



# UNIVERSIDAD DE VALLADOLID ESCUELA DE INGENIERIAS INDUSTRIALES

Máster en Ingeniería Química

# OPTIMIZACIÓN DEL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS UTILIZANDO MICROALGAS Y BACTERIAS EN UN FOTOBIORREACTOR TIPO HRAP.

#### Autor:

Muñoz Madariaga, Bárbara

#### **Tutores:**

Lebrero Fernández, Raquel

Departamento de Ingeniería Química y Tecnología

de Medioambiente

Navia, Daniel

Departamento de Ingeniería Química y Ambiental,
Universidad Técnica Federico Santa María, Chile

Valladolid, enero 2023.





#### Resumen

El crecimiento continuo de la población y el consecuente aumento en la generación de residuos hace necesario mejorar las tecnologías actuales para conseguir procesos más sostenibles y que favorezcan el cuidado del medioambiente. Concretamente, la contaminación de las aguas se ha convertido en una de las problemáticas ambientales más importantes de nuestros días. Actualmente, se generan en el mundo 983 millones de m<sup>3</sup>/d de agua residual (Jones et al., 2021), lo que hace necesario buscar nuevas alternativas que optimicen su tratamiento. Una de las alternativas con mayor potencial se basa en el uso de consorcios de microalgas y bacterias operando en fotobiorreactores. Su acción simbiótica permite la remoción de contaminantes y la degradación de materia orgánica por medio de la fotosíntesis y respiración bacteriana. Por otra parte, la automatización de los procesos permite medir variables a través de sensores y visualizar sus valores en tiempo real. Surge así la oportunidad de estudiar la automatización y control de un sistema de fotobiorreactores para el tratamiento de aguas residuales, contemplando la variación del caudal de agua residual sintética por medio del Tiempo de Residencia Hidráulico, en condiciones de luz controladas que emulan el ciclo solar.

En esta investigación se trabajó con 2 fotobiorreactores de 3.2 L cada uno, y con un inóculo de concentración 0.6 gSSV/L compuesto de *Chlorella Sorokiniana* y bacterias de fango aerobio. El sistema se alimentó con agua residual sintética y se trabajó con luz artificial variable para simular la luz del sol en ciclos de luz y oscuridad de 14 y 10 h respectivamente. En una primera etapa el Tiempo de Residencia Hidráulico fue de 5d, y luego de 28d de operación se trabajó con caudales variables. El sistema de automatización contempló la medición de oxígeno disuelto, pH y temperatura a través de sensores que por medio de un protocolo de comunicación permitían la visualización de los datos en un ordenador. Se realizaron técnicas analíticas para analizar el crecimiento de la biomasa y su correcta biorremediación.

Los resultados obtenidos de oxígeno disuelto y pH, estuvieron directamente relacionados con la actividad fotosintética de las microalgas y a la actividad aerobia de las bacterias. Los rangos de operación presentaron un estado óptimo para el crecimiento de la biomasa, promoviendo la biorremediación del agua residual sintética. La biomasa fue capaz de degradar la materia orgánica en un 95% y de transformar el amonio en un 90%, lo que asegura que el proceso se llevó a cabo de la manera correcta favoreciendo el crecimiento y actividad de los microorganismos.

Con respecto a la automatización, en futuras investigaciones es necesario depurar fallos en el sistema de monitorización y control, para tener un proceso que funcione adecuadamente y por consecuencia se pueda tener un control del oxígeno disuelto.





# Índice

1. In	trod	ucción	5
1.1.	Tra	atamiento de Aguas Residuales	5
1.1	1.1.	Fangos Activos	6
1.1	1.2.	Microalgas	9
1.1	1.3.	Fotobiorreactores	11
1.2.	Au	tomatización y control	13
1.2	2.1.	Sistema de Control	14
1.2	2.2.	Protocolo de comunicación	15
1.2	2.3.	Arduino	17
1.3.	Ob	jetivos	18
1.3	3.1.	General	18
1.3	3.2.	Específicos	18
2. Ma	ateri	ales y métodos	19
2.1.	Mo	ntaje Experimental	19
2.2.	Au	tomatización	21
2.3.	Pro	ocedimiento experimental	25
2.4.	Té	cnicas analíticas	26
2.5.	Sis	tema de control	28
3. Re	esult	ados y discusiones	29
3.1.		sultados experimentales	
3.2.	Pro	opuesta de automatización	41
4 Co	nclu	siones	44





# Índice de Figuras

Figura 1. Esquema de un proceso de Lodos Activos (Gómez et al., 2014)	7
Figura 2. Representación de un HRAP para el tratamiento de aguas residua	
et al., 2019)	-
Figura 3. Diagrama explicativo del Lazo Abierto de Control	14
Figura 4. Diagrama explicativo del Lazo Cerrado de Control	
Figura 5. Proceso de comunicación en un sistema automatizado	
Figura 6. Proceso de comunicación en un sistema en Lazo Cerrado	
Figura 7. PFD del sistema experimental.	
Figura 8. Protocolo de comunicación del sistema de control	21
Figura 9. Sistema de adquisición de datos serial desde Interfaz Consort y t	
a servidor OPC UA	
Figura 10. Sistema en HMI desarrollado en AVEVA Intouch	
Figura 11. Curva de radiación de la luz solar en Castilla y León en función d	
de tiempo (Navia, D., 2022)	23
Figura 12. Planificación del sistema de control.	
Figura 13. Oxígeno disuelto en el fotobiorreactor 1 (Azul) y en el fotobior	
(Naranja) durante la experimentación. La línea verde indica el cambio en	
Figura 14. pH en el fotobiorreactor 1 (Azul) y en el fotobiorreactor 2	
durante la experimentación	
Figura 15. Temperatura en el fotobiorreactor 2 durante la experimentació	
Figura 16. Sólidos suspendidos volátiles en el fotobiorreactor 1	
fotobiorreactor 2 (Naranja) durante la experimentación	
Figura 17. Carbono orgánico total en la alimentación (rombo azul) y el	
cultivo (rombo naranja) del fotobiorreactor 1 (A) y del fotobiorreactor 2 (	
Figura 18. Carbono inorgánico en la alimentación (cuadrado azul) y el	
cultivo (cuadrado naranja) del fotobiorreactor 1 (A) y del fotobiorreactor	
Figura 19. Nitrógeno Total en la alimentación (rombo azul) y el caldo (	
(rombo naranja) del fotobiorreactor 1 (A) y del fotobiorreactor 2 (B)	
Figura 20. Concentración de amonio (NH <sub>4</sub> +) en la alimentación (triángulo caldo de gultivo (triángulo parania) del fotobiorreactor 1 (A) y del fotobiorreactor 1	
caldo de cultivo (triángulo naranja) del fotobiorreactor 1 (A) y del fotobio (B)	
Figura 21. Ion nitrito (NO <sub>2</sub> -) en la alimentación (círculo azul) y el caldo o	
(círculo naranja) del fotobiorreactor 1 (A) y del fotobiorreactor 2 (B)	
Figura 22. Ion nitrato ( $NO_3$ -) en la alimentación (cuadrado azul) y el caldo	
(cuadrado naranja) del fotobiorreactor 1 (A) y del fotobiorreactor 2 (B)	
(cuadrado haranja) del locobiorreactor I (h) y del locobiorreactor 2 (b)	10
Índice de Tablas	
Tabla 1. Composición del agua residual sintética suministrada	25
Tabla 2. TRH de cada fotobiorreactor según los días de operación	





#### 1. Introducción

El crecimiento continuo de la población y los impactos derivados sobre el medioambiente han impulsado que todos los procesos y tecnologías sean mejoradas y puestas a prueba para poder satisfacer las necesidades de las personas, pero a la vez asegurar la sostenibilidad medioambiental de las mismas (Shukla & Ahammad, 2022). La contaminación del agua y su tratamiento es uno de los problemas de mayor importancia en la actualidad, que ha sido abordado por diversas investigaciones con el fin de mejorar la salubridad de la sociedad y el planeta.

Aun cuando el número de Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales (EDARs) se ha incrementado de forma considerable para asegurar la descontaminación de las aguas residuales, los procesos actuales presentan elevados costos energéticos que deben ser reducidos (Baquero-Rodríguez et al., 2022). Asimismo, se ha encontrado contaminantes emergentes tales como compuestos de la industria farmacéutica o de cuidado personal, entre otros, que exigen un proceso de depuración más exhaustivo (Blair-González et al., 2021).

#### 1.1.Tratamiento de Aguas Residuales

La definición de aguas residuales viene dada por su naturaleza, es decir, que dependerá de su procedencia. Son una combinación de aguas portadoras de residuos urbanos (residencias), o de establecimientos industriales, y su tratamiento diario es fundamental para mantener en buen estado la salud e higiene de las personas y promover actividades medioambientales sostenibles (Metcalf & Eddy, 2014).

Entre las sustancias que se encuentran presentes en las aguas residuales y que deben ser analizadas y eliminadas están: sólidos suspendidos, agentes patógenos, nutrientes, materia orgánica biodegradable, y metales pesados, entre otras (Metcalf & Eddy, 2014). Para su tratamiento, las EDARs incluyen diferentes operaciones





unitarias y procesos que se subdividen en tratamientos primarios (físicos), secundarios (biológicos y químicos), terciarios y cuaternarios (combinaciones) o avanzados.

Dentro de los tratamientos secundarios, uno de los más ampliamente utilizados es el proceso de fangos activos, el cual se ha ido mejorando y perfeccionando con el paso de los años.

#### 1.1.1. Fangos Activos

El tratamiento de fangos activos permite la remoción de carbono, nitrógeno y fosfato ya que se comenzó a utilizar para eliminar materia orgánica y nutrientes en condiciones aerobias por medio de consorcios de microorganismos, principalmente compuestos por bacterias aerobias (Shukla & Ahammad, 2022).

La biomasa bacteriana crecerá de acuerdo con la cantidad de materia orgánica que sea capaz de degradar, incluyendo los mencionados contaminantes emergentes (Kumar Singh et al., 2020). La biomasa suspendida se conoce como "licor de mezcla" y se debe agitar constantemente para lograr una mezcla completa, lo cual se realiza por medio de aireación. Para evitar el envejecimiento de la biomasa o fango, el licor mezcla se lleva a un proceso de sedimentación, donde parte de la biomasa sedimentada es recirculada al reactor para mantener la carga orgánica y concentración de bacterias necesaria, y otra fracción es purgada y retirada del proceso (Figura 1).





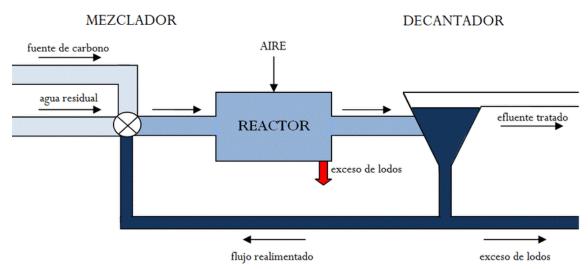


Figura 1. Esquema de un proceso de Lodos Activos (Gómez et al., 2014).

Entre las principales variables de operación del proceso de fangos activos para llevar una adecuada operación y control diario están (Metcalf & Eddy, 2014):

- 1. Tiempo de Retención Hidráulico: Tiempo de residencia del agua residual o residuo líquido que se desea tratar, desde el momento en que entra al sistema hasta que sale de él.
- 2. Tiempo de Retención de Sólidos: Tiempo de residencia de los microorganismos dentro del reactor.
- 3. Oxígeno Disuelto:. Corresponde a la concentración de oxígeno disuelto en la fase acuosa, disponible para que los microorganismos aerobios degraden la materia orgánica. Permite conocer la concentración mínima de oxígeno disuelto que se requiere para que se lleve a cabo el tratamiento de un agua residual.
- 4. Sólidos Suspendidos Totales (SST): Materia de naturaleza orgánica e inorgánica que se encuentra en suspensión en el agua residual o el reactor. En el caso de contemplar sólo la materia orgánica se denominan sólidos suspendidos volátiles (SSV).
- 5. pH y Temperatura: A través del pH es posible identificar que tan ácida o alcalina se encuentra el agua residual y por consecuencia el mismo reactor, pudiendo regular las condiciones del medio para favorecer la actividad microbiana. Tanto pH como temperatura son variables que





determinan la actividad de los microorganismos, por lo que es necesario verificar que se encuentren en los rangos establecidos para fomentar su capacidad de degradación.

- 6. Fracción soluble del medio de cultivo: Concentración de carbono orgánico total, carbono inorgánico y nitrógeno total en el sistema, que permite conocer la degradación de carbono y nitrógeno por parte de los microorganismos.
- 7. Iones NO<sub>3</sub>-, NO<sub>2</sub>-, PO<sub>4</sub>-3, SO<sub>4</sub>-2: Concentración de aniones nitrato, nitrito, fosfato y sulfato a la entrada y salida del sistema, conocer su valor permite comprobar cómo se está llevando a cabo la degradación y la actividad por parte de los microorganismos. Además, por medio del nitrato y nitrito se verifica el proceso de nitrificación y desnitrificación.
- 8. Ion NH<sub>4</sub><sup>+</sup>: Concentración de catión amonio a la entrada y salida del sistema, lo que permite verificar el proceso de nitrificación.

A pesar de que los fangos activos han sido uno de los principales sistemas empleados para el tratamiento de las aguas residuales, presentan un alto consumo energético debido a la aireación requerida. Esta aireación se consigue mediante la inyección de aire comprimido a través de difusores de membrana, por lo que deben vencer una elevada pérdida de carga. Este elevado coste ha hecho necesario investigar nuevas tecnologías que permitan el tratamiento de aguas residuales con menores gastos energéticos. Entre ellas se han investigado biofiltros y sistemas "Sequencing Batch Reactor" (BYO Ingenieros SL, 2017), así como también mejoras en el mismo reactor de bacterias aerobias, siendo los más destacados los procesos basados en microalgas y bacterias debido a la potencial acción simbiótica que se puede llevar a cabo de manera fotosintética. Al trabajar con microalgas, estas son capaces de fijar el CO<sub>2</sub>, y al mismo tiempo produciendo el O<sub>2</sub> que necesitan las bacterias aerobias para degradar el agua residual (Abbew et al., 2022).





#### 1.1.2. Microalgas

Las microalgas son microorganismos fototróficos, ya que utilizan la luz como fuente de energía, y al mismo tiempo son fotosintéticos, pues emplean esa luz para producir O<sub>2</sub>. Gracias a la presencia de luz, que comúnmente proviene del sol, y al consumo de CO<sub>2</sub>, las microalgas son capaces de producir biomasa, metabolitos o productos y a su vez O<sub>2</sub>. El crecimiento de las microalgas depende de la especie y su velocidad específica de crecimiento, que a su vez varía en función de diferentes parámetros y condiciones de operación, como la cantidad de luz, nutrientes o condiciones ambientales. Estos deben mantenerse en rangos adecuados para asegurar el correcto crecimiento de la biomasa algal, tal y como se describe a continuación:

#### • Nutrientes:

- Macronutrientes: Se compone de 3 elementos principales para el crecimiento de la biomasa:
  - Carbono: Este se suministra comúnmente en forma de CO<sub>2</sub>, pero también puede ser entregado en forma de bicarbonato de sodio (NaHCO<sub>3</sub>) o cualquier sal que permita la disociación acuosa para que la biomasa tenga la materia inorgánica (CO<sub>2</sub>) necesaria para llevar a cabo la fotosíntesis.
  - Nitrógeno: Para poder suministrar este macronutriente, comúnmente se utiliza urea ((NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO), lo que promueve la formación de proteínas.
  - Fósforo: La forma de determinar la presencia de fósforo es a través del ion fosfato (PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>), suministrado por medio de sales de fosfato como K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>. Este elemento es muy importante en el proceso energético de la microalga y en general en su actividad celular.

La relación óptima de C:N:P dependerá de cada microorganismo y de las condiciones externas presentes en el sistema. Sin embargo, es importante destacar que la cantidad de nitrógeno y fósforo estará





determinada por la del carbono, el que siempre estará en mayor proporción. Las microalgas utilizadas en el tratamiento de aguas residuales presentan una relación óptima de crecimiento para C:N:P de 100:18:2 (g:g:g) (Posadas, Bochon, et al., 2014).

Micronutrientes: A diferencia de los macronutrientes, estos se encuentran en cantidades inferiores casi a nivel traza, pero se caracterizan por ser necesarios para la actividad microbiana y la actividad metabólica de las microalgas: magnesio, sulfatos, calcio, potasio, hierro, cobalto, cobre, molibdeno y zinc. Estos se suministran en formas de sales solubles en agua.

Es imprescindible que los medios de cultivos contengan las proporciones adecuadas de macronutrientes y micronutrientes, para favorecer el crecimiento de la biomasa algal.

- Intensidad de la Luz: la energía lumínica es fundamental para que las microalgas lleven a cabo sus actividades fotosintéticas, y en consecuencia sus actividades celulares. Esta energía es recibida por medio de la radiación proveniente del sol que se encuentra en el espectro que va de 400 a 700 nm, y con ella es capaz de transformar el CO<sub>2</sub> en O<sub>2</sub> (Maltsev et al., 2021). Específicamente, es posible distinguir dos fases fotosintéticas:
  - Fase de luz: Aquella en que se produce el ATP y energía necesaria, además de O2.
  - Fase de oscuridad: Aquella en que se utiliza la energía producida en forma de ATP anteriormente, y se transforma el CO<sub>2</sub> en hidratos de carbono.

Si bien se han estudiado sistemas experimentales con intensidad de luz continua, hay otros en que se ha alternado la fase de luz con la de oscuridad para observar las variaciones de oxígeno disuelto (Dang et al., 2022).





- Temperatura: El rango oscila comúnmente entre 20 y 30 ºC, valores entre los cuales se puede llevar a cabo la actividad fotosintética sin causar daños en las células de las microalgas, y tampoco modificar otros variables como el pH.
- pH: El valor de pH para favorecer el crecimiento de las microalgas está en torno a 7-8, teniendo en consideración que durante la actividad fotosintética el valor aumenta. Sin embargo, es importante tener en cuenta que el valor óptimo dependerá de cada especie (Khor et al., 2022).
- Agitación: Un variable fundamental de operación para promover el crecimiento de la biomasa es tener una agitación adecuada que permita la mezcla de las microalgas con el medio de cultivo y la incidencia de luz sin causar daños en las paredes celulares (Ahmad et al., 2021).

Dentro de las especies de microalgas, *Chlorella Sorokiniana* es una de las que más se ha estudiado y que se presenta como una de los microorganismos capaces de crecer en un rango más amplio de condiciones. Una de sus características más importantes, es que puede crecer en valores de pH en el rango de 6-9, lo que la hace resistente a ambientes salinos y con alta cantidad de amonio (que resultan en altos valores de pH). Además, destaca su crecimiento en condiciones mixotróficas, lo que se traduce en la posibilidad de fijar el carbono y producir energía utilizando CO<sub>2</sub> o materia orgánica (Moronta et al., 2006).

#### 1.1.3. Fotobiorreactores

El tratamiento de aguas residuales con microalgas o con consorcios de microalgas y bacterias, como alternativa a los sistemas convencionales de fangos activos mencionados anteriormente, se implementa en fotobiorreactores. Estos reactores pueden ser abiertos o cerrados; y requieren de una etapa posterior de separación de la biomasa, que puede ser purgada y rentabilizada como subproducto, y/o retornada al reactor para mantener la concentración de la biomasa.





La elección entre un fotobiorreactor, está determinada por el espacio disponible, pero sobre todo por los costos asociados, Es necesario encontrar alternativas que ofrezcan la posibilidad de tener la biomasa algal de manera libre y en contacto continuo con la luz disponible para la fotosíntesis (Posadas, García-Encina, et al., 2014).

Entre los fotobiorreactores más comunes están los siguientes (Ahmad et al., 2021):

- Estanques o lagunas circulares: Se caracterizan por tener poca profundidad y un amplio diámetro. La agitación se proporciona desde el centro de manera mecánica, y entre sus desventajas está la dificultad en el control de la temperatura.
- <u>Sistemas de superficie inclinada:</u> Las microalgas fluyen sobre una superficie de espesor menor a 1 cm que presenta cierta inclinación en modo cascada.
   Esto favorece la turbulencia y disminuye el autosombreado.
- HRAP (*High Rate Algal Pond*): Estos sistemas también se caracterizan por su baja profundidad, ofreciendo una amplia superficie para que las microalgas capten la luz del sol para su crecimiento. Gracias a una rueda de paletas y deflectores, la biomasa es recirculada a lo largo de todo el reactor de manera continua, evitando la sedimentación y promoviendo la agitación de los microorganismos. Después de cierto tiempo de residencia se retira la biomasa de mayor edad, y gracias a la turbulencia, se disminuyen los tiempos de residencia de las microalgas en la fase de oscuridad.





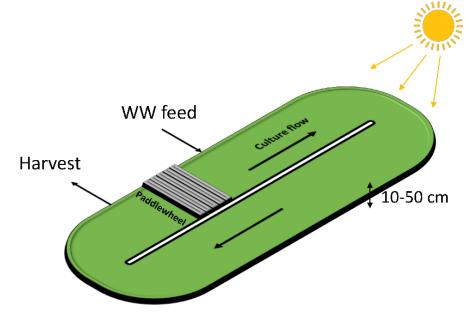


Figura 2. Representación de un HRAP para el tratamiento de aguas residuales (Ferro et al., 2019).

En la actualidad, hay numerosas investigaciones que han profundizado en las propiedades de los consorcios de microalgas y bacterias, y en cómo su acción simbiótica podría tener buenos resultados en el tratamiento de aguas residuales. Específicamente, esta simbiosis aumentaría la productividad de la biomasa y capacidad de remover contaminantes, debido principalmente al intercambio que existe entre el CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub>, elementos que se intercambian en la fotosíntesis y respiración de las microalgas y bacterias respectivamente (Zhang et al., 2022).

#### 1.2. Automatización y control

El control de las variables operacionales en los procesos de tratamiento de aguas residuales es de gran importancia, ya que permite mantener las condiciones operacionales estables en el tiempo reduciendo la variabilidad del proceso, dando cabida a optimizar el crecimiento y desarrollo de los microorganismos, y mejorando el proceso de tratamiento del agua residual. Gracias a los avances en la tecnología, se han realizado mejoras que permiten la automatización de procesos para monitorear ciertas variables, con el fin de disminuir los análisis diarios realizados por personas y obtener valores continuos de dicha variable. A través de la





automatización, es posible medir continuamente una variable por medio de un sensor y tras un proceso de lectura, obtener el valor en una interfaz computacional. De esta forma, en un futuro sería posible modelar y controlar algunas de las variables críticas.

#### 1.2.1. Sistema de Control

Diariamente, son múltiples los procesos que se llevan a cabo de manera piloto o industrial, en los cuales se mide una o más variables y según la respuesta obtenida se aplican cambios en el sistema. La forma en la que se aplican estos cambios determinará si se trata de un Lazo Abierto o de un Lazo Cerrado de control:

Cuando se habla de **Lazo Abierto**, se tiene un proceso en el que la respuesta dinámica o en el tiempo es medida y según eso se realizan cambios de manera manual. Es decir, es una persona la que decide en base a cálculos o comparaciones, qué cambios se le debe aplicar al proceso. La Figura *3* muestra un diagrama explicativo de lo que ocurre en un sistema operado en Lazo Abierto:



Figura 3. Diagrama explicativo del Lazo Abierto de Control.

En el caso de un **Lazo Cerrado**, la respuesta es recibida por el sistema de control, el cual para el caso del control regulatorio, calculará acciones a implementar en el proceso, con el objetivo de mantenerlo cercano a una condición de operación de referencia llamada consigna o *Set Point*. Las acciones calculadas por el sistema de control, se aplican al proceso mediante actuadores automáticos. Es decir, los cambios no son aplicados por una persona, sino que sólo se debe otorgar el valor





deseado y parámetros para la construcción de un modelo que sea capaz de representar la dinámica del sistema, y será un actuador el encargado de aplicar los cambios al proceso. La Figura 4 muestra un diagrama explicativo de lo que ocurre en un sistema operado en Lazo Cerrado:

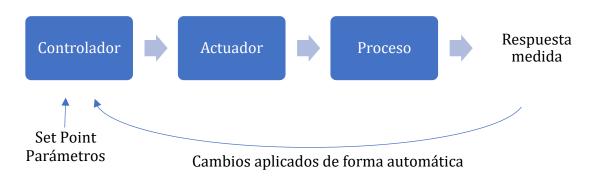


Figura 4. Diagrama explicativo del Lazo Cerrado de Control.

#### 1.2.2. Protocolo de comunicación

Para medir una magnitud física de interés de un sistema, y obtener los datos de la medición en una computadora, existen varios componentes que son importantes de definir:

- Sensor: Es el encargado de transformar el valor de la magnitud física medida en una señal compatible con el sistema que almacenará los datos.
   Comúnmente la señal es eléctrica, como una intensidad de corriente o voltaje (Steinegger et al., 2020).
- Sistema de adquisición de datos: Comúnmente llamados *DAQ* por el inglés *Data Acquisition*, son sistemas que registran las señales eléctricas analógicas enviadas por los sensores y las convierten en variables digitales, que pueden ser interpretadas por un ordenador o un microcontrolador (Fraden, 2004).





- Interfaz humano máquina: Este concepto se utiliza con las siglas *HMI* del inglés *Human Machine Interface*, y permite el poder visualizar en un panel de control lo que se está midiendo en tiempo real.
- Servidor OPC: Es un *driver*, *software* o aplicación que permite que haya una comunicación por medio de protocolos nativos entre un *DAQ* y computadoras o *HMI* (Donnarumma et al., 2022).

En la Figura 5 se muestra el proceso de medición desde un sensor que transforma el valor de la magnitud medida en una señal eléctrica para inmediatamente enviarla a un sistema de adquisición de datos en dónde se toma la señal analógica y se transforma en una señal digital para que sea posible visualizarla en una computadora.

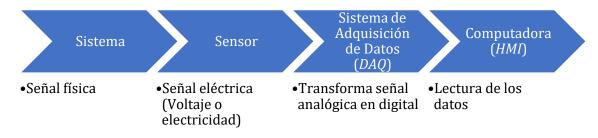


Figura 5. Proceso de comunicación en un sistema automatizado.

Si bien es importante que exista una comunicación entre los sensores y un sistema computacional, los protocolos ofrecen la oportunidad de tener una comunicación bidireccional que además de monitorear las variables medidas permita aplicar camios en los actuadores. Este control se basará en la medición de los sensores y generará cambios en el sistema o proceso por medio de un actuador, que será el encargado de modificar una variable, para operar finalmente en Lazo Cerrado. De esta forma, al diagrama mostrado anteriormente en la Figura 5, se le añadiría la presencia del actuador interactuando con el sistema tal como se muestra en la Figura 6:





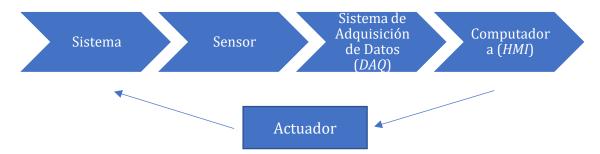


Figura 6. Proceso de comunicación en un sistema en Lazo Cerrado.

#### 1.2.3. Arduino

Uno de los microcontroladores más utilizados en la actualidad es Arduino, una plataforma electrónica de código abierto que se basa en hardware y software fáciles de usar (Arduino, n.d.). Su funcionamiento permite leer una señal analógica de entrada, procesarla, y transformarla en una señal analógica de salida, lo que, a efectos prácticos para el presente trabajo, permitiría tomar una serie de datos de intensidad luminosa y transformarlos en el encendido gradual de luces LED.

Como se explicó con anterioridad, la luz solar es de vital de importancia para las microalgas, por lo que es necesario estudiar el efecto que ésta tiene en el rendimiento de los fotobiorreactores para el tratamiento de aguas residuales. En concreto, para analizar cómo afecta la variación de la luz simulando el amanecer y anochecer puede emplearse una herramienta como Arduino que establezca la intensidad de luz deseada en cada instante, y la aplique a un panel de luces LED.

Con lo anterior, surge la oportunidad de estudiar la automatización y control de un sistema de fotobiorreactores para el tratamiento de aguas residuales que permita optimizar el rendimiento o variable objetivo mediante la variación del Tiempo de Residencia Hidráulico (variando el caudal de agua residual sintética) variando la luz incidente de forma que simule los ciclos de luz/oscuridad diarios.





#### 1.3.0bjetivos

#### 1.3.1. General

Este Trabajo de Fin de Máster se centra en el estudio de estrategias de control para mejorar el tratamiento de aguas residuales domésticas por medio de la acción simbiótica de microalgas y bacterias.

#### 1.3.2. Específicos

Como objetivos específicos, se definen los siguientes:

- Implementación de un sistema experimental automatizado de cultivo de microalgas-bacterias para el estudio de estrategias de control de oxígeno disuelto basado en el aporte de materia orgánica.
- Evaluación de diferentes estrategias de operación de los fotobiorreactores de microalgas-bacterias y estudio de su capacidad de biorremediación de agua residual y producción de oxígeno disuelto.





## 2. Materiales y métodos

En este apartado se detallan los siguientes aspectos del sistema y procedimiento experimental: 1) Montaje experimental, 2) Automatización, 3) Procedimiento experimental y 4) Técnicas analíticas. En el apartado de montaje experimental, se explican las características de los fotobiorreactores además del inóculo utilizado. En el apartado de automatización se definen las conexiones entre los instrumentos de medición y los sistemas de adquisición de datos para tener una medición y registro de los fenómenos físicos y posteriormente analizarlos. El tercer apartado detalla la puesta en marcha del sistema biológico y las diferentes etapas experimentales, identificando los parámetros experimentales de cada una de ellas. Por último, en el apartado de técnicas analíticas se detallan los procedimientos para analizar los parámetros de operación del sistema.

#### 2.1. Montaje Experimental

El montaje del sistema experimental se detalla en la Figura 7:

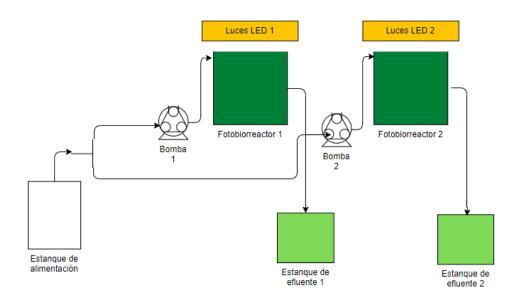


Figura 7. PFD del sistema experimental.





El sistema experimental consistió en 2 fotobiorreactores R1 y R2 fabricados de PVC con un volumen de 3.2 L y 16 cm de profundidad cada uno, alimentados cada uno con una disolución de agua residual sintética, cuya composición se detallará más adelante (apartado 2.3), mediante una bomba peristáltica Watson-Marlow modelo 120-U (B1 y B2). La alimentación tuvo un caudal variable según el Tiempo de Residencia Hidráulico (TRH) deseado, el que tomó valores de 2.5 y 5 d, equivalentes a caudales de 1.28 L/d y 0.64 L/d respectivamente para cada reactor. Cada uno de los fotobiorreactores se mantuvo con agitación magnética empleando agitadores *Fisher Scientific* y con un sistema de refrigeración (*Fisher Scientific* modelo *Polystat* 36) para mantener la temperatura cercana a los 25°C.

Para promover la fotosíntesis de las microalgas, cada fotobiorreactor tenía un sistema de iluminación basado en luces LED. La intensidad de luz se estableció en el rango de 160 y 1200 W/m² para simular la luz de sol en los diferentes momentos del día, y fue automatizada por medio del software Arduino el cual se explicará más adelante (apartado 0).

Como inóculo, se empleó una mezcla de biomasa algal proveniente de un fotobiorreactor tipo *HRAP* del laboratorio de algas de Instituto de Procesos Sostenibles de la Universidad de Valladolid, con una concentración inicial de 0.6 g SSV/L, siendo la microalga predominante fue *Chlorella Sorokiniana*, y fango aerobio de la EDAR de Valladolid, España, con la misma concentración inicial de 0.6 g SSV/L.

La biomasa algal correspondiente al sedimentador del *HRAP*, fue centrifugada para poder utilizar el sedimento como parte del inóculo, el cual fue mezclado con el fango aerobio en proporciones tal que el inóculo final tuviese 0.6 g SSV/L. Para lograr ajustar la dilución, y conseguir los 3.2 L para cada reactor, se añadió medio de alimentación.





#### 2.2. Automatización

A continuación, se muestra un diagrama resumen del protocolo de comunicación del sistema contemplando los sensores, actuadores y conexiones necesarias para llevar a cabo la automatización:

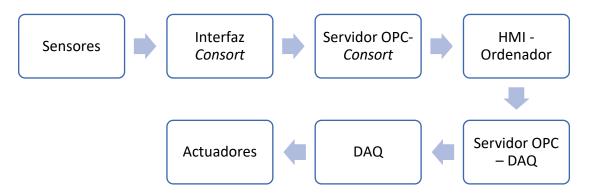


Figura 8. Protocolo de comunicación del sistema de control.

Por medio del esquema de la Figura 8, es posible comprender cómo se llevó a cabo la comunicación del sistema de control. Los sensores corresponden a sondas mara *Consort* modelo SZ10T que miden pH, oxígeno disuelto y temperatura, las cuales están conectadas a una interfaz *Consort* modelo *C3041*. La interfaz *Consort* envía las medidas registradas a un ordenador (*Acer* modelo *Veriton*) mediante un protocolo de comunicación serial, el cual es interpretado y traducido mediante un servidor OPC UA, desarrollado en Labview. La señal enviada por el servidor OPC UA es visualizada y registrada en una HMI desarrollada en *AVEVA Intouch*. En la HMI es posible definir el caudal a ser implementado en las bombas. Esta información ingresada por el usuario es traducida mediante un servidor OPC DA. La señal generada por el servidor OPC DA, se implementa en un sistema DAQ (*Measurement Computing*, modelo *USB-1408plus*) el cual envió una señal analógica proporcional al caudal deseado a las bombas.





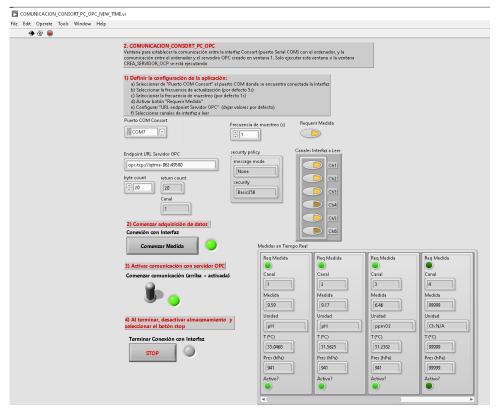


Figura 9. Sistema de adquisición de datos serial desde Interfaz *Consort* y traducción a servidor OPC UA.

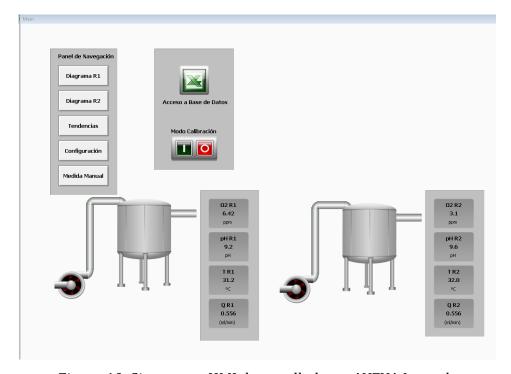


Figura 10. Sistema en HMI desarrollado en AVEVA Intouch.





Para la regulación del caudal de alimentación, se utilizaron bombas con capacidad de automatización, las cuales se conectaron a un sistema de adquisición de datos (*Measurement Computing*, modelo *USB-1408plus*). En la interfaz HMI se otorgó la pendiente de la recta rpm en función de volumen (mL) de cada bomba, y en conjunto con el caudal objetivo según el TRH deseado, se determinó cuántos segundos debían estar encendidas las bombas para alimentar en forma de pulsos. Es importante destacar que las bombas recibían la señal como intensidad de corriente de 4 a 12 mA, por lo que fue necesario un transductor para cambiar la señal a voltaje de 0 a 5 V.

Por otra parte, las luces LED fueron automatizadas por medio de una placa de desarrollo *Arduino Leonardo*, de manera que simularan la luz del sol. Para esto, se utilizaron los valores de radiación en Castilla y León durante el verano, mostrados en la Figura 10:

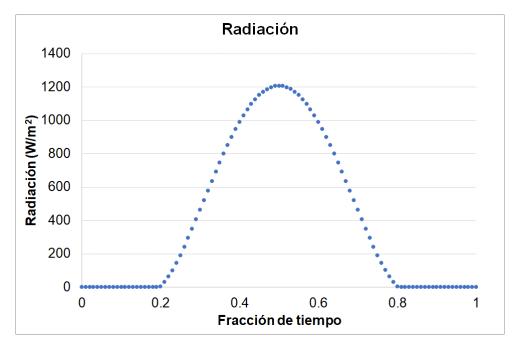


Figura 11. Curva de radiación de la luz solar en Castilla y León en función de fracción de tiempo (Navia, D., 2022).

Se realizó una calibración cambiando el voltaje otorgado a los LED para determinar cuál era la radiación correspondiente para cada valor. Sin embargo, el cambio de





voltaje entregado al sistema se realizó cambiando un valor entero en el código del Arduino denominado bit. Por lo tanto, a través del cambio de voltaje para determinar la radiación en distintos puntos, indirectamente se obtuvo la relación radiación vs bits, definiendo a estos últimos como las variables reales que representan el valor de la intensidad de luz variable en un número entero capaz de introducirlo fácilmente en el código.

El código preparado para el Arduino se caracterizó por 2 partes: Valores e instrucciones de iniciación, y bucle con instrucciones para cumplir durante un ciclo.

#### Instrucciones de iniciación

En el caso de las instrucciones de iniciación, se consideró el valor del tiempo como valor unitario, contemplando el día desde las 00:00 a las 24:00 h como 0 a 1, así como el valor inicial de los bits para cada panel LED de los fotobiorreactores. Este valor inicial de bits, correspondiente a una radiación determinada, indicaría el valor con el que comenzaría el sistema una vez que se iniciara el ciclo del Arduino.

#### Instrucción del bucle

Para el ciclo que debía mantener en funcionamiento el Arduino, se consideró:

- Condicionante para actuar si es que era día o noche, ya que las luces funcionaban a partir de los 10 bits, que eran aproximadamente 161 W/m².
   Es decir, el sistema debía encenderse entre 0.23 y 0.77 de fracción de tiempo, teniendo ciclos de luz/oscuridad de 14/10 h respectivamente.
- Ecuaciones con el polinomio característico de la curva de radicación vs fracción de tiempo, para determinar cuál es el valor que debe considerar el sistema para simular la luz del sol.
- Ecuación para transformar la radiación en bits que utilizará el sistema.
- Instrucciones para enviar los bits calculados anteriormente al pin o puerto determinado de la placa Arduino, que representa la entrada del sistema.

Una vez que la placa Arduino recibe el código, se ejecuta continuamente a menos que reciba una nueva instrucción. En el caso del sistema experimental descrito, este





operó continuamente enviando el valor de los bits a la placa Arduino que transformó el valor en una señal de voltaje la cual fue entregada a los paneles LED.

Por último, se desarrolló una base de datos que permitió almacenar diariamente los datos registrados por el sistema automatizado.

#### 2.3. Procedimiento experimental

La operación del sistema comenzó con la puesta en marcha, en la cual se inoculó cada uno de los reactores con la biomasa descrita en el apartado 2.1, fijando el primer estado estacionario con un TRH de 5 d (equivalente a un caudal de 0.64 L/d). De esta forma se otorgaron los parámetros necesarios a la automatización para que las bombas alimentaran el caudal correcto de alimentación.

Para la alimentación, se empleó un agua residual sintética con la siguiente composición (Tabla 1), simulando un agua residual doméstica:

Tabla 1. Composición del agua residual sintética suministrada.

Compuesto	Concentración mg/L
Glucosa	312.5
Extracto de Carne	137.5
Peptona de Caseína	200
Urea	30
NaCl	7
CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	4
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	2
$K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$	112
$CuCl_2 \cdot 2H_2O$	0.5
NaHCO <sub>3</sub>	1375





Diariamente se realizó el mantenimiento de los fotobiorreactores, incluyendo las siguientes actividades para asegurar el correcto funcionamiento del sistema:

- Limpieza de las paredes y tuberías de los fotobiorreactores para evitar la acumulación de biomasa muerta.
- Limpieza y calibración de las sondas de oxígeno disuelto y pH para disminuir el error en las mediciones.
- Medición del volumen de efluente de cada reactor para verificar el funcionamiento de las bombas de alimentación, así como el control de la temperatura y la evaporación de agua por medio del sistema de refrigeración.

Tras 28 días de operación, una vez alcanzado el estado estacionario con un TRH de 5 d, se comenzó a operar con los ciclos de TRH variable, modificando el TRH del fotobiorreactor 2 cada 2 días a 2.5 d y 5 d alternando su valor.

Tabla 2. TRH de cada fotobiorreactor según los días de operación.

DÍA OPERACIÓN	TRH (días)		
DIA OPERACION	FOTOBIORREACTOR 1	FOTOBIORREACTOR 2	
1-28	5	5	
28-33	5	2.5	

Sin embargo, por problemas operacionales de las bombas de alimentación y el sistema de automatización, el fotobiorreactor 2 se mantuvo desde el día 29 al 33 con un TRH de 2.5 d.

#### 2.4. Técnicas analíticas

Para llevar un adecuado control de la biomasa y los procesos biológicos y determinar el rendimiento del sistema, se analizaron de forma periódica los siguientes parámetros del sistema: concentración de biomasa (mediante el análisis de sólidos suspendidos totales y volátiles) y concentración de carbono orgánico, carbono inorgánico, nitrógeno total disueltos e iones en el medio de cultivo. A





continuación, se detalla el método analítico empleado para cada uno de los parámetros:

- Sólidos Suspendidos Totales y Volátiles (SST y SSV): Este análisis se realizó 3 veces a la semana para cada fotobiorreactor siguiendo la metodología de la Asociación Americana de Salud Pública (Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 1999). Para cada medición, se comenzó filtrando 15 mL de la muestra de interés de cada reactor utilizando un papel filtro de fibra de vidrio con un tamaño de poro de 0.45 µm. Cada muestra se llevó a una estufa para su secado a 105°C durante 24 h (para los sólidos suspendidos totales), y a una mufla para secar a 550°C durante al menos 1 hora (para los sólidos suspendidos volátiles).
- Carbono orgánico total (COT), carbono inorgánico (CI) y nitrógeno total (NT) de la fracción soluble de la alimentación y del medio de cultivo. Las mediciones se realizaron 2 veces a la semana utilizando el equipo *Shimadzu TOC-VCSH* (Japón). Para la preparación de las muestras se comenzó filtrando 40 mL utilizando filtros de tamaño de poro 0.45 μm, para posteriormente preparar diluciones 1:5 tanto para el medio de alimentación como para cada uno de los fotobiorreactores, considerando un volumen total de 30 mL por muestra y utilizando agua tipo I como disolvente.
- <u>Iones NO<sub>3</sub>-, NO<sub>2</sub>-, PO<sub>4</sub>-3, SO<sub>4</sub>-2</u>: Para la medición de la concentración de los distintos aniones en la alimentación y la biomasa, se filtraron las muestras del medio y de cada reactor utilizando un papel filtro de fibra de vidrio tamaño de poro 0.45 μm primero, y luego otro filtro de tamaño de poro 0.22 μm. Se prepararon viales con 1 mL de muestra para ser analizados por Cromatografía Líquida (HPLC) en un equipo *Waters 432 HPLC conductivity detector* (EE.UU.).





• <u>Ion NH4</u>±: Para conocer el valor del amonio se utilizó el Método Nessler, en el cual las muestras de la alimentación y biomasa de ambos reactores fueron filtradas por filtros de tamaño de poro 0.45 μm. Se hizo reaccionar 10 mL de muestra con 12 μL de Na<sub>2</sub>EDTA durante 3 min, y luego con 0.40 mL de reactivo Nessler durante 10 min. Una vez ocurrida la reacción, se procedió a medir la absorbancia de cada muestra a 425 nm en un espectrofotómetro *Shimadzu UV-2550* (Japón).

En el momento en que se comenzó a operar un TRH variable de 2.5 d, todos los parámetros se analizaron diariamente para poder llevar un adecuado control del sistema.

#### 2.5. Sistema de control

La planificación deseada del sistema de control se describe en el diagrama a continuación:

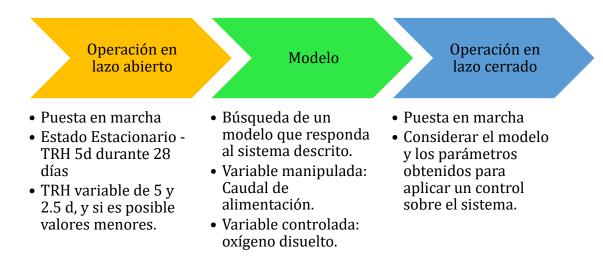


Figura 12. Planificación del sistema de control.





## 3. Resultados y discusiones

Para la explicación de los resultados y su discusión, se comenzará explicando los resultados experimentales correspondientes al oxígeno disuelto, pH y temperatura que son aquellos que se obtuvieron por medio del Sistema de Adquisición de Datos, y luego se abordarán los parámetros referidos al crecimiento y biodegradación por parte de los microorganismos obtenidos por medio de técnicas analíticas. Finalmente, se presentará una propuesta de automatización para próximas experimentaciones.

#### 3.1. Resultados experimentales

#### 3.1.1. Variables obtenidas por medio del sistema de adquisición de datos.

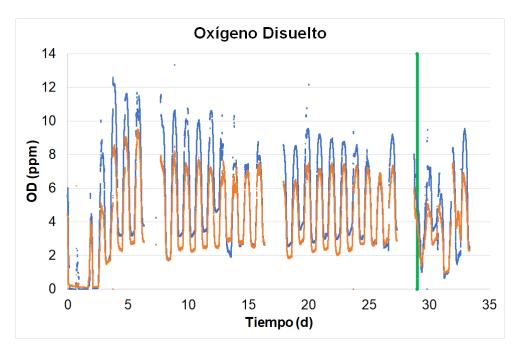


Figura 13. Oxígeno disuelto en el fotobiorreactor 1 (Azul) y en el fotobiorreactor 2 (Naranja) durante la experimentación. La línea verde indica el cambio en el TRH.

En la Figura 13, se observa que para ambos reactores el comportamiento del oxígeno disuelto tiene una tendencia oscilatoria. Esto está directamente relacionado con la intensidad de luz recibida por cada fotobiorreactor, ya que durante el día se favorece





la actividad fotosintética de las microalgas, produciendo O<sub>2</sub>, y durante la noche, el oxígeno disminuye debido a la respiración aerobia de las bacterias y la falta de aporte de oxígeno.

Si bien se aprecia que la curvas no son exactamente iguales, existe una similitud entre el comportamiento de ambos fotobiorreactores, lo cual tiene relación con lo esperado por el sistema de automatización.

Los valores comprendidos entre los días 29 y 33 corresponden a la etapa de experimentación de TRH variable (después de la línea verde). En este periodo el objetivo era cambiar el tiempo de residencia del fotobiorreactor 2 cada 2 días y durante 12 días en total, pero por problemas operacionales de las bombas de alimentación y el sistema de automatización, sólo fue posible tener el sistema en esas condiciones por 5 días. Las curvas de OD de este período presentan una alta variabilidad debido a la problemática descrita anteriormente.

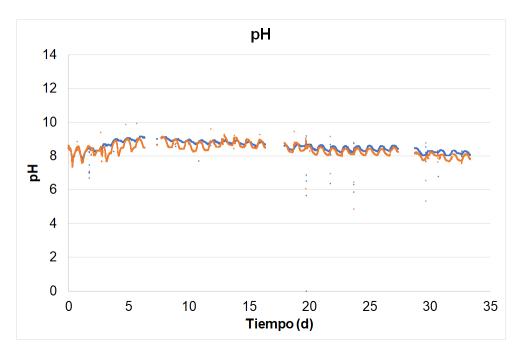


Figura 14. pH en el fotobiorreactor 1 (Azul) y en el fotobiorreactor 2 (Naranja) durante la experimentación.





En el caso del pH, en la Figura 14 se puede apreciar que el comportamiento es similar al oxígeno disuelto ya que hay oscilaciones constantes correspondiente con la intensidad de luz recibida cada día. Esto se debe a la actividad fotosintética y a la asimilación del CO<sub>2</sub> por parte de las microalgas durante el día, ya que al consumir el dióxido de carbono aumenta el pH del caldo de cultivo.

En general, el pH se mantiene constante entre valores de 7.5 y 9, asegurando que la operación se desarrolló en un rango de pH óptimo para el crecimiento de la biomasa y en el que no hay actividad inhibitoria para estos microorganismos. Es importante destacar que no se vio afectado de manera notoria por el período de tiempo de residencia variable, a diferencia del oxígeno disuelto comentando anteriormente.

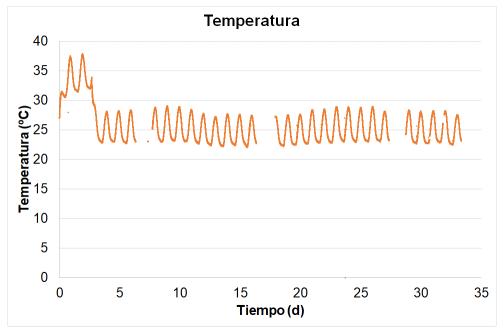


Figura 15. Temperatura en el fotobiorreactor 2 durante la experimentación.

En la Figura 15 se muestra la temperatura del fotobiorreactor 2 durante toda la experimentación. En ella se puede observar que, si bien en un inicio hay valores sobre los 25°C, una vez se ajustó el sistema de refrigeración a partir del día 3, la temperatura del caldo de cultivo del fotobiorreactor 2 se mantiene en un rango constante de operación, oscilando entre 22 e 28 °C. Esto aseguró que la temperatura en el fotobiorreactor fue la adecuada para los microorganismos, y a su vez que el





sistema de refrigeración ayudó a contrarrestar la evaporación por efecto de la intensidad de luz recibida.

En el caso del fotobiorreactor 1, el comportamiento fue similar al descrito para el fotobiorreactor 2, manteniendo la temperatura adecuada y corroborando sus valores diariamente. Sin embargo, los datos almacenados por el sistema de adquisición fueron guardados de manera errónea, por lo que no es posible visualizarlos gráficamente.

Tanto para el oxígeno disuelto, el pH y la temperatura, las discontinuidades observadas o valores fuera de rango se deben al arranque y paradas en el sistema de monitorización y control durante la operación, así como a la adaptación de la biomasa a las condiciones de cada fotobiorreactor.

#### 3.1.2. Parámetros obtenidos por medio de técnicas analíticas.

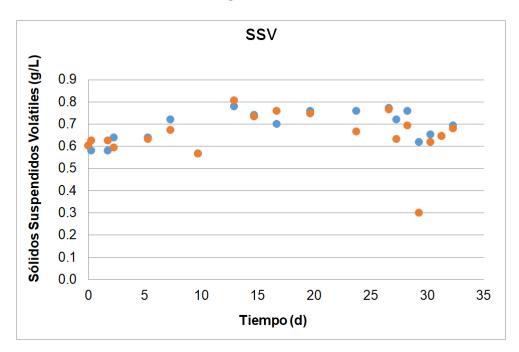


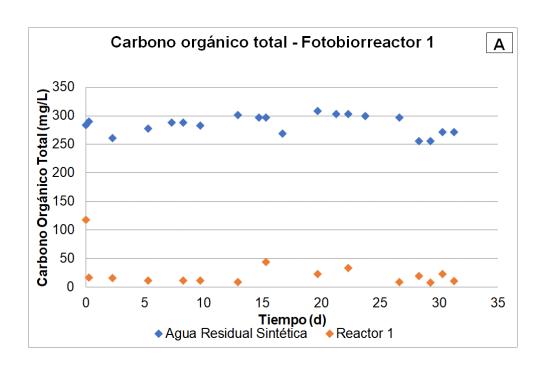
Figura 16. Sólidos suspendidos volátiles en el fotobiorreactor 1 (Azul) y fotobiorreactor 2 (Naranja) durante la experimentación.

En cuanto al crecimiento de la biomasa, en la Figura 16 se muestran los sólidos suspendidos volátiles para cada fotobiorreactor. Se observó un crecimiento desde el





inicio, alcanzando la estabilidad a partir de los 12 d de operación, en ambos fotobiorreactores, teniendo valores promedios de 0.68±0.07 g SSV/L para el fotobiorreactor 1 y 0.65±0.11 g SSV/L para el fotobiorreactor 2. Es importante mencionar, que durante los últimos días de operación se observa una variación en el crecimiento de la biomasa, lo cual está relacionado con los problemas de operación de las bombas de alimentación y del sistema de automatización mencionados anteriormente, los que afectaron tanto a la frecuencia con que se alimentaba y por consecuencia al TRH de cada fotobiorreactor.







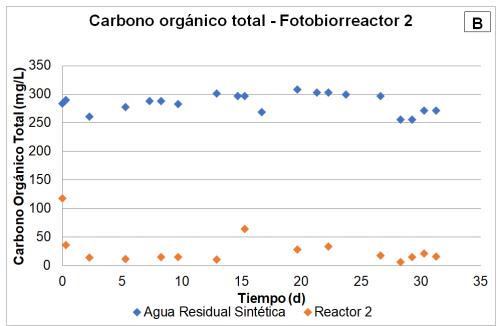


Figura 17. Carbono orgánico total en la alimentación (rombo azul) y el caldo de cultivo (rombo naranja) del fotobiorreactor 1 (A) y del fotobiorreactor 2 (B).

La medida del carbono orgánico total nos proporciona la cantidad de materia orgánica biodegradable que hay en el sistema. De esta forma, se espera que el valor disminuya durante los primeros días de operación, y se mantenga en valores cercanos a 0, tales que haya una alta capacidad de eliminación debido a la acción de los microorganismos.

En el caso de ambos fotobiorreactores, en la Figura 17 se observa que durante todo el proceso de operación el carbono orgánico total tuvo valores promedio de  $17.54 \pm 10.43$  mg/L para el fotobiorreactor  $1 y 21.61 \pm 14.93$  mg/L para el fotobiorreactor 2. Si se comparan estos valores con el del agua residual sintética suministrada de  $285.04 \pm 16.66$  mg/L, es posible concluir que existió una remoción promedio del 95%, la que puede considerarse exitosa si se contempla que la eliminación en procesos de tratamientos de aguas residuales puede tener valores entre el 70 y 85% (Xu et al., 2017).





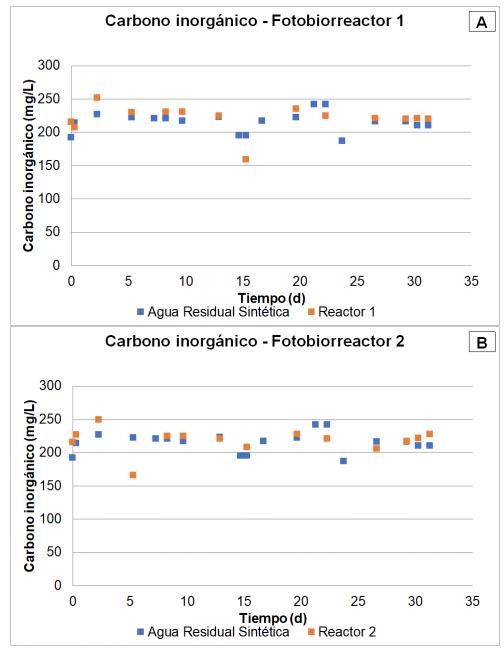


Figura 18. Carbono inorgánico en la alimentación (cuadrado azul) y el caldo de cultivo (cuadrado naranja) del fotobiorreactor 1 (A) y del fotobiorreactor 2 (B).

En la Figura 18 se muestra el carbono inorgánico de ambos fotobiorreactores, en los cuales el rango de valores es igual o superior al valor promedio de alimentación o agua residual sintética. Esto asegura que el  $CO_2$  disuelto se mantuvo constante en un rango establecido, lo que se relaciona con el pH, el cual se mantuvo entre 7.5 y 9.





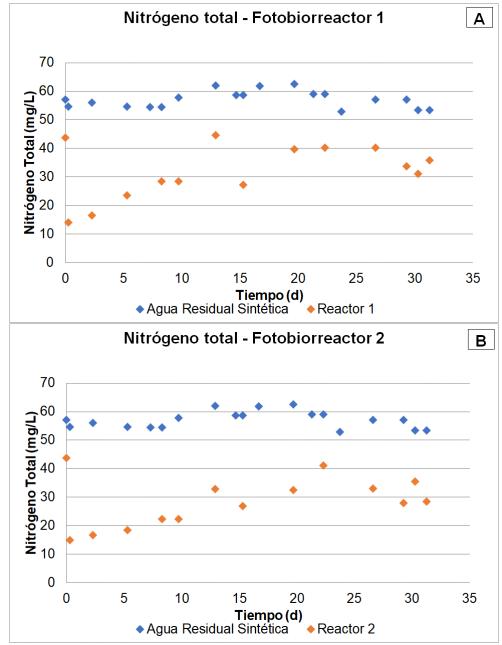


Figura 19. Nitrógeno Total *en la alimentación* (rombo azul) y el caldo de cultivo (rombo naranja) del fotobiorreactor 1 (A) y del fotobiorreactor *2* (*B*).

El nitrógeno total es uno de los parámetros más importantes para las microalgas, ya que es indica cuánto nitrógeno están consumiendo o fijando, lo que está directamente relacionado con el crecimiento de la biomasa.

En el caso de la Figura 19, el sistema se mantuvo en valores prácticamente constantes de transformación de nitrógeno de 80.46 ± 20.68 % para el





fotobiorreactor 1 y de 80.85 ± 19.77 % fotobiorreactor 2, con respecto al agua residual sintética suministrada, por lo que se entiende que hubo una asimilación del N por parte de los microorganismos, y se promovió el crecimiento de la biomasa.

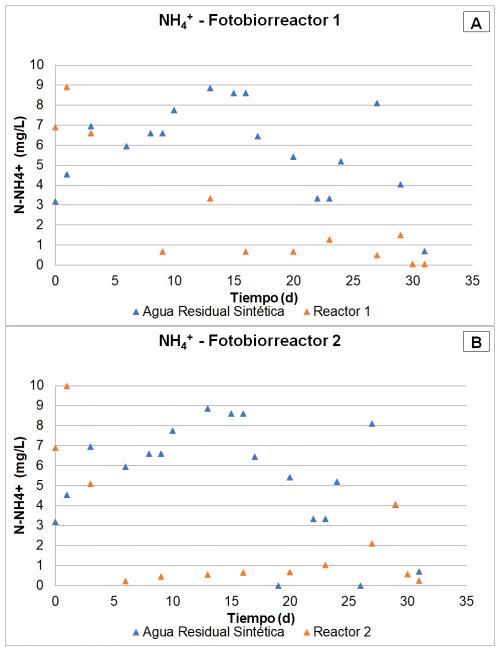


Figura 20. Concentración de amonio ( $NH_4^+$ ) en la alimentación (triángulo azul) y el caldo de cultivo (triángulo naranja) del fotobiorreactor 1 (A) y del fotobiorreactor 2 (B).





Por medio del ion amonio es posible determinar si los microorganismos están llevando a cabo la nitrificación, es decir, si están transformando u oxidando el amonio, lo que se confirmará posteriormente con análisis de aniones nitrito y nitrato para determinar si la nitrificación es total o parcial como se muestra en la ecuación (1).

$$NH_4^+ \to NO_2^- \leftrightarrow NO_3^- \tag{1}$$

Al analizar la Figura 20 se puede observar que la concentración de amonio disminuyó durante los primeros días de operación hasta alcanzar un estado estacionario en el día 6. La remoción promedio de ambos fotobiorreactores fue de 90%, que se considera como valor alto comparado con otros sistemas estudiados que presentaron 80% de eliminación promedio (Xu et al., 2017).

Las fluctuaciones en las mediciones del amonio en el agua residual sintética presentan grandes fluctuaciones, si bien la composición se mantuvo constante durante todo el periodo experimental (como puede verse en el NT de la figura 19). Estas variaciones se pueden atribuir a un error analítico, puesto que a las muestras se les añadió ácido sulfúrico para fijar la concentración de amonio y fueron congeladas durante una semana previo a su medición. Se recomienda realizar la medición de manera inmediata para disminuir el error en los resultados obtenidos.





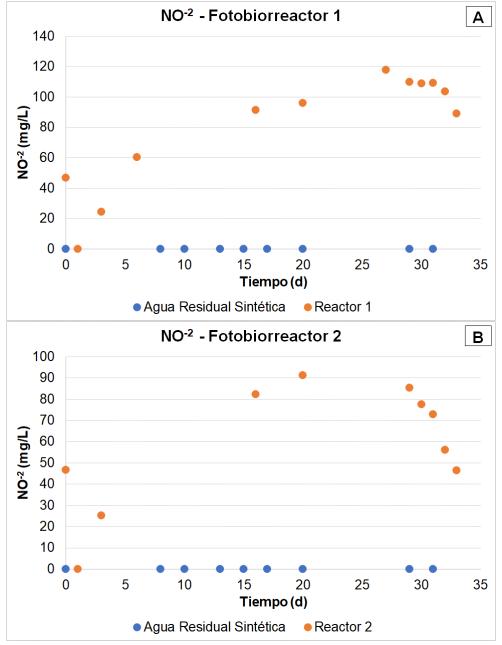


Figura 21. Ion nitrito (NO<sub>2</sub>-) en la alimentación (círculo azul) y el caldo de cultivo (círculo naranja) del fotobiorreactor 1 (A) y del fotobiorreactor 2 (B).

La *Figura 21* muestra la concentración del ion nitrito a lo largo del tiempo para ambos fotobiorreactores, donde se observa que hay un aumento de los nitritos hasta llegar a un valor máximo después de 25 d de operación. Lo anterior indica que se estaba llevando a cabo el proceso de transformación de amonio en nitrito conocido como nitrificación parcial (nitritación). Una vez alcanzado el estado estacionario e iniciado el TRH variable, ambos reactores empiezan a disminuir la concentración de





nitritos, lo que se traduce en un aumento en los nitratos de ambos sistemas como se observa a continuación, ya que el amonio continuó con valores bajos.

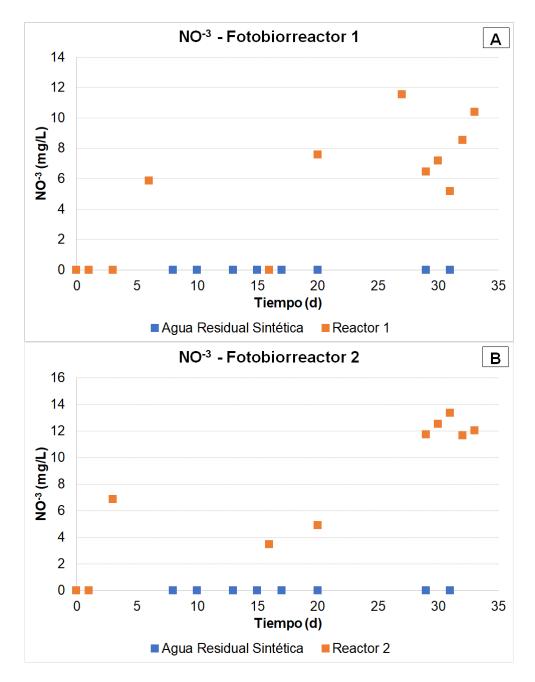


Figura 22. Ion nitrato (NO<sub>3</sub>-) en la alimentación (cuadrado azul) y el caldo de cultivo (cuadrado naranja) del fotobiorreactor 1 (A) y del fotobiorreactor 2 (B).

En el caso de la Figura 22, el ion nitrato aumentó su concentración de manera progresiva durante toda la operación de los primeros 28d. Cuando se inició el tiempo de residencia variable de 2.5 d, la concentración de nitritos continuó





aumentando, lo que aseguró que se llevó a cabo el proceso de nitrificación de manera completa.

#### 3.2. Propuesta de automatización

El principal resultado de este trabajo era el poder obtener los datos de oxígeno disuelto y otras variables en un sistema de fotobiorreactores, operando con luz variable y con distintos caudales de alimentación. De esta forma, sería posible generar un modelo que fuese capaz de aplicarse en un posterior sistema de control a lazo cerrado.

Sin embargo, la experimentación en lazo abierto tomó más tiempo debido a diversos problemas operacionales:

- Problemas con la inoculación y llegada al estado estacionario: Si bien en este trabajo se muestra el alcance de un estado estacionario, fueron múltiples los ensayos en los que la biomasa no creció. Esto se asoció a un exceso de agitación, que provocaba la ruptura de las células, y también a las características propias de la biomasa, ya que en un inicio se inoculó utilizando *Chlorella Sorokiniana* pura, y no con la del *HRAP*. Al utilizar un cultivo de *Chlorella* puro la cantidad de días de operación fue mucho menor que al utilizar uno mixto, o un consorcio de microalgas y bacterias ya consolidado durante bastante tiempo.
- Problemas en las bombas de alimentación: Los cabezales en los cuales se fijaba la tubería se atascaban cada cierto tiempo y dejaban de bombear correctamente, dejando al sistema sin alimentación.
- Problemas con las sondas de OD: Las sondas de medida del oxígeno disuelto eran sondas de membranas, que debían ser limpiadas y calibradas diariamente. Sin embargo, la membrana se rompía con el paso del tiempo, o se ensuciaba con las sales propias del sistema, entregando valores erróneos





de concentración de oxígeno disuelto. Para esto fue necesaria la calibración y limpieza diaria, pero entendiendo que no era posible su utilización de manera continua.

- Problemas con la conexión del servidor OPC: Cada cierto tiempo fallaba la conexión, lo que hacía que las sondas midiesen, pero el sistema de adquisición de datos no le entregaba valores al ordenador, de manera que esos datos se perdían. También hubo problemas con las bombas, porque al caerse el protocolo de comunicación, las bombas continuaban con un valor predeterminado de rpm que no era necesariamente el que se les introdujo y tampoco en forma de pulsos.
- Problemas con el suministro de energía eléctrica: los cortes de energía eléctrica generaban el apagado de todo el sistema incluido el ordenador, por lo que era necesario poner el sistema en marcha nuevamente. Esto incluía el Arduino que se iniciaba con el valor entregado, pero que no necesariamente correspondía al valor de radiación de la hora en que se apagó.

Por todo lo anterior, y para poder cumplir en futuras investigaciones con el objetivo general expuesto, se proponen los siguientes cambios en el sistema:

1. <u>Cambios en la agitación e inoculación:</u> Se observó que la alternativa más adecuada consistía en utilizar agitación magnética y no de bomba sumergida debido al caudal que ofrecen estas últimas, siendo muy alto para las características del sistema. Por otra parte, se sugiere la utilización de consorcios de microalgas y bacterias que lleven bastante tiempo en funcionamiento en plantas de tratamiento de gran tamaño, porque al trabajar en un sistema tan pequeño, y con un tipo de agitación distinta al convencional, es difícil alcanzar el estado estacionario y que la biomasa se mantenga viva.





- 2. <u>Cambios en el sistema de bombeo</u>: Debido al estado de las bombas con las que se operó, es necesario contemplar nuevos actuadores para asegurar la entrega del caudal correspondiente. Específicamente se proponen las bombas marca *J.Jimeno* modelo *HF-SK-HandyPump*, las cuales operan de 0 a 5 V y presentan cabezales resistentes para la operación requerida (*Bombas Peristálticas de Caudal HYGIAFLEX SK Handypump*, n.d.).
- 3. <u>Cambios en las sondas de oxígeno disuelto:</u> Para asegurar que las mediciones no se vean afectadas por la membrana de las sondas, se propone la utilización de sondas ópticas, las cuales operan con luminiscencia y no con membranas, reduciendo la posibilidad de ensuciamiento. En este caso se proponen las sondas "Vernier Optical DO Probe" marca *Vernier* (*Vernier Optical DO Probe Vernier*, n.d.).
- 4. <u>Cambios en el sistema de adquisición de datos o interfaz multiparámetro:</u> Al cambiarse las sondas, es posible trabajar con una interfaz que esté directamente relacionada con los sensores y sea fácil de utilizar. Una de las alternativas que puede utilizarse es la de LabQuest Mini marca *Vernier*, una interfaz amigable que es compatible con las sondas descritas en el punto anterior, y que ofrece un software sencillo de usar en el ordenador y otras aplicaciones (*LabQuest Mini Vernier*, n.d.).
- 5. <u>Utilización de un SAI (Sistema de Alimentación Ininterrumpida) para el suministro eléctrico:</u> Considerando los problemas descritos, se propone la utilización de un equipo de estas características, capaz de mantener encendido el ordenador y el sistema de control y automatización en general.

Una vez realizados los cambios propuestos, se procedería a la realización del modelo junto con la obtención de los parámetros y posteriormente su aplicación en el lazo de control cerrado.





#### 4. Conclusiones

En cuanto a los resultados obtenidos de oxígeno disuelto y pH, estos presentaron variaciones diarias que están directamente asociadas a la actividad fotosintética de las microalgas y a la actividad aerobia de las bacterias, en función de la intensidad lumínica, observándose un comportamiento similar en ambos fotobiorreactores, lo cual ratifica la estabilidad del sistema. Los rangos de operación presentan un estado óptimo para el crecimiento de la biomasa, promoviendo la biorremediación del agua residual sintética. El sistema de control permitiría adecuar el caudal suministrado de agua residual a tratar en función del oxígeno disuelto.

La biomasa fue capaz de degradar la materia orgánica en un 95% y de transformar el amonio en un 90%, lo que asegura que el proceso de tratamiento del agua residual se llevó a cabo de la manera correcta favoreciendo el crecimiento y actividad de los microorganismos.

Con respecto a la automatización, es necesario depurar fallos en el sistema de monitorización y control, para tener un proceso que funcione adecuadamente y por consecuencia se pueda tener un control del oxígeno disuelto.

En futuras investigaciones se recomienda realizar nuevamente la operación del sistema con diferentes TRH en condiciones de variación de lumínica diaria, para analizar la respuesta del sistema biológico a los cambios ambientales. De esta forma será posible tener datos que respondan a distintos cambios de variable, y posteriormente se podría generar un modelo que responda al sistema. Todo lo anterior con el objetivo de implementar un control en el sistema que sea capaz de controlar el oxígeno disuelto.





#### Referencias

- Abbew, A. W., Amadu, A. A., Qiu, S., Champagne, P., Adebayo, I., Anifowose, P. O., & Ge, S. (2022). Understanding the influence of free nitrous acid on microalgal-bacterial consortium in wastewater treatment: A critical review. *Bioresource Technology*, 363, 127916. https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2022.127916
- Ahmad, I., Abdullah, N., Koji, I., Yuzir, A., & Muhammad, S. E. (2021). Evolution of Photobioreactors: A Review based on Microalgal Perspective. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, 1142*(1), 012004. https://doi.org/10.1088/1757-899X/1142/1/012004
- Arduino. (n.d.). *What is Arduino?* / *Arduino*. Retrieved December 13, 2022, from https://www.arduino.cc/en/Guide/Introduction
- Baquero-Rodríguez, G. A., Martínez, S., Acuña, J., Nolasco, D., & Rosso, D. (2022). How elevation dictates technology selection in biological wastewater treatment. *Journal of Environmental Management, 307,* 114588. https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2022.114588
- Blair-González, J., Contreras-Villacura, E., Carvajal Guevara, A., & Palma Toloza, C. (2021). Oxytetracycline removal by biological/chemical activated mesoporous carbon. *Microporous and Mesoporous Materials*, 327, 111384. https://doi.org/10.1016/J.MICROMESO.2021.111384
- Bombas peristálticas de caudal HYGIAFLEX SK Handypump. (n.d.). Retrieved December 14, 2022, from http://fricaval89.com/productos/bombas-peristalticas-Fluidos/hygiaflex/HF-SK-HandyPump.html
- BYO Ingenieros SL. (2017). ANEJO  $N^o4$  ESTUDIO DE ALTERNATIVAS ANTEPROYECTO PARA LA MEJORA DE LAS INSTALACIONES DE TRATAMIENTO DE LA EDAR DE GIJÓN OESTE (ASTURIAS).
- Dang, B. T., Nguyen, T. T., Ngo, H. H., Pham, M. D. T., Le, L. T., Nguyen, N. K. Q., Vo, T. D. H., Varjani, S., You, S. J., Lin, K. A., Huynh, K. P. H., & Bui, X. T. (2022). Influence of C/N ratios on treatment performance and biomass production during co-culture of microalgae and activated sludge. *Science of The Total Environment*, 837, 155832. https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2022.155832
- Donnarumma, S., Fruzzetti, C., Martelli, M., Chiti, R., Pecoraro, A., & Sebastiani B A Diten, L. (2022). Rapid Prototyping for Enhanced Dynamic. *Progress in Marine Science and Technology*, 6, 641–649. https://doi.org/10.3233/PMST220075
- Ferro, L., Funk, Christiane., Gentili, Francesco., Gouveia, Luísa., & Umeå universitet Teknisk-naturvetenskapliga fakulteten. (2019). *Wastewater treatment and biomass generation by Nordic microalgae growth in subarctic climate and microbial interactions.*
- Fraden, J. (2004). Data Acquisition. In J. Fraden (Ed.), *Handbook of Modern Sensors: Physics, Designs, and Applications*. Springer New York. https://doi.org/10.1007/0-387-21604-9\_1
- Gómez, C., Marquez, R., & Rios-Bolivar, M. (2014). PromediaciÃ<sup>3</sup>n De Un Proceso De Tratamiento De Aguas Residuales Con Lodos Activados Basado En El Modelo ASM3. https://doi.org/10.0/Linux-x86\_64
- Jones, E. R., van Vliet, M. T. H., Qadir, M., & Bierkens, M. F. P. (2021). Country-level and gridded estimates of wastewater production, collection, treatment and





- Universidad de Valladolid
  - Earth System Science Data, 13(2), 237–254. reuse. https://doi.org/10.5194/ESSD-13-237-2021
- Khor, J. G., Lim, H. R., Chia, W. Y., & Chew, K. W. (2022). Automated Cultivation System for Microalgae: Growth Factors and Control. Current Nutrition & Food Science, 18(9), 776-779. https://doi.org/10.2174/1573401318666220421132428
- Kumar Singh, N., Pandey, S., Singh, R. P., Muzamil Gani, K., Yaday, M., Thanki, A., & Kumar, T. (2020). Bioreactor and bioprocess technology for bioremediation of domestic and municipal wastewater. Bioremediation of Pollutants, 251-273. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819025-8.00011-9
- LabOuest Mini Vernier. (n.d.). Retrieved December 14, 2022, from https://www.vernier.com/product/labquest-mini/
- Maltsev, Y., Maltseva, K., Kulikovskiy, M., & Maltseva, S. (2021). Influence of light conditions on microalgae growth and content of lipids, carotenoids, and fatty composition. acid Biology, 10(10). https://doi.org/10.3390/BIOLOGY10101060
- Metcalf & Eddy. (2014). Wastewater Engineering. In Environmentally Conscious Materials and Chemicals Processing. https://doi.org/10.1002/9780470168219.ch8
- Moronta, R., Mora, R., & Morales<sup>1</sup>, E. (2006). Respuesta de la microalga Chlorella sorokiniana al pH, salinidad y temperatura en condiciones axénicas y no axénicas. Revista de La Facultad de Agronomía, *23*(1), http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S0378-78182006000100003&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Posadas, E., Bochon, S., Coca, M., García-González, M. C., García-Encina, P. A., & Muñoz, R. (2014). Microalgae-based agro-industrial wastewater treatment: a preliminary screening of biodegradability. https://doi.org/10.1007/s10811-014-0263-0
- Posadas, E., García-Encina, P. A., Domínguez, A., Díaz, I., Becares, E., Blanco, S., & Muñoz, R. (2014). Enclosed tubular and open algal-bacterial biofilm photobioreactors for carbon and nutrient removal from domestic wastewater. **Ecological** Engineering, 67, 156–164. https://doi.org/10.1016/J.ECOLENG.2014.03.007
- Shukla, R., & Ahammad, S. Z. (2022). Performance evaluation and microbial community structure of a modified trickling filter and conventional activated sludge process in treating urban sewage. Science of The Total Environment, 853, 158331. https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2022.158331
- Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. (1999).
- Steinegger, A., Wolfbeis, O. S., & Borisov, S. M. (2020). Optical Sensing and Imaging of pH Values: Spectroscopies, Materials, and Applications. In Chemical Reviews (Vol. 120, Issue 22, pp. 12357-12489). American Chemical Society. https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c00451
- Vernier Optical DO Probe Vernier. (n.d.). Retrieved December 14, 2022, from https://www.vernier.com/product/vernier-optical-do-probe/
- Xu, J., Wang, X., Sun, S., Zhao, Y., & Hu, C. (2017). Effects of influent C/N ratios and treatment technologies on integral biogas upgrading and pollutants removal from synthetic domestic sewage OPEN. https://doi.org/10.1038/s41598-017-11207-y





Zhang, J., Xia, A., Yao, D., Guo, X., Lam, S. S., Huang, Y., Zhu, X., Zhu, X., & Liao, Q. (2022). Removal of oxytetracycline and ofloxacin in wastewater by microalgae-bacteria symbiosis for bioenergy production. *Bioresource Technology*, *363*, 127891. https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2022.127891