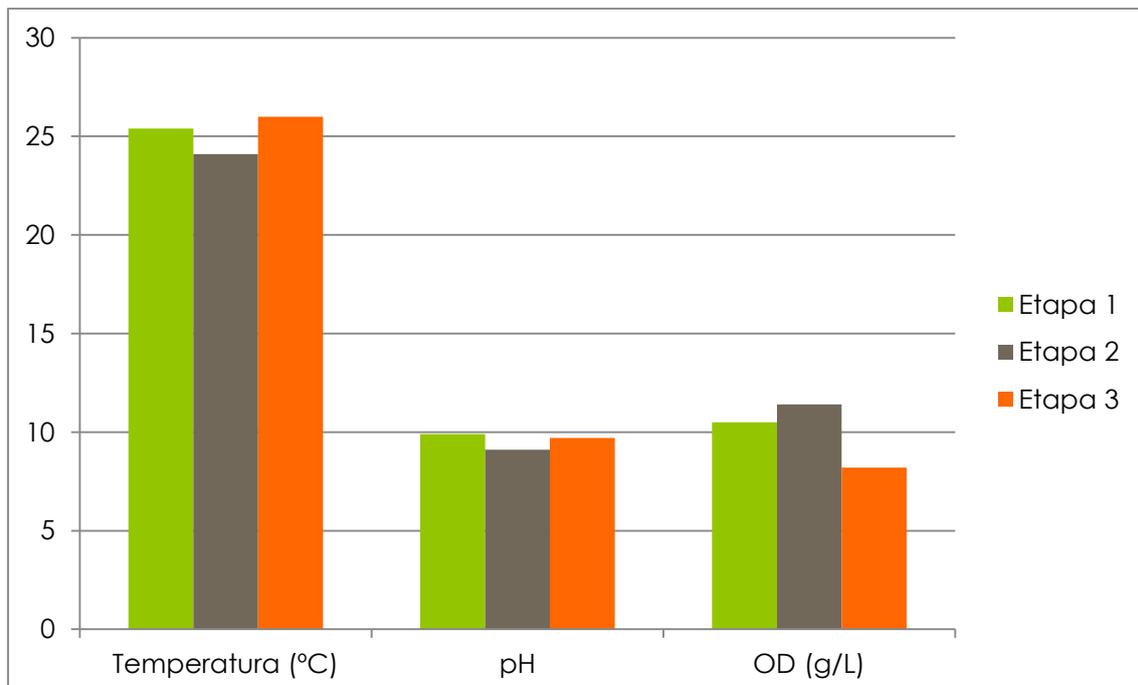


Figura 4.54. Comparación de Temperatura, pH y OD entre etapas

Por otra parte, los sólidos suspendidos totales del caldo de cultivo dependen de la alimentación de nutrientes previa del sistema, ya que pudimos comprobar que se mantienen constantes mientras el equipo funcione correctamente. Sin embargo, en la tercera etapa al introducir las aguas residuales, se vio cómo descendía este valor hasta que los microorganismos se adaptaron a las nuevas condiciones. El menor aporte de nutrientes al alimentar el centrado coincide con menores asimilaciones y por lo tanto una menor concentración de biomasa algal.

En lo que al volumen de efluente se refiere, puede observarse que es proporcional al caudal de medio de alimentación introducido, siendo menor en el caso del digestato, ya que contiene menos nutrientes y por tanto menos concentración de microorganismos.

En cuanto a la productividad de biomasa son relevantes tanto la concentración de sólidos suspendidos como el caudal de alimentación que introducimos al caldo, ya que a mayor caudal de fertilizante, mayor será la productividad debido a que obtenemos un mayor volumen de efluente. Además, como es lógico, cuanto mayor sea la concentración de microorganismos del caldo, mayor será la productividad. En este sentido, se alcanzaron productividades de biomasa de 10 y 7,4 g<sub>biomasa</sub>/d en las etapas 2 y 3 respectivamente, que podrán ser revalorizadas posteriormente para la producción de biocombustibles, por ejemplo.

La tasa de evaporación dependerá de la temperatura, y como puede verse del caudal de fertilizante introducido, por lo que en la segunda experimentación fue mucho más alta que en la primera. Por otra parte en la tercera etapa experimental se tuvo una tasa bastante más alta debido a que se trató con centrado en lugar de medio sintético.

Estos cuatro parámetros se pueden visualizar en la Figura 4.55.

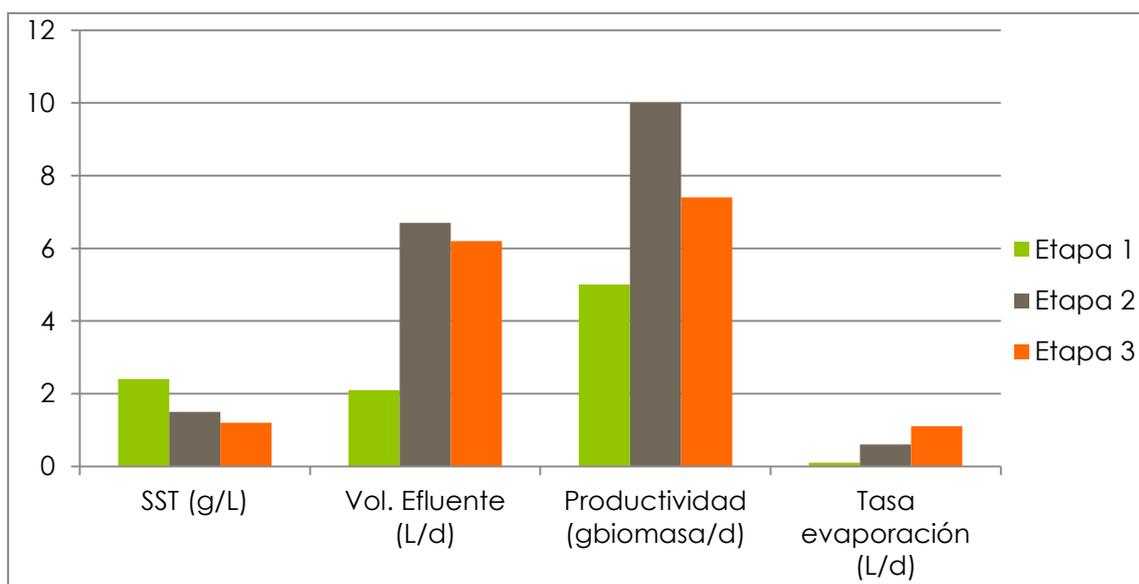


Figura 4.55. Comparación SST, efluente, productividad y evaporación entre etapas

En cuanto al nitrógeno total en el caldo de cultivo para las dos primeras etapas experimentales, cabe destacar que introduciendo el medio Bristol modificado con la misma concentración de nutrientes, se obtuvieron concentraciones más altas tratando gases de combustión que biogás, lo cual es debido a que en la segunda etapa el caudal de alimentación era tres veces mayor y los sólidos que contenía eran aproximadamente la mitad, de manera que se contaba con mayor excedente de nitrógeno en el caldo. Sin embargo estos parámetros no están triplicados ya que se debe tener en cuenta que la biomasa creció más, tal y como puede verse en la productividad, por lo que el consumo de nitrógeno del medio es mayor.

Con respecto a la tercera etapa únicamente cabe destacar que tanto la concentración total del nitrógeno como la de los aniones fueron disminuyendo progresivamente debido a la limitación impuesta en la cantidad de nutrientes alimentada al sistema.

En cuanto al carbono inorgánico, este tenía valores del doble en la primera etapa que en la segunda, mientras que para la tercera descendió una pequeña parte su concentración con la caída del nivel de biomasa para después mantenerse. El pH sin embargo se mantuvo constante, así como la eliminación de CO<sub>2</sub> de la corriente gaseosa por lo que no se produjo desorción del carbono del caldo al gas.

Los sulfatos por su parte mantienen la concentración, aunque son algo mayores en el tratamiento de biogás durante la primera etapa ya que éste contiene H<sub>2</sub>S que es oxidado a sulfatos por las bacterias del caldo de cultivo. Por su parte, la caída en la introducción de nutrientes de la tercera etapa hace que desaparezcan los sulfatos y se disminuya al mínimo la cantidad de nitratos.

Se evalúa la composición del medio (Figura 4.56.).

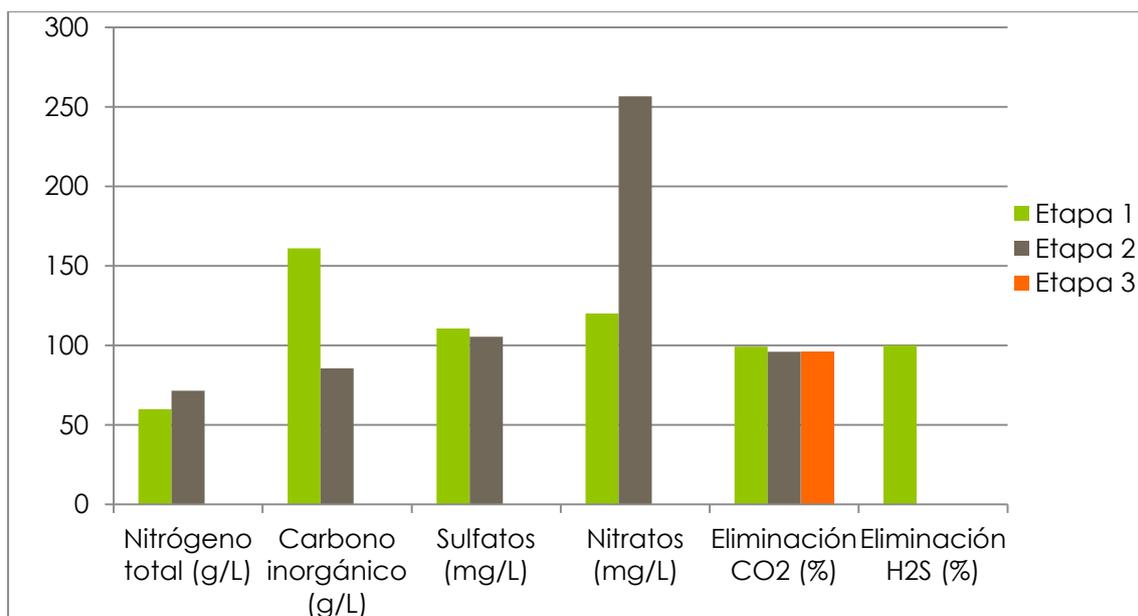


Figura 4.56. Comparación de la composición del caldo de cultivo entre etapas

Por último se evalúa la eficacia del sistema en cuanto al tratamiento de gases, contando únicamente el rendimiento conseguido una vez alcanzado el estado estacionario, siendo la que se mantendría a lo largo del tiempo en caso de continuar con las condiciones de trabajo del sistema (Figura 4.57.).

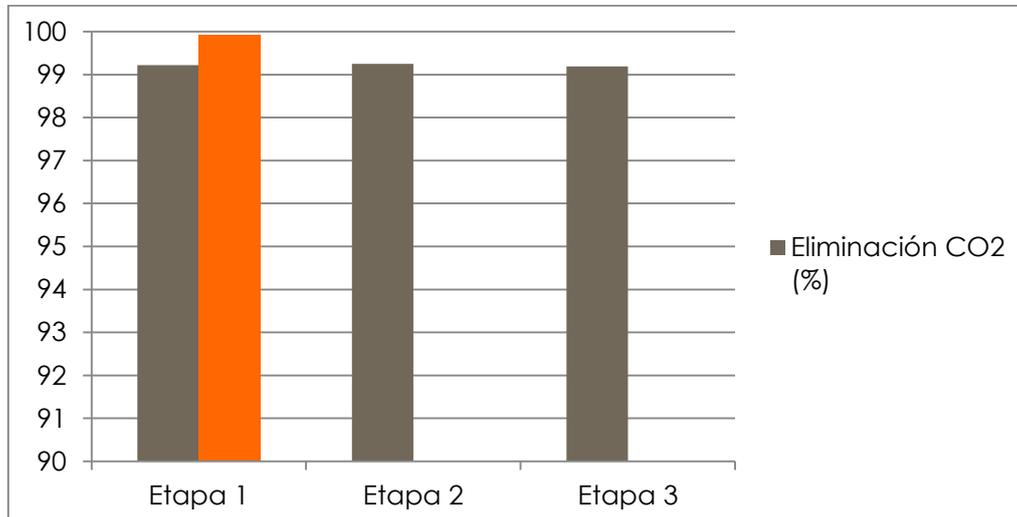


Figura 4.57. Comparación de eficacia del sistema entre etapas

Como se puede ver el sistema es altamente eficaz para el tratamiento de gases, ya que en las tres etapas se consiguió una eliminación prácticamente total de CO<sub>2</sub> así como de H<sub>2</sub>S en la primera. Se debe tener en cuenta que para conseguir tales objetivos es necesario contar con una concentración adecuada de biomasa suspendida, así como de bacterias sulfooxidantes para tratar el ácido sulfhídrico.

## 4.7. Etapa 4

Como experimento adicional se analizó el perfil bioquímico del caldo de cultivo a lo largo de todo el estudio, buscando conocer la composición de los microorganismos presentes en el medio al finalizar la primera, segunda y tercera etapa experimental, y ver también cómo evoluciona una vez implantada la limitación de nitrógeno del sistema.

En la cuarta etapa experimental no se cuenta con un valor de tiempo de residencia hidráulico del centrado, ya que se iba variando a diario la concentración suministrada en función de los sólidos suspendidos totales que contuviese el caldo de cultivo, para limitar por completo el nitrógeno del sistema, manteniendo esta forma de trabajo. Es aquí donde radica la diferencia entre este experimento y la tercera etapa



anteriormente citada, ya que de nuevo se trabaja con biogon 20 (80% N<sub>2</sub> y 20% CO<sub>2</sub> y el resto de parámetros de operación se mantuvieron constantes, incluso la alimentación del centrado durante las horas de oscuridad.

El objetivo de esta última etapa de experimentación fue estudiar la acumulación de los distintos componentes bioquímicos mediante la introducción del mínimo nitrógeno necesario para abastecer a los microorganismos, de manera que subsisten en condiciones de estrés.

De esta manera, se evalúa el análisis de cuatro muestras, tales como:

1. Al finalizar la etapa 1
2. Al finalizar la etapa 2
3. Al finalizar la etapa 3, tras introducir el medio (a las 8 horas)
4. Etapa 4, final de la experimentación, previamente a introducir el medio (a las 20 horas)

	Carbohidratos	Proteínas	Lípidos	Cenizas
Tras etapa 1	22,1	48,3	17,2	12,4
Tras etapa 2	40,7	48,3	4,5	6,6
Tras etapa 3	35,7	52,6	8,1	3,6
Etapa 4	44	34,9	17,5	3,5

*Tabla 4.15. Resultados del perfil bioquímico en las distintas etapas*

A partir de los resultados puede observarse cómo con el tratamiento de biogás se ve favorecida la acumulación de lípidos, disminuyendo el contenido en carbohidratos con respecto a las posteriores etapas. Es con el tratamiento de gases de combustión donde se incrementa la acumulación de carbohidratos y disminuyen los lípidos, de manera que el contenido en proteínas permanece prácticamente constante.

En la última etapa se evaluaba la concentración del caldo de cultivo para conocer la concentración del centrado a introducir y limitar así el aporte de nitrógeno. El objetivo de esta limitación es incrementar la concentración de lípidos en la biomasa algal generada, resultado que no se observó en la muestra tomada durante esta etapa experimental. Es importante destacar aquí que únicamente se analizó el perfil bioquímico de una muestra de esta cuarta etapa en la última semana de experimentación de este trabajo fin de grado, sin embargo, el sistema continuó operando posteriormente para la optimización de la limitación de nutrientes.



# 5. Conclusiones



En este sistema experimental, se obtuvieron elevadas eliminaciones para el CO<sub>2</sub> en comparación con estudios previos realizados en reactores abiertos alimentados con medio mineral o con aguas residuales (en torno a 80-85%) (Muñoz y Guieysse, 2006; Serejo y col., 2015). Sin embargo, para el tratamiento de biogás de la primera etapa, las eliminaciones de H<sub>2</sub>S se mantuvieron ligeramente por debajo del 100% habitualmente alcanzado por estos autores en sistemas abiertos.

Por otro lado, la concentración de O<sub>2</sub> en el biometano producido fue considerablemente mayor que las obtenidas en fotobiorreactores abiertos (1-2%), aunque en estudios anteriores en fotobiorreactores tubulares cerrados los niveles de O<sub>2</sub> en el biogás tratado presentaron concentraciones entre 10 y 24% (Mann y col., 2009; Converti y col., 2009), teniendo valores inferiores en este sistema.

Por lo tanto, si bien el sistema necesita ser optimizado para reducir tanto las concentraciones de O<sub>2</sub> como las de N<sub>2</sub> en el biometano, y el O<sub>2</sub> en los gases de combustión de salida, los resultados de eliminación una vez alcanzado el estado estacionario en el sistema fueron de CO<sub>2</sub> > 99%. Además las reducidas pérdidas de CH<sub>4</sub> demuestran la capacidad de esta configuración para la obtención de un biometano de alta calidad a partir de un biogás convencional.

Así mismo, la operación del reactor a elevada intensidad de luz permite una comparación más justa a la hora de predecir el comportamiento de un sistema similar operado en exterior, siempre que se pueda controlar la temperatura para evitar su incremento por encima del rango óptimo de vida de los microorganismos.

Los resultados obtenidos también demuestran la capacidad del fotobiorreactor de tratar simultáneamente la corriente gaseosa y una corriente líquida residual procedente de la digestión anaerobia de la planta de tratamiento de aguas residuales (centrado), que fue empleada para aportar al cultivo de microalgas los nutrientes necesarios para su crecimiento.

Finalmente, se sabe que la selección apropiada de la fuente de nitrógeno para cada microalga es importante ya que tiene impacto en la productividad de biomasa (Li y col., 2008), así como de la intensidad de la luz (Liu y col., 2012).

De esta manera podemos concluir que se obtuvieron altas productividades de biomasa algal, llegando a 10g<sub>biomasa</sub>/día comparado con 2,1 ± 0,15 g/día de otros estudios previos (Toledo-Cervantes A., 2010), lo cual permite su revalorización posterior aumentando así la viabilidad económica del sistema de tratamiento de gases.



Con vistas a esta posterior revalorización, se analizó la composición bioquímica (lípidos, carbohidratos y proteínas) de la biomasa algal, implementando estrategias de limitación de nutrientes para aumentar la concentración de los componentes deseados. Esta estrategia de limitación de nitrógeno no resultó en la composición deseada (44% carbohidratos, 35% proteínas, 17,5% lípidos y 3,5% cenizas), por lo que en un trabajo futuro será necesario optimizar los diferentes parámetros de operación.



# 6. *Referencias*



Anbarasan Albalagan A., (2016). "Indigenous microalgae-activated sludge cultivation system for wastewater treatment". Mälardalen University Sweden, Press Licentiate Theses No. 240.

Bahr, M., Diaz, I., Dominguez, A., González Sánchez, A. y Muñoz, R. (2013). "Microalgal-Biotechnology As a Platform for an Integral Biogas Upgrading and Nutrient Removal from Anaerobic Effluents". en ACS Publications. Environmental, Science & Technology.

Béchet Q., Muñoz R., Shilton A., Guieysse B. (2013). "Outdoor Cultivation of Temperature-Tolerant Chlorella sorokiniana in a Column Photobioreactor Under Low Power-Input". Biotechnol. Bioeng.110:118-126.

Becker E W. (2004). "Micro-algae as a source of protein". Biotechnol Adv.

CEMBUREAU. (1998). "Climate Change, Cement and the EU". Brussels

Cherubini, F. (2010). "The Biorefinery concept: using biomass instead of oil for producing energy and chemicals". Energ. Convers. Manage

Eaton, A.D., Clesceri, L.S. y Greenberg, A.E. (2005). "Standard Methods for the examination of wáter and wastewater", 21st ed. en American Public health Association/American Water Works Association/Water Enviroment Federation.

Euroserv'er (2012). "Biogas Barometer" en systèmes solaires, le journal des énergies renouvelables. N° 212

Garibay HA., Vázquez-Duhalt R., Sánchez S M., Serrano C L., Martínez J A. (2009). "Biodiesel a partir de microalgas". BioTecnología.

Green Gas Grids. Biomethane Standars. ([http://european-biogas.eu/wp-content/uploads/2014/03/8\\_Mattias-Svensson\\_standards.pdf](http://european-biogas.eu/wp-content/uploads/2014/03/8_Mattias-Svensson_standards.pdf))

Gobierno de España. Ministerio de Industria, Energía y Turismo. Secretaria de Estado de Energía. Libro de la energía en España 2013. (<http://www.minetur.gob.es/energia/balances/Balances/Paginas/Balances.aspx>)



Ho, S.H., Chen, C.Y., Chang, J.S. (2012). "Effect of light intensity and nitrogen starvation on CO<sub>2</sub> fixation and lipid/carbohydrate production of an indigenous microalga". *Scenedesmus obliquus* CNW-N. *Bioresour. Technol.*

iagua. Modelos tecnológicos en la limpieza del biogás en estaciones de depuración de aguas residuales. (<http://www.iagua.es/noticias/depuracion/12/10/30/modelos-tecnologicos-en-la-limpieza-del-biogas-en-estaciones-de-depuracion-de-aguas-residuales-2280>)

Informe estadístico de la Asociación Europea de Biogás (2016), 6ª Edición.

Jacob-Lopes E., Revah S., Hernández S., Shirai K., Teixeira FT. (2009). "Development of operational strategies to remove carbon dioxide in photobioreactors". *Chem.Eng. J.*

Jacob-Lopes E., Gimenes SC., Queiroz MI., Teixeira FT. (2010). "Biological transformations of carbon dioxide in photobioreactors". *Energy conversion and Management.*

Katoh, M., Yoshikawa, T., Tomonari, T., Katayama, K., Tomida, T., (2000). "Adsorption Characteristics of Ion-Exchanged ZSM-5 Zeolites for CO<sub>2</sub> / N<sub>2</sub> Mixtures". *Journal of Colloid and Interface Science.*

Keskes, E., Adjiman, C. S., Galindo, A., Jackson, G., (2006). "A Physical Absorption Process for the Capture of CO<sub>2</sub> from CO<sub>2</sub>-Rich Natural Gas Streams". *Chemical Engineering Department, Imperial College London., London SW7 2AZ, United Kingdom.*

Laninot F., Santos A.M., González-Arechavala Y., Martín-Sastre C. (2014). "Uso y aplicaciones potenciales de las microalgas". *Canales de mecánica y electricidad.*

Leegood, R.C. (1985). "Regulation of photosynthetic CO<sub>2</sub>-pathway enzymes by light and other factors". *Photosynthesis Research.*

Li, Y., Horsman, M., Wang, B., Wu, N. (2008). "Effects of nitrogen sources on cell growth and lipid accumulation of green alga *Neochloris oleabundans*". *Appl. Microbiol. Biotechnol.*



Liu, J., Yuan, C., Hu, G., Li, F. (2012). "Effects of light intensity on the growth and lipid accumulation of Microalga *Scenedesmus* sp. 11-1 under nitrogen limitation". *Appl. Biochem. Biotechnol.*

Liu, H., Okazaki, K., (2003). "Simultaneous Easy CO<sub>2</sub> Recovery and Drastic Reduction of SO<sub>x</sub> and NO<sub>x</sub> in O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> Coal Combustion with Heat Recirculation". *Appl. Biochem. Biotechnol*

Loera-Quezada MM, Olgúin EJ. (2010). "Las microalgas oleaginosas como fuente de biodiesel: retos y oportunidades". *Rev Latinoam Biotecnol Amb Algal.*

Ministère de l'Écologie, du Développement durable et de l'Énergie.

Muñoz, R. y García, P.A. (2015). "Oil accumulation strategies in microalgae grown in wastewaters". *Environmental, Science & Technology.*

Muñoz, R. y Lebrero R. (2015). "High performance biological processes for odour abatement in wastewater treatment plants. *Environmental*", *Science & Technology.*

Muñoz, R. y Quijano, G. (2012) "Biotechnological processes for the abatement of the greenhouse gas ch<sub>4</sub>: from cells to the bioreactor". *Environmental, Science & Technology.*

Petterson, A. y Wellinger, A. (2009). "Biogas upgrading technologies-development and innovation" en *IEA Bioenergy.*

Posadas, E., García-Encina, P.A., Dominguez, A., Díaz, I., Becares, E., Blanco, S. y Muñoz, R. (2014). "Enclosed tubular and open algal-bacterial biofilm photobioreactors for carbón and nutrient removal from domestic wastewater". *Ecological Engineering.*

Posadas, E., García-Encina, P.A., Soltau, A., Dominguez, A., Díaz, I., Muñoz, R. (2013). "Carbon and nutrient removal from centrates and domestic wastewater using algal-bacterial biofilm bioreactors". *Bioresource Technology*

Posadas, E., Morales, M., Gómez, C., Acien, F., Muñoz, R. (2014). "Influence of pH and CO<sub>2</sub> source on the performance of microalgae-based secondary domestic wastewater treatment in outdoors pilot raceways". *Chemical Engineering Journal*



Posadas, E., Serejo, M.I., Blanco, S., Pérez, R., García-Encina, P.A., Muñoz, R. (2015). "Minimization of biomethane oxygen concentration during biogás upgrading in algal-bacterial photobioreactors". Algal Research

Posadas, E., Muñoz, A., García-González, M.C., Muñoz, R., García-Encina, P.A. (2014). "A case study of a pilot high rate algal pond for the treatment of fish farm and domestic wastewaters". Society of Chemical Industry

Reina, J. (2014). Limpieza/acondicionamiento del biogás. "Una necesidad para un óptimo funcionamiento de los sistemas de cogeneración". Bioenergía, FuturEnviro.

S.L. Water Solutions. Air Diffusers. ([http://slwatertech.com/Air\\_diffusers](http://slwatertech.com/Air_diffusers))

Sánchez- Tuirán, E.; El-Halwagi M. M.; Kafarov, V. 2013. "Integrated utilization of algae biomass in a biorefinery based on a biochemical processing platform". In Integrated Biorefineries

Serejo, M., Posadas, E., Boncz, M.A., Blanco, S., García-Encina, P. y Muñoz, R. (2015). "Influence of Biogas Flow Rate on Biomass Composition During the Optimization of Biogas Upgrading in Microalgal-Bacterial Processes". en ACS Publications. Environmental, Science & Technology.

Singh, NK. Dhar DW. (2010). "Microalgae as second generation biofuel. A review. Agronomy Sust". Developm.

Singh, J.; Gu, S. (2010). "Commercialization potential of microalgae for biofuels production". Renew Sust. Energ.

Takamura, Y., Narita, S., Aoki, J., Hironaka, S., Uchida, S., (2001). "Evaluation of Dual-Bed Pressure Swing Adsorption for CO<sub>2</sub> Recovery from Boiler Exhaust Gas". Separation and Purification Technology.

Toledo-Cervantes A. (2010). "Captura de CO<sub>2</sub> por una comunidad de microalgas obtenidas de un ecosistema natural mexicano". Tesis de Maestría en Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana- Iztapalapa.



Toledo-Cervantes A., Morales M., Novelo E., Revah S. (2013). "Carbon dioxide fixation and lipid storage by *Scenedesmus obtusiusculus*". Bioresour.

Toledo-Cervantes A., Morales M., (2014). Biorefinery: Using microalgal biomass for producing energy and chemicals. En "Energy and Environment Nowadays". ISBN 978-63117-399-8. Editorial Nova publisher, Nova Science Publishers, Inc. NY, USA

Wang B., Li N., Lan C Q. (2008). "CO<sub>2</sub> bio-mitigation using microalgae". Appl Microbiol Biotechnol.

Wang, L.; Min, M.; Li, Y.; Chen, P.; Chen, Y.; Liu, Y.; Wang, Y.; Ruan, R. (2009). "Cultivation of green algae *Chlorella* sp. in different wastewaters from municipal wastewater treatment plant". Appl. Biochem. Biotechnol.

Wang, L., Li, Y., Sommerfeld, M., Hu, Q. 2013. "A flexible culture process for production of the green microalga *Scenedesmus dimorphus* rich in protein, carbohydrate or lipid". Bioresource technology