

## **Nuevo sistema de tratamiento de aguas residuales de la industria del procesado de frutas y verduras con microalgas heterótrofas y energías renovables**

J.M. Martín-Marroquín<sup>1,2\*</sup>, D. Hidalgo<sup>1,2</sup>, L. Garrote<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CARTIF Technology Centre, Boecillo (Valladolid), 47151, Spain

<sup>2</sup>ITAP, University of Valladolid, Valladolid, 47010, Spain

(E-mail\*: [jesmar@cartif.es](mailto:jesmar@cartif.es))

### **Resumen**

El presente artículo presenta dentro del proyecto LIFE ALGAECAN un nuevo sistema de tratamiento de las aguas residuales provenientes del procesado de frutas y verduras mediante la combinación del cultivo de microalgas heterótrofas con secado por pulverización de las microalgas recolectadas. Se obtiene así, un producto de interés comercial como materia prima para la producción de biofertilizantes, bioplásticos, alimento para animales, etc., a la vez que se resuelve el problema de la contaminación que dichos efluentes generan. La instalación está alimentada con energías renovables (energía solar y biomasa), lo que minimizará la huella de carbono y los costes operativos del proceso. La calidad final del efluente permitirá su reutilización para la limpieza de los diferentes equipos que intervienen en el proceso y el riego de terrenos tanto para uso agrícola como recreativo.

### **Palabras clave**

Microalgas heterótrofas, frutas, verduras, aguas residuales, biofertilizantes, alimento para animales, energías renovables.

### **Introducción**

Europa es el segundo mayor productor mundial de frutas y verduras (FV), y representa el 17% del valor total de la producción agrícola, de los cuales el 10% corresponde a vegetales y el 7% restante a las frutas. La industria de procesamiento de frutas y verduras (PFV) también es una de los sectores industriales más grandes de Europa, y entre sus actividades se incluyen la preparación, conservación, enlatado, congelación y secado de FV frescas y la fabricación de jugos.

Este tipo de industria siempre ha sido un gran usuario de agua, tanto como ingrediente, como agente de limpieza y como transporte eficiente de materias primas. Se estima que en 2014 la industria PFV de la UE generó alrededor de 200 Mm<sup>3</sup> de aguas residuales.

Cuando las frutas y verduras se limpian y procesan, sus residuos se transfieren al agua tanto en forma sólida como en forma disuelta. Estos efluentes contienen altas cargas orgánicas y de nutrientes, pero también pueden llevar una pequeña parte de productos de limpieza, desinfectantes, fibras, tierra, insectos, pesticidas y fungicidas. En la actualidad, la industria de procesamiento de frutas y verduras (PFV) realiza un pretratamiento de sus efluentes mediante digestión aerobia, reduciendo los nutrientes y el contenido orgánico antes de enviarlos a una planta de tratamiento municipal. Pero este tratamiento

in situ genera grandes cantidades de lodo que debe gestionarse como residuo. La opción más común de eliminación de lodos en estos casos es su deposición en vertederos, lo cual supuso para Europa durante el año 2014 la generación de alrededor de 90 Mm<sup>3</sup> de residuos. Este vertido de lodos tiene aspectos ambientales negativos claros: es una forma ineficiente de utilizar compuestos orgánicos, ya que se reducen las posibilidades de valorización de nutrientes y aumentan las potenciales emisiones de gases de efecto invernadero (103.5 Mt CO<sub>2</sub> equivalente).

El nuevo sistema de tratamiento desarrollado en el marco del proyecto LIFE ALGAECAN demostrará la viabilidad de un proceso de tratamiento in situ para efluentes PFV innovador, que aborda los problemas ambientales asociados con su gestión actual utilizando microalgas heterótrofas como tecnología de tratamiento, de forma que se obtenga un efluente líquido depurado que pueda ser utilizado como agua de riego o para limpieza de equipos o instalaciones, y una corriente semisólida de microalgas que tras su concentración utilizando la tecnología de secado en spray, puedan servir como materia prima para la producción de biofertilizantes, piensos, bioplásticos, etc. Además, la energía utilizada en el proceso es 100% proveniente de energías renovables (principalmente solar fotovoltaica y, en caso de necesidad, complementada por biomasa), lo que minimizará la huella de carbono y los costes operativos del proceso.

## **El proyecto LIFE ALGAECAN**

La tecnología que se aplica en el proyecto es un concepto innovador para el tratamiento de agua residual, la reutilización y la recuperación de recursos. El tratamiento propuesto es simple, desde el punto de vista tecnológico, con bajos costes asociados (tanto de proceso como de energía) y se llevará a cabo in-situ. El prototipo funcionará mediante energías renovables (energía solar con el apoyo de biomasa), lo que minimizará la huella de carbono y los costes de operación del proceso. La calidad final del efluente será muy alta, permitiendo la reutilización para limpieza y riego.

La novedad del proyecto se encuentra en el uso de microalgas heterótrofas, las cuales tiene como ventaja con respecto a las microalgas autótrofas utilizadas en la actualidad en otros procesos de depuración de aguas, el no necesitar la luz solar para su crecimiento. Esta ventaja permite que el tratamiento de estas aguas residuales pueda realizarse prácticamente en cualquier tanque cerrado, disminuyéndose en gran medida la superficie de tratamiento a utilizar al no necesitarse grandes aéreas que permitan que la luz solar entre en contacto con el efluente a depurar. Este ahorro de superficie, así como la simplicidad de operación y el fácil mantenimiento, hacen que el proceso sea atractivo también desde el punto de vista económico.

En el proyecto participan (Figura 1) dos socios españoles, (el Centro Tecnológico CARTIF, que además es el coordinador del proyecto y la empresa HUERCASA que procesa productos vegetales y los distribuye en más de 40 países), dos socios eslovenos (el Centro Tecnológico Algen, centro especialista en el cultivo de microalgas y la empresa VIPI, empresa familiar que produce jugo de frutas), y un socio griego (la Escuela de Ingeniería Química de la Universidad Nacional de Atenas)



Figura 1. Participantes en el proyecto LIFE ALGAECAN.

Las actividades a realizar para lograr los objetivos del proyecto son las siguientes:

- Realizar una caracterización de cada una de las aguas residuales de las industrias donde se va a realizar la demostración de la tecnología (HUERCASA en Sancho Nuño (Segovia) y VIPI en Ljubljana (Eslovenia) con el fin de implementar el procedimiento más adecuado para el crecimiento de las microalgas.
- Seleccionar el microalga heterótrofa que mejor se adapte a las aguas residuales a tratar.
- Optimización de las condiciones de operación de la tecnología propuesta a escala laboratorio.
- Análisis de los requerimientos energéticos de cada una de las etapas individuales del proceso.
- Diseño de la planta piloto demostración para las condiciones óptimas de operación.
- Operación durante 6 meses en cada uno de los demostradores propuestos y formación de los operadores de la planta piloto de cada una de las empresas.
- Estudio de viabilidad económica del proceso

### Primeros resultados

Se ha realizado inicialmente una caracterización de las aguas residuales en cada una de las industrias donde se va a realizar la demostración, para lo cual se han tomado 5 muestras de agua residual en tres corrientes distintas (Figura 2).



Figura 2. Toma de muestra para la caracterización de las aguas residuales

De cada una de las muestras tomadas se realizaron por triplicado análisis físico-químicos (pH, conductividad, DQO, DBO<sub>5</sub>, TOC, sólidos totales y volátiles, pesticidas, metales pesados, sulfatos, fosfatos, nitrógeno total, soluble y sus formas minerales) y microbiológicos (toxicidad, E. Coli, Salmonella). En la Tabla 1 aparecen los métodos de análisis utilizados para cada uno de los parámetros analizados, y en la Tabla 2 los resultados obtenidos de dichos análisis.

Tabla 1. Métodos analíticos utilizados para la caracterización de las aguas residuales

| Parámetro                              | Método de análisis   |
|--|--|
| Nitrógeno amoniacal–NH <sub>4</sub> -N | Valoración según norma UNE-77028 “Calidad del agua. Determinación de nitrógeno amoniacal. Destilación y método de valoración o método colorimétrico”   |
| Conductividad                          | Método conductivimético según norma UNE-EN 27888 “Calidad del agua. Determinación de la conductividad eléctrica”   |
| DBO <sub>5</sub>                       | Método manométrico según norma UNE-EN 1899 Parte 1 y 2 “Calidad del agua. Determinación de la demanda biológica de oxígeno después de 5 días”  |
| DQO                                    | Método de valoración. Reflujo cerrado según norma UNE 77004 “Calidad del agua. Determinación de la demanda química de oxígeno. Método dicromato”   |
| COT                                    | Método de espectrofotometría infrarroja según norma UNE-EN 1484 “Análisis de agua. Guía para la determinación del Carbono Orgánico Total (COT) y Carbono Orgánico Disuelto (COD)” y SM 5310 Carbono Orgánico Total (COT) |
| NKT                                    | Método Kjeldahl según norma UNE-EN 25663 “Calidad del agua. Determinación del nitrógeno Kjeldahl”  |

|                                     |  |
|-------------------------------------|--|
| Toxicidad                           | Inhibición de la movilidad de la Daphnia Magna   |
| Fosfato – PO <sub>4</sub> -P        | Método de espectrofotometría visible   |
| pH                                  | Método potenciométrico según norma UNE-EN ISO 10523 “Calidad del agua. Determinación del pH”   |
| Sólidos suspendidos totales (SST)   | Método gravimétrico según norma UNE-EN 872 “Calidad del agua. Determinación de sólidos suspendidos. Filtración por fibra de vidrio”  |
| Sólidos suspendidos volátiles (SSV) | Método gravimétrico según norma UNE 77034 “Calidad del agua. Determinación de sólidos suspendidos fijos y volátiles”   |
| Sólidos disueltos totales (SDT)     | Método gravimétrico según norma UNE-EN 15216 “Caracterización del residuo. Determinación de sólidos disueltos totales en agua”   |
| Sólidos totales (ST)                | Método gravimétrico  |
| Metales                             | Método de espectroscopia de emisión óptica con fuente de ionización por plasma acoplado inductivamente basado en la norma UNE-EN ISO 11885 " Calidad del agua. Determinación de elementos seleccionados por espectrometría de emisión óptica con fuente de ionización (ICP-OES)".  |
| Nitrógeno en pesticidas             | Método de cromatografía líquida  |
| Cloruro en pesticidas               | Método de cromatografía líquida  |
| Fósforo en pesticidas               | Método de cromatografía líquida  |
| Escherichia coli β-D-glucosidasa +  | Método de siembra basado en la BRD 07-07-12-04 validado por AFNOR contra la norma ISO 16649-2:2001 "Microbiología de alimentos y piensos -- Método para el recuento de Escherichia coli positiva a beta-glucuronidasa -- Parte 2: Técnica de recuento de colonias a 44 grados °C utilizando 5-bromo-4-cloro-3-indolyl beta-D-glucurónido".                 |
| Salmonella spp                      | Método según norma UNE-EN ISO 6579:2003 "Microbiología de alimentos y piensos - Método de detección de Salmonella spp. y norma UNE-EN ISO 6579:2003/A1:2007 "Microbiología de alimentos y piensos – Método de detección de Salmonella spp: Detección de Salmonella spp. en heces animales y en muestras ambientales desde la fase de producción primaria". |

Tabla 2.a. Media de resultados obtenidos en la caracterización de cada una de las corrientes residuales

| Parametro                               | Unidad               | Corriente 1  | Corriente 2  | Corriente 3  |
|---|----------------------|--------------|--------------|--------------|
| Nitrógeno amoniacal -NH <sub>4</sub> -N | mgN/L                | 17.74±3.29   | 18.10±3.35   | 2.18±0.55    |
| Conductividad                           | mS/cm                | 1.96±0.11    | 2.06±0.12    | 1.61±0.09    |
| DBO <sub>5</sub>                        | mgO <sub>2</sub> /L  | 5000±683     | 3295±531     | 2169±387     |
| DQO                                     | mgO <sub>2</sub> /L  | 11000±1469   | 6303±829     | 3481±450     |
| COT                                     | mg/L                 | 3854±743     | 1656±330     | 733±146      |
| NKT                                     | mg/L                 | 545.0±62.1   | 141.0±17.3   | 66.6±8.6     |
| Fosfato - PO <sub>4</sub> -P            | mg/L                 | 183±8        | 59±4         | 27±3         |
| pH                                      | Unidades pH          | 4.53±0.22    | 4.40±0.21    | 6.39±0.30    |
| Sólidos suspendidos totales (SST)       | mg/L                 | 2455±315     | 2391±307     | 873±121      |
| Sólidos suspendidos volátiles (SSV)     | mg/L                 | 2215±286     | 1704±224     | 529±76       |
| Sólidos disueltos totales (SDT)         | mg/L                 | 7306±870     | 2939±373     | 1954±243     |
| Sólidos totales (ST)                    | mg/L                 | 9761         | 5330         | 2827         |
| Toxicidad                               | Eqtox/m <sup>3</sup> | 613          | 27           | 29           |
| Escherichia coli β-D-glucosidasa +      | ufc/g                | <10          | <40          | 2.30E+3      |
| Salmonella spp                          | /25g                 | No detectado | No detectado | No detectado |
| Calcio                                  | mg/L                 | 21.6±2.1     | 29.8±3.1     | 33.9±3.4     |
| Magnesio                                | mg/L                 | 72.3±7.2     | 39.3±3.9     | 21.0±2.1     |
| Sodio                                   | mg/L                 | 281±28       | 221±22       | 277±28       |
| Potasio                                 | mg/L                 | 751±75       | 309±32       | 140±14       |

Tabla 2.b. Media de resultados obtenidos en la caracterización de cada una de las corrientes residuales para el análisis de metales

| Parámetro   | Unidad | Corriente 1       | Corriente 2      | Corriente 3      | Valor límite <sup>1</sup> | Valor límite <sup>2</sup> |
|-------------|--------|-------------------|------------------|------------------|---------------------------|---------------------------|
| Zinc        | mg/L   | 0.558±0.057       | 0.407±0.041      | 0.161±0.016      | 10                        | 3                         |
| Cobre       | mg/L   | 0.1120±0.0112     | 0.0665±0.0067    | 0.0211±0.0021    | 1                         | 0.2                       |
| Cromo Total | mg/L   | 0.0070±0.0007     | 0.0162±0.0016    | 0.0152±0.0015    | 5                         | 0.2                       |
| Manganeso   | mg/L   | <b>13.30±1.28</b> | <b>2.35±0.24</b> | 1.47±0.15        | <b>2</b>                  | <b>2</b>                  |
| Plomo       | mg/L   | <0.010            | <0.010           | <0.010           | 1                         | 0.2                       |
| Hierro      | mg/L   | <b>12.60±1.25</b> | <b>3.03±0.30</b> | <b>9.45±0.95</b> | <b>10</b>                 | <b>2</b>                  |
| Níquel      | mg/L   | 0.0926±0.0093     | 0.0128±0.0013    | 0.0099±0.0012    | 3                         | 2                         |
| Cadmio      | mg/L   | 0.0054±0.0005     | 0.0021±0.0002    | <0.0020          | 0.5                       | 0.1                       |
| Cobalto     | mg/L   | 0.0107±0.0009     | <0.0020          | <0.0020          | 1                         | 1                         |
| Arsénico    | mg/L   | <0.010            | <0.010           | 0.021±0.002      | 1                         | 0.5                       |

<sup>1</sup> Valores límite de vertido al alcantarillado público de acuerdo a la Normativa Municipal de vertidos y uso del sistema de alcantarillado de Sanchoñuño (BOPS N° 82, julio 2012).

<sup>2</sup> Valores límite de vertido de aguas residuales al medio ambiente según el Real Decreto 849/1986, de 11 de abril, por el que se aprueba el Reglamento del Dominio Público Hidráulico.

Tabla 2.c. Lista de los pesticidas analizados

| PESTICIDES                            |                       |                         |                      |                  |
|---------------------------------------|-----------------------|-------------------------|----------------------|------------------|
| Oxychlorthane                         | Epoxiconazole         | Carbendazim             | Chloroxuron          | Malaoxon         |
| Endosulfan sulfate                    | Fenarimol             | Carbofuran-3-hydroxy    | Dimefuron            | Mecarbam         |
| Nonachlor-trans                       | Fenoxaprop            | Chlorfenvinphos         | Carbetamide          | Mesotrione       |
| Nonachlor-cis                         | Florasulam            | Chlorotoluron           | Chlorpropham         | Methomyl         |
| Chlordane-trans                       | Fonofos               | Chlorsulfuron           | Paraoxon-ethyl       | Monocrotophos    |
| Chlordane-cis                         | Haloxifop             | Cyanazine               | Parathion-ethyl      | Iprovalicarb     |
| Mirex                                 | Imazamethabenz-methyl | Thiophanate-methyl      | Pencycuron           | Mandipropamid    |
| Hexachloroethane                      | Imazethapyr           | Thifensulfuron-methyl   | Picoxystrobin        | Mefenpyr-diethyl |
| Hexachlorobutadiene                   | Indoxacarb            | Tebuconazole            | Pirimiphos-methyl    | Methiocarb       |
| 1,2,3,5- & 1,2,4,5-Tetrachlorobenzene | Isoproturon           | Terbuthylazine-desethyl | Primisulfuron-methyl | Molinate         |
| 1,2,3,4-Tetrachlorobenzene            | Lenacil               | Terbutryn               | Prodiamine           | Monuron          |
| Pentachlorobenzene                    | Malathion             | Tri-allate              | Promecarb            | Omethoate        |
| Trifluralin                           | Metazachlor           | Triadimenol             | Propanil             | Oxamyl           |
| Hexachlorocyclohexane Alpha           | Methabenzthiazuron    | Tribenuron-methyl       | Propoxur             | Sebumeton        |
| Hexachlorobenzene (HCB)               | Methidathion          | Triforine               | Prothioconazole      | Spiroxamine      |

|                                 |                     |                                    |                      |                            |
|---------------------------------|---------------------|------------------------------------|----------------------|----------------------------|
| Hexachlorocyclohexane Beta      | Metobromuron        | Terbuthylazine                     | Paclobutrazol        | Teflubenzuron              |
| Hexachlorocyclohexane Gamma     | Metoxuron           | Terbuthylazine-hydroxy             | Paraoxon-methyl      | Thiobencarb                |
| Hexachlorocyclohexane Delta     | Metribuzin-desamino | Thiamethoxam                       | Penconazole          | Tricyclazole               |
| Hexachlorocyclohexane Epsilon   | Monolinuron         | Triadimefon                        | Pendimethalin        | Tebuthiuron                |
| Alachlor                        | Naptalam            | Triasulfuron                       | Pirimiphos-ethyl     | Thiabendazole              |
| Heptachlor                      | Phorate             | Triflusulfuron-methyl              | Pretilachlor         | Triazophos                 |
| Aldrin                          | Phosalone           | Triticonazole                      | Prochloraz           | Trifloxysulfuron-sodium    |
| Telodrin                        | Alachlor            | Prometon                           | Profenofos           | Sethoxydim                 |
| Isodrin                         | Amidosulfuron       | Propachlor                         | Propamocarb          | Quinoxyfen                 |
| Heptachloroepoxide-cis          | Atrazine-2-hydroxy  | Propazine                          | Propham              | Fenamiphos                 |
| Heptachloroepoxide-trans        | Azoxystrobin        | Pyrimethanil                       | Prosulfocarb         | Fenpropimorph              |
| 2,4-DDE                         | Bromacil            | Quinclorac                         | Pyribenzoxim         | Fenuron                    |
| alpha-Endosulfan                | Carbofuran          | Quizalofop                         | BDMC                 | Flutolanil                 |
| 4,4' -DDE                       | Chlorbromuron       | Sebuthylazine                      | Bendiocarb           | Ethiofencarb               |
| Dieldrin                        | Chloridazon         | Simetryn                           | Bitertanol           | Ethoprophos                |
| 2,4-DDD                         | Chlorpyrifos        | Pirimicarb                         | Boscalid             | Haloxypop-methyl (isomers) |
| Endrin                          | Clomazone           | Prometryn                          | Azinphos-ethyl       | Hexaconazole               |
| beta-Endosulfan                 | Cyproconazole       | Propaquizafop                      | Benalaxyl            | Hexythiazox                |
| 4,4' -DDD                       | Diazinon            | Propiconazole                      | Bifenox              | EPTC                       |
| 2,4-DDT                         | Difenoconazole      | Propyzamide                        | Bromophos-ethyl      | Ethion                     |
| 4,4' -DDT                       | Dimethoate          | Pyriproxifen                       | Azinphos-methyl      | Fenpropidin                |
| Methoxychlor                    | Diuron              | Quinmerac                          | Acetamiprid          | Fensulfothion              |
| Sum of 3 tetrachlorobenzenes    | Ethofumesate        | Rimsulfuron                        | Acibenzolar-S-methyl | Fipronil                   |
| Dichlobenil                     | Fenhexamid          | Simazine                           | Aclonifen            | Furathiocarb               |
| Sum of 4 hexachlorocyclohexanes | Fenoxycarb          | Sulfosulfuron                      | Aldicarb             | Carfentrazone-ethyl        |
| Sum of 4 isomers DDT            | Fluazifop           | 1-(3,4-Dichlorophenyl) urea (DCPU) | Aldicarb sulfone     | Clodinafop                 |
| Sum of 6 isomers DDT            | Flusilazole         | 2-Chloro-2,6-diethylacetanilide    | Dichlofenthion       | Clothianidin               |
| PBB 153                         | Foramsulfuron       | Bentazone methyl                   | Dicrotophos          | Crimidine                  |

|                       |                     |                                  |               |                         |
|-----------------------|---------------------|----------------------------------|---------------|-------------------------|
| Napropamide           | Hexazinone          | Chloridazon-desphenyl            | Difenacoum    | Cyprazine               |
| Nicosulfuron          | Imazamox            | Diuron desmethyl (DCPMU)         | Diflubenzuron | Cadusafos               |
| Phosphamidon          | Imidacloprid        | Isoproturon-monodesmethyl        | Dimethenamid  | Carbaryl                |
| Acetochlor            | Iprodione           | Terbutylazine-desethyl-2-hydroxy | Dichlorvos    | Chlorpyrifos-methyl     |
| Ametryn               | Kresoxim-methyl     | 2-amino-N-(isopropyl)benzamide   | Diethofencarb | Clomeprop               |
| Atrazine              | Linuron             | Atraton                          | Difenoxyuron  | Coumaphos               |
| Atrazine-desethyl     | Mesosulfuron-methyl | Carboxin                         | Diflufenican  | Cybutryne (Irgarol)     |
| Atrazine-desisopropyl | Metamitron          | Chlorotoluron-desmethyl          | Cyprodinil    | Cyromazine              |
| BAM                   | Metconazole         | Isoproturon-desmethyl            | Oxadixyl      | Phosmet                 |
| Dichlormid            | Methamidophos       | Simazine-2-hydroxy               | Nuarimol      | Propoxycarbazone-sodium |
| Desmetryn             | Methoxyfenozide     | Fluazifop-butyl (isomers)        | Neburon       | Cymoxanil               |
| Dimethachlor          | Metribuzin          | Metalaxyl (isomers)              | Imazalil      | Picloram                |
| Dimethomorph          | Metsulfuron-methyl  | Metolachlor (isomers)            | Isopyrazam    |                         |

Todos los pesticidas analizados se encontraban en las aguas residuales en concentraciones inferiores a las permitidas por la legislación.

Como puede observarse tras la revisión de los resultados obtenidos de la caracterización de cada una de las corrientes residuales, las aguas del procesado de frutas y verduras son favorable al crecimiento de microalgas.

Una vez caracterizadas las aguas, el Centro Tecnológico Algen procedió a seleccionar el microalga heterótrofa apropiada para el tratamiento de estas aguas residuales. Para ello, en primer lugar, se hizo una búsqueda de microalgas adaptadas a su cultivo en la oscuridad en colecciones de cultivo comerciales, pero no fue posible encontrarlas a la venta, por lo se decidió buscarlas entre la citadas en publicaciones científicas. Entre las que se citaban estaban las siguientes especies de microalgas: *Chlorella vulgaris* (Doucha & Livansky 2011), *Chlorella protothecoides* (Marti 2013), *Chlorella sorokiniana* (Ramsundar 2017), *Chlorella* sp. (Agwa et al. 2012, Bouyam et al. 2017), o *Galdieria sulphuraria*, *Nitzschia laevis*, *Cryptocodium cohnii*, *Neochloris oleoabundans* (Morales-Sanchez et al. 2013). El problema es que en estas publicaciones el agua residual que se trataba estaba preparada artificialmente o pretratada (diluida y esterilizada o en alguna ocasión la habían añadido antibióticos para prevenir contaminaciones), por lo que los resultados que se obtenían no nos podían servir como referencia, al pretender en este proyecto el utilizar el agua residual sin ningún tipo de pretratamiento, con la consiguiente dificultad de tratar con un agua llena de vida donde las microalgas tienen que competir con las bacterias y el microzooplacton por la fuente de carbono que en ella se encuentra.

Finalmente, se decidió ensayar las microalgas *Chlorella* sp. y una mezcla de microalgas procedente de una balsa donde se trataba el digestato procedente de una planta de biogás utilizada dentro del proyecto AlgaeBioGas (AlgaeBioGas.eu). Los ensayos realizados consistieron en hacer crecer las microalgas en la oscuridad durante 6 días en un cultivo puro, y transcurrido este tiempo ponerlas en contacto con las aguas residuales del PFV. Como resultado se obtuvo una gran contaminación del medio por bacterias. Como los cultivos viejos son más propensos a las infecciones, se optó por cultivar el inóculo en condiciones autotróficas antes de ponerlo en contacto con el agua residual en condiciones heterótrofas. Procediendo de esta forma se hicieron ensayos en reactor de 10L agitados y aireados (Figura 3). Tras los ensayos realizados se puede concluir que la mezcla de microalgas asimilaba mejor los nutrientes del agua residual que la microalga *Chlorella*, sp., y que además esa asimilación de nutrientes era mayor cuando el cultivo del inóculo se había realizado en un medio pobre en nutrientes. Para prevenir problemas de infección, el agua residual se inoculó con un concentrado de microalgas (pasta de microalgas) obtenido por centrifugación del inóculo. El tiempo de retención utilizado para un óptimo crecimiento de las microalgas fue de 3 días, y la temperatura a la que se hicieron los ensayos fue de 25°C. Con estas condiciones de operación, la biomasa producida fue 300 mg<sub>microalgas</sub>/L<sub>cultivo</sub>/día.



Figura 3. Ensayos de crecimiento de microalgas en reactores de 10 L

Una vez determinadas las condiciones de operación se procedió al diseño de la planta piloto demostración (Figura 4). La planta piloto está dividida en tres partes principales:

- Zona de crecimiento de microalgas, la cual consta de un raceway para el crecimiento del inóculo y un reactor cerrado, aireado y agitado donde se realizó el tratamiento del agua residual con las microalgas.
- Zona de separación de las microalgas del agua residual tratada mediante centrifugación. En esta etapa obtenemos dos corrientes, el agua limpia que puede ser utilizada para riego, lavado de equipos, etc, y una corriente con una concentración de microalgas del 15% para su introducción en la siguiente etapa del proceso.

- c) Zona de secado en spray, donde la corriente con microalgas se seca para obtener el polvo de microalgas que va a ser utilizado como materia prima en alimento para animales, como biofertilizante, etc.



Figura 4. Planta piloto demostración de la tecnología

A fecha de redacción de este artículo se está procediendo a la construcción de la planta piloto demostración.

## Conclusiones

Tras los ensayos realizados a escala laboratorio del tratamiento de las aguas residuales procedentes de la industria de procesamiento de frutas y verduras, se puede concluir que es posible su tratamiento con microalgas heterótrofas, siempre que el crecimiento del inóculo se haya realizado en raceways abierto con luz solar.

Una vez construida la planta piloto demostración con las condiciones de operación determinadas en el laboratorio se pretenden obtener los siguientes resultados:

- Tratamiento de un mínimo 2 m<sup>3</sup>/día de agua residual procedente de la industria del procesamiento de frutas y hortalizas en un prototipo que funciona con energías renovables, construido con equipos contenerizados para fácil transporte e instalación/ desinstalación, permitiendo así la flexibilidad en las condiciones de operación.
- Obtención de un efluente final de alta calidad, que pueda ser reutilizado (por ejemplo, en riego y limpieza) o vertido a cauces.
- Reducir el coste del tratamiento de industria del procesamiento de frutas y hortalizas en más del 80% cuando se compara con una planta tradicional de tratamiento aeróbico, utilizando la radiación solar y la biomasa como fuentes de energía y evitando costes tradicionales asociados con la gestión de lodos aerobios. Esta reducción podría ser aún mayor si se consideran los ingresos potenciales de la venta de productos a base de algas.

- Reducir un 100% el impacto medioambiental asociado con la generación de residuos de lodos en sistemas tradicionales de tratamiento aerobio y su (habitual) depósito en vertederos. Esto se traduce en un ahorro de 1.15 kg CO<sub>2</sub> equivalente / kg de lodo evitado (indicador calculado después de ser modelado en el software Simapro 8.2 y utilizando la metodología IPCC 2013 GWP 100a).
- Reducir un 100% las pérdidas de nutrientes asociadas con la generación de lodos residuales en los sistemas tradicionales de tratamiento aerobio.

### **Agradecimientos**

Los autores agradecen el apoyo en este trabajo al Programa LIFE bajo la responsabilidad de la Dirección General de Medio Ambiente de la Comisión Europea (proyecto LIFE 16 ENV/ES/000180 - LIFE ALGAECAN).

### **Referencias**

Regulación municipal de descargas y uso del sistema de alcantarillado de Sanchonuño (BOPS N° 82, pág. 49. Julio 2012).

Real Decreto 849/1986, de 11 de abril, por el que se aprueba el Reglamento del Dominio Público Hidráulico.

Informe anterior sobre el proyecto de Decreto por el que se modifica el Anexo III del texto refundido de la Ley de Prevención Ambiental de Castilla y León aprobado por el Decreto Legislativo 1/2015, de 12 de noviembre, en relación con determinadas industrias agroalimentarias de Castilla y León.

Agwa OK et al., 2013. Heterotrophic cultivation of *Chlorella* sp. using different waste extracts. *International Journal of Biochemistry and Biotechnology* 2(3):289.

AlgaeBioGas project, 2014-2016. Eco-Innovation project. Algal bacterial treatment of biogás digestate, recycling CO<sub>2</sub> and mineral nutrients, using excess heat, producing algal products and biogas feedstock; [www.algaebiogas.eu](http://www.algaebiogas.eu)

Bumbak F. et al., 2011. Best practices in heterotrophic high-cell-density microalgal processes: achievements, potential and possible limitations. *Appl Microbiol Biotechnol* 91(1):31.

Bouyam S. et al., 2017. Heterotrophic Production of *Chlorella* sp. TISTR 8990 - Biomass Growth and Composition under Various Production Conditions. *Biotechnology Progress* · June 2017.

Doucha, J. & K. Lívanský, 2011. Production of high-density *Chlorella* culture grown in fermenters. *Journal of Applied Phycology* 24(1):35.

Edmundson S. et al. 2017. Phosphorus and nitrogen recycle following algal bio-crude

production via continuous hydrothermal liquefaction. *Algal Research* 26:415.

Khan et al., 2016. Recent Advances in Microalgal Biotechnology, Chapter: Heterotrophic Growth of Micro Algae. OMICS 2016.

Marti A., 2013. Heterotrophic growth of microalgae *Chlorella protothecoides* for lipid production and their extraction using supercritical CO<sub>2</sub>. Università degli studi di Padova, PhDthesis.

Morales-Sánchez D. et al. 2013. Heterotrophic growth of *Neochloris oleoabundans* using glucose as a carbon source, *Biotechnology for Biofuels* 6:100.

Ramsundar P. et al., 2017. Evaluation of waste activated sludge as a potential nutrient source for cultivation of *Chlorella sorokiniana*, *Algal Research* 28:108.