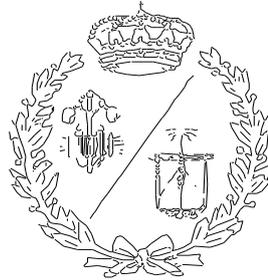


**ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIEROS
INDUSTRIALES Y DE TELECOMUNICACIÓN**

UNIVERSIDAD DE CANTABRIA



Proyecto Fin de Grado

**Postratamiento mediante cultivo de
microalgas del efluente procedente de la
codigestión de estiércol de vacuno con
suero de quesería. Análisis estadístico.**

**(Postreatment by microalgae culture of
the effluent from cowmanure with
cheesewhey co-digestion. Statistical
analysis)**

Para acceder al Título de

**GRADUADO EN INGENIERÍA EN TECNOLOGÍAS
INDUSTRIALES**

**Autor: Álvaro Torre Torre
Septiembre-2013**

TÍTULO	Postratamiento mediante cultivo de microalgas del efluente procedente de la codigestión de estiércol de vacuno con suero de quesería. Análisis estadístico.		
AUTOR	<i>Álvaro Torre Torre</i>		
DIRECTOR / PONENTE	<i>Dr. José Luis Rico Gutiérrez</i>		
TITULACIÓN	<i>Grado en Ingeniería en Tecnologías Industriales</i>	FECHA	Septiembre 2014

PLABRAS CLAVE

Microalgas, Fósforo, Nitrógeno, Carbono inorgánico, fotosíntesis, nitritos, efluente, reactor batch, Sólidos suspendidos volátiles, fracción líquida, suero, análisis estadístico.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El objetivo del estudio es la realización de un análisis estadístico mediante un diseño de experimentos realizado por el programa statgraphics 4.0 para analizar la influencia de la concentración inicial de inóculo (microalgas) y el % de efluente de un reactor UASB compuesto por fracción líquida de estiércol y suero de quesería en el aumento en el aumento en la concentración de inóculo (microalgas).

DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO

La alimentación sufrió un proceso de eliminación de sólidos en suspensión. Este proceso comienza con un tamizado. Después el estiércol se somete a un proceso de coagulación, floculación, para separar los sólidos más finos, con un tamaño superior a las 0.25 micras, de la fracción líquida. El FLTF resultante es introducido en el reactor UASB donde es utilizado como alimentación para eliminar materia biodegradable. Se le realizó un proceso de stripping para reducir la concentración de nitrógeno amoniacal a valores asimilables por las microalgas.

Con la fracción líquida se procedió a realizar un análisis estadístico de las variables, concentración inicial de microalgas y porcentaje de fracción líquida tamizada floculada con suero y digerida (FLTFSD) , para ver cual de ellas influye en mayor o menor medida en el crecimiento de las microalgas y por lo tanto en la asimilización de nutrientes. El análisis estadístico se llevó a cabo con el programa statgraphics 4.0. Se introdujeron valores límite para la concentración inicial de inóculo y para el porcentaje de FLTFSD de 10 y 30 mg/L y de 20 y 50 % respectivamente. El programa nos dio como resultado un diseño de experimentos en forma de estrella en el que había 10 muestras dos de ellas centrales. El experimento duró 21 días recojiéndose 6 muestras cada una de ellas cada 3-4 días y analizándose en todas ellas el pH, el carbono orgánico (CO), el carbono inorgánico (CI), el carbono total (CT), nitritos (NO₂⁻), nitratos (NO₃⁻), nitrógeno amoniacal (N-NH₄⁺) y SS del inóculo. El se corregía siempre que fuera superior a 8. El carbono inorgánico, el carbono orgánico, el carbono orgánico, los nitratos y los nitritos fueron analizados en el centro de investigación del medio ambiente (CIMA) del gobierno de Cantabria, el nitrógeno amoniacal fue analizado mediante un electrodo selectivo de amonio y los SS de las microalgas fueron medidos mediante filtración y secado. También se midió el fósforo aunque solo el inicial y el final. Todos los datos se metieron en el diseño de experimentos y el programa nos dió las respuestas de las variables que influyeron en el crecimiento de las microalgas.

CONCLUSIONES / PRESUPUESTO

En cuanto a la concentración de N-NH₄⁺ no se observaron diferencias en las muestras ya que en todas ellas se redujo su valor hasta prácticamente cero.

Las concentraciones finales de nitritos y nitratos tuvieron unos valores entre 0.01 y 12.4 ppm, y 0.01 y 18.1 ppm respectivamente. En la mitad del periodo de ensayo su obtuvieron los valores máximos quedando éstos entre 0.87 y 28.6 ppm, y 0.87 y 42.3 ppm respectivamente, estando los valores más bajos en las muestras con un menor porcentaje de FLTFSD inicial (5, 8 y 10) y por lo tanto menor concentración de nitrógeno amoniacal, y

los valores más altos en las muestras con un mayor porcentaje de FLTFSD inicial (1, 2 y 3) y por lo tanto mayor concentración de nitrógeno amoniacal.

Las concentraciones finales de nitritos y nitratos tuvieron unos valores entre 0.01 y 12.4 ppm, y 0.01 y 18.1 ppm respectivamente. En la mitad del periodo de ensayo su obtuvieron los valores máximos quedando éstos entre 0.87 y 28.6 ppm, y 0.87 y 42.3 ppm respectivamente, estando los valores más bajos en las muestras con un menor porcentaje de FLTFSD inicial (5, 8 y 10) y por lo tanto menor concentración de nitrógeno amoniacal, y los valores más altos en las muestras con un mayor porcentaje de FLTFSD inicial (1, 2 y 3) y por lo tanto mayor concentración de nitrógeno amoniacal.

La concentración del carbono inorgánico descendió rápidamente debido al consumo por parte de las microalgas para su crecimiento. La única producción de CO₂ y por lo tanto de CI se debe a la respiración de las microalgas.

Al ser un ensayo en batch y haber mantenido las muestras cerradas e iluminadas 24 horas al día durante el periodo de estudio, la función fotosintética, consumidora de CO₂, predominó sobre la respiración de las microalgas, productora de CO₂, provocando el descenso de la concentración de CI.

En las muestras con menor concentración inicial de CI (5, 8 y 10) ésta se redujo hasta un valor final prácticamente despreciable. En las muestras con mayor concentración inicial de carbono inorgánico (1, 2 y 3) ésta disminuyó hasta un valor final medio de 60±9 ppm. Las muestras centrales vieron reducida su concentración hasta valores similares a los anteriores.

El pH estuvo entre valores de 9 y 11 durante todo el ensayo para todas las muestras. El pH aumentó debido al consumo de CO₂ por las microalgas alcanzándose los valores máximos al final del estudio cuando el NH₄⁺ era menor de 20 ppm, salvo en el caso de las muestras centrales donde el pH final fue de 7.7 esto fue debido al descenso en la concentración de microalgas y por lo tanto el descenso en el consumo de CO₂ por parte de éstas. El ascenso de pH no produjo ningún efecto tóxico sobre las microalgas por la baja concentración de N-NH₄⁺, en niveles por debajo de la inhibición de NH₃.

En las muestras con menor concentración inicial de N-NH₄⁺ en la alimentación 5, 8 y 10, las microalgas crecieron hasta valores de 240, 319 y 341mg SS, respectivamente. En las muestras con mayor concentración inicial de N-NH₄⁺ 1, 2 y 3 en la alimentación, las microalgas crecieron hasta un valor de 428, 453 y 517mg SSV, respectivamente. En las muestras centrales 4 y 9 la concentración en SS alcanzó un valor final de 209 y 193 mg SS.

En cuanto al análisis estadístico los resultados dados por el programa nos indicaron que sólo la concentración inicial al cuadrado del inóculo afecta significativamente al proceso ya que fue el único que obtuvo un valor de p-value menor a 0.05 siendo éste exactamente de 0.011.

El modelo estimado viene dado por la ecuación :

$$\text{mgSSL1} = 1874,65 - 93,4354 * \text{mgSSL} - 37,2672 * \% \text{FLTFCD} + 1,71607 * \text{mgSSL}^2 + 0,58995 * \text{mgSSL} * \% \text{FLTFCD} + 0,399453 * \% \text{FLTFCD}^2$$

BIBLIOGRAFÍA

ESPAÑA.1996. Real Decreto 261/1996, de 16 de febrero, sobre protección de las aguas contra la contaminación producida por los nitratos procedentes de fuentes agrarias. *Boletín Oficial del Estado*. 11 de marzo de 1996, 61, pp. 9734-9737.

MUÑOZ RAÚL, et al, 2009. Long-term operation of high rate algae ponds Q6 for the bioremediation of piggery wastewaters at high loading rates.

MUÑOZ RAÚL, GUIEYSSE BENOIT, 2006. Algal-bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: A review.

MUÑOZ NOELIA, 2010. Evolution of characteristics of dairy cowmanure in a controlled dung pit at 20 and 35°C.

TORRE TORRE, ÁLVARO. Proyecto fin de carrera 'Postratamiento de la fracción líquida de estiércol de vacuno digerido mediante cultivo de microalgas'.

Índice general

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL.....	3
ÍNDICE DE TABLAS	6
ÍNDICE DE FIGURAS.....	7
1. Introducción y objetivos.....	9
1.1 Introducción	9
1.2 Objetivos	10
1.3 Antecedentes	10
2 Residuos ganaderos.....	11
2.1 Caracterización de los residuos ganaderos.....	11
2.1.1 Volumen y composición	11
2.1.2 Comparación entre la composición de los fangos de aguas residuales y el estiércol animal	17
2.2 Efectos ambientales de los residuos ganaderos.....	18
2.2.1 Problemas planteados en los suelos y las aguas.....	18
2.2.1.1 Exceso de minerales.....	20
2.2.1.2 Aporte de nitrógeno	20
2.2.1.3 Formas del nitrógeno y contaminación que causan.....	22
2.2.1.4 Aporte de fósforo	23
2.2.1.5 Aporte de potasio	24
2.2.1.6 Aporte de metales	25
2.2.1.7 Transmisión de enfermedades o parásitos	25
2.2.2 Problemas planteados en la atmósfera	26
2.2.2.1 Efectos ecológicos del amoníaco.....	26
2.2.2.2 Efectos ecológicos del dióxido de carbono.....	28
3 SUERO DE QUESERÍA.....	30
3.1 ELABORACIÓN DEL QUESO	30
3.1.1 FORMACIÓN DE LA CUAJADA	31
3.1.2 DESUERADO DE LA CUAJADA	31
3.1.3 MADURACIÓN DEL SUERO	32
3.2 CARACTERIZACIÓN DEL SUERO DE QUESERÍA.....	32
3.2.1 PRODUCCIÓN DIARIA DE QUESO Y DE SUERO EN CANTABRIA	34
3.2.1.1 Volumen de suero generado en Cantabria diariamente	34
3.2.2 TIPO DE SUERO GENERADO EN CANTABRIA.....	35
3.3 RECUPERACIÓN DE LOS COMPUESTOS PROTEICOS DEL LACTOSUERO	36
3.3.1 DESMINERALIZACIÓN.....	37
3.3.1.1 Electrodiálisis.....	37
3.3.1.2 Ósmosis inversa	37
3.3.2 CONCENTRACIÓN Y DESHIDRATACIÓN DEL LACTOSUERO.....	38
3.3.3 DESPROTEINIZACIÓN	39
3.3.3.1 Gel filtración (GF)	39
3.3.3.2 Ultrafiltración (U).....	40
3.3.4 EXTRACCIÓN DE LA LACTOSA.....	40
3.3.5 PRODUCCIÓN DE LEVADURAS	41
3.3.6 FERMENTACIÓN DEL LACTOSUERO	42

Índice general

3.3.6.1	Fermentación láctica.....	42
3.3.6.2	Fermentación alcohólica.....	42
3.3.7	TRATAMIENTOS DE LAS AGUAS RESIDUALES DE LAS INDUSTRIAS LÁCTICAS.....	42
3.3.8	TRATAMIENTOS FÍSICOS.....	43
3.3.8.1	Filtración.....	43
3.3.8.2	Decantación.....	43
3.3.8.3	Aireación.....	44
3.3.9	TRATAMIENTOS QUÍMICOS.....	44
3.3.9.1	Floculación química.....	44
3.3.10	TRATAMIENTOS BIOLÓGICOS.....	45
3.3.10.1	Tratamientos biológicos naturales.....	45
3.3.10.2	Tratamientos biológicos.....	45
3.4	GESTIÓN ACTUAL DEL SUERO EN LAS QUESERÍAS DE CANTABRIA.....	49
3.4.1	EQUIPAMIENTO ACTUAL DE LAS QUESERÍAS PARA EL MANEJO.....	50
3.4.2	POSIBLES SOLUCIONES A LA GESTIÓN DEL SUERO.....	50
4	Algas.....	52
4.1	Composición.....	52
4.2	Tipos de algas.....	53
4.3	Interacciones algas-bacterias.....	61
4.4	Problemas medioambientales.....	65
4.4.1	Problemas de las microalgas en los ambientes acuáticos.....	65
4.4.2	Beneficios de las microalgas en los ambientes acuáticos.....	66
5	Metodología.....	70
5.1	Instalación experimental.....	70
5.1.1	Reactor Batch.....	70
5.1.2	Fotobiorreactor.....	70
5.1.3	Método de extracción de muestras.....	72
5.2	Las técnicas analíticas.....	72
5.2.1	pH.....	72
5.2.2	N-NH ₄ ⁺	73
5.2.3	Fósforo.....	73
5.2.4	Nitritos, Nitratos y CT, CI, COT.....	75
5.2.5	Sólidos suspendidos (SS).....	75
6	Cálculos y resultados.....	78
6.1	Caracterización de la alimentación.....	78
6.2	Diseño estadístico de experimentos.....	80
6.3	Ensayo.....	81
6.4	Análisis de Resultados.....	88
6.4.1	Evolución del Carbono Inorgánico en las muestras durante el ensayo.....	88
6.4.2	Evolución de la concentración de NO ₃ ⁻ y NO ₂ ⁻ en las muestras durante el ensayo.....	91
6.4.3	Evolución en la concentración de N-NH ₄ ⁺ en las muestras durante el ensayo.....	93
6.4.4	Evolución de los Sólidos Suspendidos en las muestras durante el ensayo.....	96
7	Conclusiones.....	99
7.1	Tratamientos previos del sustrato.....	99

Índice general

7.2	Postratamiento en cultivo de microalgas.....	99
7.2.1	Interpretación Cuantitativa de los resultados	99
7.2.2	Interpretación del análisis estadístico mediante diseño de experimentos.	101
8	Bibliografía	104
9	Anexos.....	106
9.1	Nomenclatura	106
9.2	Recta de calibrado del fósforo.....	107

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.1: <i>Peso y producción de excrementos del ganado vacuno</i>	13
Tabla 2.2: <i>Composición del estiércol de vacuno en distintos países (Zeeman, 1991)</i>	13
Tabla 2.3: <i>Composición del estiércol de vacuno en distintos países (Zeeman, 1991)</i>	14
Tabla 2.4: <i>Concentraciones medias de sólidos y nutrientes en estiércol de vacuno (g/l)</i>	14
Tabla 2.5: <i>Composición, en porcentaje del total de sólidos, de las muestras de purines de vacuno (Zeeman, 1991)</i>	15
Tabla 2.6: <i>Producción de residuos en Kg/ unidad ganadera/ año (Turzo, 1998)</i>	15
Tabla 2.7: <i>Contenido de nutrientes de estiércol y purines frescos no diluidos</i>	16
Tabla 2.8: <i>Composición principal de sólidos y nutrientes en estiércol de vacuno y en fangos de aguas residuales</i>	18
Tabla 3.1 <i>Composición del suero dulce y ácido (%)</i>	33
Tabla 3.2 <i>Producción total de queso y suero en Cantabria</i>	34
Tabla 3.3 <i>Producción total diaria de suero en Cantabria</i>	35
Tabla 3.4 <i>Volumen de suero generado en Cantabria en función del tipo de coagulación</i>	35
Tabla 3.5 <i>Gestión del suero en las queserías de Cantabria</i>	49
Tabla 3.6 <i>Nivel de equipamiento de las queserías</i>	50
Tabla 4.1: <i>Tipos se interacciones bacteria-microalga descritas en la literatura</i>	63
Tabla 6.1: <i>Características del Afluente, Efluente y condiciones operación reactor UASB</i>	79
Tabla 6.2: <i>Concentraciones de N-NH₄⁺ y el P en cada muestra</i>	81
Tabla 6.3: <i>Cantidades de la alimentación en los reactores batch</i>	83
Tabla 6.4: <i>Evolución del pH de las muestras durante el transcurso del ensayo</i>	84
Tabla 6.5: <i>Evolución del N-NH₄⁺ (mg/L) durante el transcurso del ensayo</i>	84
Tabla 6.6: <i>Valores de los SS medidos por flitración durante el transcurso del ensayo</i>	85
Tabla 6.7: <i>Evolución del CT durante el transcurso del ensayo</i>	85
Tabla 6.8: <i>Evolución del CI durante el transcurso del ensayo</i>	86
Tabla 6.9: <i>Evolución del CO durante el transcurso del ensayo</i>	86
Tabla 6.10: <i>Evolución del N-NO₂⁻ durante el transcurso del ensayo</i>	86
Tabla 6.11: <i>Evolución del N-NO₃⁻ durante el transcurso del ensayo</i>	87
Tabla 6.12: <i>Valores Iniciales y finales del fósforo</i>	87
Tabla 6.13: <i>Valores iniciales y finales de los SS en las microalgas</i>	87
Tabla 9.1: <i>Valores recta calibrado fósforo</i>	108

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1: Principio de la oxigenación fotosintética	10
Figura 2.1: Flujo de fertilizantes en una explotación agraria (Turzo, 1998)	19
Figura 2.2: Ciclo del nitrógeno (Kiely, 1999)	21
Figura 4.1: Estromatolitos en sharkbay, Australia (Taringa.net)	54
Figura 4.2: Algas verdes, cyanophyta (elacuario.org)	55
Figura 4.3: Alga roja (eol.org)	56
Figura 4.4: chlorophyta adherida a las rocas (eol.org)	57
Figura 4.5: algas pardas (evemartinencohotmailcom.blogspot.com)	59
Figura 4.6: Diatomea (servicios2.marm.es)	60
Figura 4.7: Ejemplo de marea roja (el—plancton.blogspot.com)	61
Figura 5.1: Reactores batch	70
Figura 5.2: Fotobiorreactor	71
Figura 5.3: Reactores batch con la muestra y el agitador magnético de fondo	71
Figura 5.4: micropH 2002 CRISON y electrodo pH INGOLD	72
Figura 5.5: Thermo Scientific Orion DUAL STAR™ pH/ISE Meter y un electrodo selectivo	73
Figura 5.6: espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 25	75
Figura 5.7: Estufa P-selecta	76
Figura 5.8: Mufla HerónHK-11	76
Figura 6.1: Esquema del proceso de pulido del estiércol para ser alimentación de las microalgas	78
Figura 6.2: Representación condiciones diseño	80
Figura 6.3: Ejemplo de dos muestras en los reactores batch	82
Figura 6.4: Muestras del ensayo en el fotobiorreactor	82
Figura 6.5: Evolución de la concentración de CI para muestras con 10 mg SS/inicial	88
Figura 6.6: Evolución de la concentración de CI para para muestras con 20 mg SS/inicial	88
Figura 6.7: Evolución de la concentración de CI para muestras con 30 mg SS/inicial	89
Figura 6.8: Evolución de la concentración de CI para muestras con 20 % FLTFSD inicial	¡Error! Marcador no definido.
Figura 6.9: Evolución de la concentración de CI para muestras con 35 % FLTFSD inicial	90
Figura 6.10: Evolución de la concentración de CI para muestras con 50 % FLTFSD inicial	90
Figura 6.11; Evolución de la concentración de NO ₂ ⁻ y NO ₃ ⁻ para muestras con 20 % FLTFSD inicial	91
Figura 6.12: Evolución de la concentración de NO ₂ ⁻ y NO ₃ ⁻ para muestras con 35 % FLTFSD inicial	91
Figura 6.13: Evolución de la concentración de NO ₂ ⁻ y NO ₃ ⁻ para muestras con 50 % FLTFSD inicial	91
Figura 6.14: Evolución de la concentración de NO ₂ ⁻ y NO ₃ ⁻ para muestras con 10 mg SS/inicial	92
Figura 6.15: Evolución de la concentración de NO ₂ ⁻ y NO ₃ ⁻ para muestras con 20 mg SS/inicial	92

Índice general

Figura 6.16: Evolución de la concentración de NO_2^- y NO_3^- para muestras con 30 mg SS/inicial.....	92
Figura 6.17: Evolución de la concentración de N-NH_4^+ para muestras con 10 mg SS/inicial.....	93
Figura 6.18: Evolución de la concentración de N-NH_4^+ para muestras con 20 mg SS/L inicial.....	93
Figura 6.19: Evolución de la concentración de N-NH_4^+ para muestras con 30 mg SS/L inicial.....	94
Figura 6.20: Evolución de la concentración de N-NH_4^+ para muestras con 20 % FLTFSD inicial.....	94
Figura 6.21: Evolución de la concentración de N-NH_4^+ para muestras con 35 % FLTFSD inicial.....	95
Figura 6.22: Evolución de la concentración de N-NH_4^+ para muestras con 50 % FLTFSD inicial.....	95
Figura 6.23: Evolución de la concentración SS del inóculo para muestras con 20 % FLTFSD inicial.....	96
Figura 6.24: Evolución de la concentración SS del inóculo para muestras con 35 % FLTFSD inicial.....	96
Figura 6.25: Evolución de la concentración SS del inóculo para muestras con 50 % FLTFSD inicial.....	96
Figura 6.26: Evolución de la concentración de las microalgas para muestras con 10 mg SS/inicial.....	97
Figura 6.27: Evolución de la concentración de las microalgas para muestras con 20 mg SS/inicial.....	97
Figura 6.28: Evolución de la concentración de las microalgas para muestras con 30 mg SS/inicial.....	97
Figura 7.1: Análisis de la varianza en el aumento en la concentración del inóculo.....	102
Figura 7.2: Diagrama de Pareto para el aumento en la concentración del inóculo.....	102
Figura 7.3: Efecto de las concentraciones iniciales en el crecimiento del inóculo.....	103
Figura 9.1: Recta de calibrado del fósforo.....	109

1. Introducción y objetivos

1.1 Introducción

La masificación de las ciudades y el aumento de la industria provoca un mayor caudal de aguas residuales a tratar, para ello necesitamos mejorar los procesos de eliminación de contaminantes. En nuestro caso se utiliza un efluente de la industria ganadera. La industria ganadera está en un proceso de concentración, es decir, está concentrándose en grandes granjas en vez de en pequeñas granjas, lo que conlleva también el aumento de residuos ganaderos a tratar. Estas grandes explotaciones animales generan una gran cantidad de residuos que necesitan ser tratados antes de su vertido. Actualmente el vertido de residuos ganaderos está regulado por ley, por lo que hay que vigilar los vertidos. Estos efluentes tienen una alta concentración de nutrientes lo cual impide su vertido directo porque es imposible la total asimilación de los nutrientes por el suelo, o generando un exceso de nutrientes en el agua provocando un exceso de nutrientes y por lo tanto contaminando. Debido a esto ha sido necesaria una evolución de los procesos para el tratamiento de los efluentes de los diferentes tipos de ganado tanto medioambientalmente como económicamente. Normalmente los métodos aeróbicos convencionales para tratar estos efluentes necesitan un consumo de energía muy alto para poder suministrar O_2 , así como la imposibilidad del reciclado de nutrientes valiosos. Por otro lado los procesos anaeróbicos que podemos utilizar requieren de temperaturas más altas que las que podemos encontrar en Europa, además de que reducen pobremente los niveles de nitrógeno y fósforo. Debido a todo esto la aplicación de un sistema algas-bacterias proporciona una gran alternativa. Si seguimos el ciclo de la aireación fotosintética las algas proporcionan O_2 a través de la fotosíntesis y la biomasa de algas-bacterias asimila el nitrógeno y el fósforo, es decir, cuando se irradia con luz las microalgas producen O_2 que utilizan las bacterias aeróbicas, a su vez las microalgas consumen el CO_2 liberado por las bacterias reduciendo las emisiones de CO_2 .

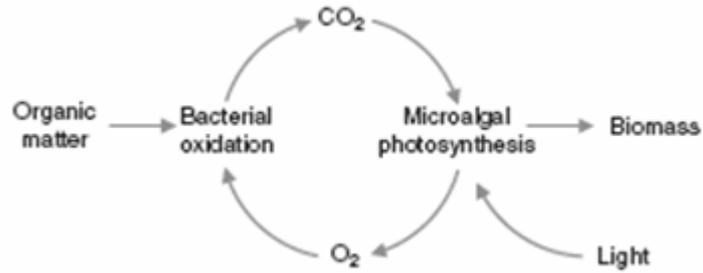


Figura 1.1: Principio de la oxigenación fotosintética

1.2 Objetivos

El objetivo de este proyecto fin de grado es la realización de un análisis estadístico de las variables que influyen en la eliminación del Cl, del NH_4^+ , y del PO_4^{-3} , de la fracción líquida del estiércol de ganado vacuno lechero mezclado con suero de quesería pretratado, en ensayos en Batch utilizando microalgas del tipo *Chlorella sorokiniana*.

1.3 Antecedentes

La fracción líquida del estiércol contiene una masa muy alta en cuanto a Cl, NH_4^+ y PO_4^{-3} . Debido a esto se requiere hacer unos pretratamientos para reducir sobre todo la cantidad de NH_4^+ , ya que en la fracción líquida del estiércol de ganado vacuno lechero está en mayor concentración que el fósforo aunque ambos tienen limitaciones en su vertido.

La alimentación proviene de un reactor UASB de metanización que operó con un THR de 1.3 días en el que tenía lugar una codigestión de suero de quesería y FLTFC en una relación de 60% de suero y 40% FLTFC. La alimentación de las algas sufrió un proceso de refinamiento, eliminando nitrógeno mediante stripping. Las microalgas utilizadas son del tipo *Chlorella sorokiniana*, éstas provienen de un cultivo realizado a propósito de este ensayo.

2 Residuos ganaderos

2.1 Caracterización de los residuos ganaderos

A partir de la década de los setenta se inicia una profunda crisis en la agricultura, como consecuencia de la pérdida de mano de obra que trajo consigo la emigración del campo a la ciudad. Como consecuencia se dejó de elaborar el estiércol de forma tradicional, con base en la cama vegetal que se cortaba en el monte, debido al alto número de horas de trabajo que suponía. Además de esto, otros factores han influido de forma significativa a que el estiércol pase a ser más fluido, como el sistema de alimentación del ganado y de los sistemas de eliminación de los residuos (adición de agua). Actualmente se puede decir que la tendencia de las explotaciones es hacia la gestión de purines.

2.1.1 Volumen y composición

El volumen y composición de los purines de vacuno dependen de diferentes factores, tales como:

- Tipo de ganado: La composición del abono depende de muchos factores como por ejemplo del tipo de animal que lo produce, de su alimentación, de su estado de producción y reproducción, del sistema de recolección y del almacenamiento. Esto origina diferencias en la composición del estiércol, que tendrán su importancia en la digestión anaerobia.
- Tipo de alimentación: gran cantidad de concentrados o alimentación fundamentada en forrajes.
- Tipo de establo: Estabulación fija o libre.
- Sistema de recogida: Parrilla, arrobadera para estiércol, etc.
- Diseño y construcción de la fosa de purines: Estanca a filtraciones y aportes de aguas externas a las generadas en el establo por el ganado (Ej.: lluvias, etc.).
- Pastoreo y recreo de los animales: si existe y durante cuantas horas están los animales fuera del establo. (*Elena Marañón, 2000*).

Residuos ganaderos

La adición de agua al estiércol, es una práctica muy extendida en las granjas de animales, reduciendo su poder fertilizante y aumentando el volumen de estiércol a recoger y almacenar, por lo que aumentan también los costes de tratamiento.

En cuanto a su composición influyen mucho los aditivos que se añaden a los alimentos con el fin de estimular la producción de leche y carne. Estos aditivos modifican el carácter de los abonos y son productos difícilmente biodegradables, especialmente sus metabolitos.

Si se analiza el purín desde el punto de vista de la utilización del mismo como fertilizante, se puede decir que se trata de un residuo con abundante cantidad de materia orgánica (MO), más del 50% de la materia seca, siendo el nitrógeno el principal elemento que contiene, encontrándose fundamentalmente en forma amoniacal y en menor proporción, en forma orgánica. El purín de vacuno es también rico en potasio. El calcio es el tercer elemento en importancia en la composición de los purines de vacuno, después del nitrógeno y del potasio. Es un elemento que presenta interés para los suelos ácidos en su forma combinada de óxido, hidróxido, carbonato, sulfato, etc., por su acción fertilizante o alcalinizante.

Con respecto a su contenido en metales pesados, el elemento que se encuentra en mayor proporción es el hierro, siguiéndole en importancia el manganeso, cinc y cobre. Estos componentes, que pueden tener un efecto beneficioso sobre el terreno (a excepción de algunos metales pesados), se pueden convertir en peligrosos cuando se excede la capacidad de absorción de nutrientes, o bien se riega con purines en tiempo lluvioso o en terrenos con mucha pendiente, produciéndose escorrentías que pueden contaminar los cursos de agua. (*Elena Marañón, 2000*).

Se ha estimado que un animal produce diariamente entre un 6% y un 12% de su peso vivo en residuos fecales. En la siguiente tabla se especifica el estiércol producido diariamente por diferentes animales según su peso aproximado:

Residuos ganaderos

Tabla 2.1: *Peso y producción de excrementos del ganado vacuno*

TIPO DE GANADO	PESO APROXIMADO DEL ANIMAL (Kg.)	PRODUCCIÓN MEDIA DE ESTIÉRCOL
Terneros de hasta 2 meses	73	5,0
Terneros de hasta 6 meses	140	7,5
Terneros de hasta 12 meses	270	15,0
Terneros de hasta 18 meses	380	20,0
Terneros de hasta 24 meses	400	27,0
Vaca lechera	500	41,0

Los residuos ganaderos son clasificados en el código de Buenas Prácticas Agrarias del Gobierno de la Comunidad Autónoma de Cantabria (BOC 2.4.97), en función de la mezcla de que se trate de esta forma:

- Estiércol: los residuos excretados por el ganado o las mezclas de desechos y residuos excretados por el ganado, incluso transformados.
- Purines: son las deyecciones líquidas excretadas por el ganado.
- Lisier: abono producido por ganado vacuno o porcino en alojamientos que no usan mucha paja u otro material para cama. El lisier puede oscilar entre un semisólido con el 12% de materia sólida o un líquido con el 3-4% de materia sólida.

Algunas de las composiciones típicas de estiércoles de diversos ganados son las siguientes:

Tabla 2.2: *Composición del estiércol de vacuno en distintos países (Zeeman, 1991)*

%	VACA	CERDO	POLLO
Mat.Seca (%)	17,5	26,1	26,9
Ceniza (%)	4,6	5,8	8,7
Mat.Orgánica (%)	12,9	20,3	18,2
DQO (%)	7	10,4	8,0

Hay que destacar el contenido en nutrientes. Las principales características de los purines de ganado vacuno están recogidas en las siguientes tablas:

Residuos ganaderos

Tabla 2.3: Composición del estiércol de vacuno en distintos países (Zeeman, 1991)

PAIS	ST(g/l)	SV(g/l)	N total (g/l)	N-NH ₄ ⁺ (g/l)
HOLANDA				
Meses	77,5-91,8	56,2-80,8	---	2,4-2,9
UK	---	28,1	1,7-2,2	---
USA	88,2	73,6	2,9	0,6
INDIA	85,1	69,8	1,2	---
SUIZA	---	43,7-64,6	1,9-2,8	1,0-1,3
ALEMANIA	85,0	69,6	2,8	0,6

En la Tabla 2.4, se muestra la composición en g/l del estiércol de ganado vacuno entre los que hay que hacer notar los valores medios de 4,4 g NKT/l y 1,8 g P₂O₅/l.

Tabla 2.4: Concentraciones medias de sólidos y nutrientes en estiércol de vacuno (g/l)
(Zeeman, 1991)

ST	SV	NKT	P ₂ O ₅	K ₂ O	CaO	MgO	Na ₂ O	Cl ⁻	SO ₃
95	75	4,4	1,8	5,5	2,1	1	1	3	1,8

En la Tabla 2.5, se muestra la composición en porcentaje en sólidos de los componentes fundamentales del estiércol, los datos están recogidos de Zeeman (1991). Se puede comprobar que la operación tamizado lo que hace fundamentalmente es eliminar celulosa y hemicelulosa.

En la Tabla 2.6, se presenta la producción anual de nutrientes por unidad de ganado vacuno, porcino y aviar.

Residuos ganaderos

Tabla 2.5: Composición, en porcentaje del total de sólidos, de las muestras de purines de vacuno (Zeeman, 1991)

Grasa	Proteína	Carbohidrato	Celulosa	Hemice-lulosa	Lignina	Residuo Inorgánico
6,1	13,7	59,9	-	-	-	20,3
6,1	15,0	62,1	-	-	-	16,9
7,5	15,6	-	14,5	19,3	8,2	29,0
3,5	15	-	17,0	19,0	6,8	28,0
4,0	15	-	25,0	20,0	9,0	16,0
5,7	14,8	-	24,2	20,9	13,2	20,7
7,3	18,5	-	6,0	4,7	17,8	28,6

Tabla 2.6: Producción de residuos en Kg/ unidad ganadera/ año (Turzo, 1998)

	NITRÓGENO (N)	FÓSFORO (P ₂ O ₅)	POTASIO (K ₂ O)
BOVINO	89	40	100
PORCINO	11,2	7,5	6,4
AVIAR	0,72	0,75	0,36

El estiércol se almacena habitualmente al aire libre, lo que origina la eliminación de nutrientes principalmente por tres causas: lavado por agua de lluvia, degradación por desgasificación e infiltración de líquido en el suelo.

Las pérdidas según los estudios de algunos investigadores, pueden estimarse en un 20% de nitrógeno, 5% de fósforo y 35% de potasio, durante el período invernal. Cuando los purines se almacenan en depósitos cerrados no habrá pérdidas detectables de fósforo y potasio; el nitrógeno que se pierda lo hará en forma de gas. De esta forma se observa que las pérdidas de nutrientes dependerán del período de almacenamiento, del tipo de tanque y material de construcción y de las condiciones climáticas, sobre todo la temperatura.

Los desechos animales son ricos en materias orgánicas, por ejemplo, en el caso de los bovinos: 4% en los orines y 14% en la bosta, con un 3% de materias minerales en los dos tipos de deyecciones (Frison, 1967), de tal forma que el contenido de materias orgánicas del estiércol licuado es del orden del 6%.

Residuos ganaderos

Tabla 2.7: *Contenido de nutrientes de estiércol y purines frescos no diluidos*

	N (%)	P ₂ O ₅ (%)	K ₂ O (%)	MS (%)
PURINES DE VACUNO	0,5	0,2	0,5	10 - 12
PURINES DE PORCINO	0,6	0,4	0,3	10,0
ESTIÉRCOL DE VACUNO	0,6	0,3	0,7	25,0
ESTIÉRCOL DE PORCINO	0,6	0,6	0,4	25,0

El estiércol licuado de los cerdos presenta contenidos más elevados que los estiércoles licuados de los bovinos en nitrógeno total y amoniacal, P₂O₅ y CaO.

Los resultados de la composición media obtenidos demuestran la existencia de una notable heterogeneidad. Entre los factores de variación, la tasa de dilución es uno de los más importantes, aunque el tipo de animal, su alimentación así como la época del año, también intervienen.

Los efluentes animales tienen, esencialmente, una serie de efectos positivos sobre él si se agregan en dosis adecuadas. El estiércol es un generador importante de humus: el valor nitrogenado, el aporte benéfico del fósforo, de potasio, magnesio, azufre, hierro, manganeso, boro, zinc y cobre, todos ellos elementos esenciales para las plantas, hacen de los residuos animales un recurso precioso. Los elementos indeseables (cadmio, mercurio y arsénico) son aportados únicamente en pequeñas cantidades. Por otra parte, los riesgos de transmisión de enfermedades por las aguas son escasos. El uso de los efluentes de la ganadería desgraciadamente no es fácil, y necesita el acatamiento de una serie de condiciones relativas al momento y al modo de aplicación, la dosis esparcida, el tipo de suelo, la presencia o la ausencia de cultivo y el tipo de cultivo.

2.1.2 Comparación entre la composición de los fangos de aguas residuales y el estiércol animal

La diferencia entre la digestión del estiércol y de los fangos de aguas residuales puede deducirse de las características como afluentes de estos dos tipos de materias primas. Además de la composición química, la concentración en ST y en nutrientes puede diferir considerablemente entre unos y otros. La concentración de nitrógeno amoniacal en el estiércol es mayor que en los fangos de aguas residuales.

El estiércol animal es un sustrato bastante heterogéneo. Contiene una gran cantidad de sólidos de diversos tamaños. Una parte importante de los sólidos totales está constituido, como se ha visto antes, por materiales fibrosos tales como celulosa, hemicelulosa y lignina.

La celulosa y la hemicelulosa son en teoría, degradables anaeróbicamente pero es la estructura de la fibra la que determinará si pueden ser digeridos o no. La lignina se reconoce como anaeróbicamente inerte y limita hasta cierto punto la digestión de los carbohidratos. Se ha encontrado una disminución lineal de la degradación de los ST con el contenido de lignina en varios materiales vegetales y en el estiércol animal.

El abono animal contiene también otros compuestos orgánicos disueltos. Una parte importante de la fracción disuelta, tanto para el estiércol de cerdo como para el de vaca, consiste en material refractario a la depuración biológica anaerobia. La cantidad de orgánicos disueltos refractarios a la depuración biológica en estiércol de vaca es del orden del 15-20% de la DQO afluente. La otra parte de la fracción disuelta está compuesta de ácidos grasos volátiles (AGV). La concentración de AGV varía con el tipo de estiércol y las condiciones de almacenaje. La concentración de AGV en el estiércol de vaca es ligeramente inferior al encontrado en otros estiércoles como el de cerdo. Esto es debido, a que dichos ácidos son digeridos en el estómago del rumiante.

Residuos ganaderos

Tabla 2.8: Composición principal de sólidos y nutrientes en estiércol de vacuno y en fangos de aguas residuales

PARÁMETRO	PURÍN DE VACA	FANGOS DE AGUAS RESIDUALES
<i>ST</i>	95	42,5
<i>SV</i>	75	25,5
<i>NKT</i>	4,4	2,2
<i>P₂O₅</i>	1,8	2,5
<i>K₂O</i>	5,5	0,2
<i>CaO</i>	2,1	3,9
<i>MgO</i>	1	0,3

2.2 Efectos ambientales de los residuos ganaderos

2.2.1 Problemas planteados en los suelos y las aguas

El estiércol tiene una serie de efectos positivos sobre el suelo y las plantas si se agrega en dosis adecuadas, ya que es un importante generador de humus: el valor nitrogenado, el aporte benéfico del fósforo, de potasio, magnesio, azufre, hierro, manganeso, boro, zinc y cobre, todos elementos esenciales para las plantas, hacen de los residuos animales un recurso precioso. Los elementos indeseables (cadmio, mercurio y arsénico) sólo son aportados en pequeñas cantidades.

Las recomendaciones agronómicas han sido desatendidas hasta hace poco en las regiones de cría intensiva, siendo la única restricción al esparcimiento del estiércol la posibilidad de comprometer la producción óptima (evitar el encamado de los cereales, las quemazones de las praderas, etc.). El cultivo de maíz soporta importantes estercoladuras, pero es menos apto para recuperar el nitrógeno del perfil (arraigo menos profundo), lo que causa una grave contaminación de las aguas.

Además, los esparcimientos sobre praderas, incluso inundadas o heladas, son más frecuentes. En consecuencia, aparte de la contaminación de las aguas, se observa una modificación en las características de los suelos.

Residuos ganaderos

La aplicación de los purines de forma incontrolada sobre el medio tiene las siguientes consecuencias:

- Disminución de la producción agronómica.
- Fitotoxicidad del campo (purines de cerdo ricos en cobre).
- Pérdida de nutrientes

La contaminación de las aguas subterráneas y superficiales por parte de los purines procede del almacenamiento en depósitos no adecuados, del abonado de los campos en épocas inadecuadas para el cultivo, transportes deficientes y por la lixiviación de estos residuos. Otra práctica usual y altamente contaminante es el vertido directo en ríos y lagos. Parte de los problemas señalados pueden resolverse realizando un almacenamiento controlado y aplicando el purín en el campo coincidiendo con los periodos de máxima asimilación de nutrientes por parte del cultivo. Los elementos potencialmente contaminantes cuando el purín se aplica de forma incontrolada son el nitrógeno y el fósforo, ya que son los que ocasionan a corto plazo la eutrofización de las aguas.

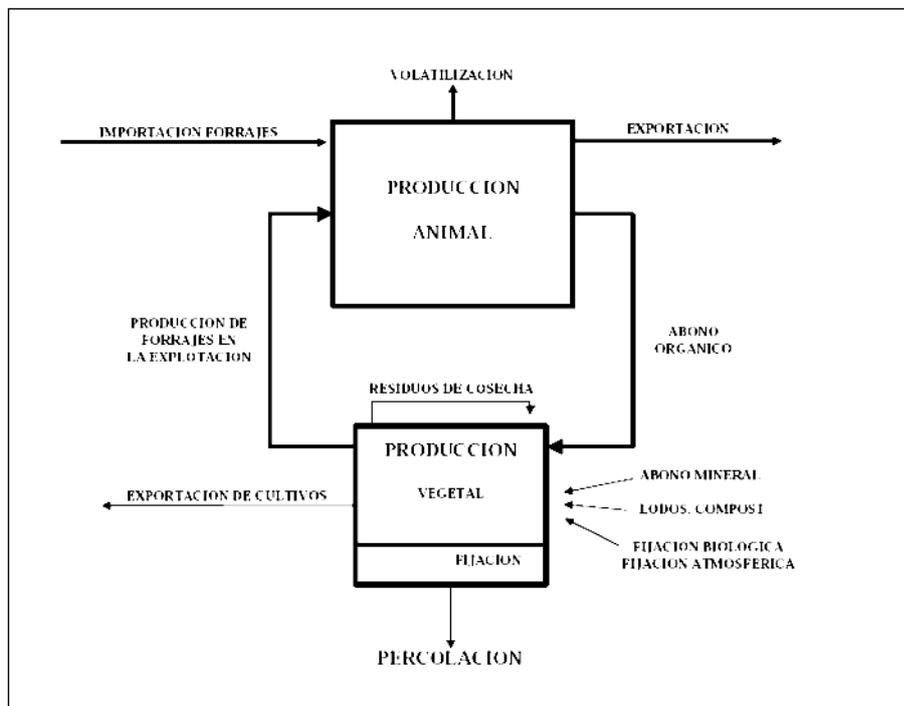


Figura 2.1: Flujo de fertilizantes en una explotación agraria (Turzo, 1998)

2.2.1.1 Exceso de minerales

En la producción animal, los minerales no utilizados acaban en el medio ambiente a través de las deyecciones. Cuando la carga de ganado no es demasiado elevada, el reciclado de los minerales no plantea apenas problemas. Por el contrario, si la carga de ganado es elevada se aportarían minerales en exceso a la explotación, apareciendo un desequilibrio. La intensificación de los prados y de los forrajes, así como el uso de alimentos compuestos, aumenta considerablemente el aporte de minerales, mientras que la exportación por medio de la producción animal (leche, carne) no aumenta proporcionalmente. El excedente de minerales que resulta de ello es en ocasiones muy importante. A esta política se debe poner freno, por una parte reduciendo el empleo de abonos químicos y de alimentos concentrados, y por otra parte, mejorando la reutilización de los minerales de los desechos.

2.2.1.2 Aporte de nitrógeno

El nitrógeno aportado a los suelos mediante los residuos ganaderos y los fertilizantes minerales, incrementa el contenido de este elemento en él. Cuando su contenido es superior a 4 g/Kg de suelo pueden producirse efectos tóxicos.

El nitrógeno se encuentra en el estiércol en forma orgánica o amoniacal. El nitrógeno amoniacal (NH_4^+) es el que puede ser transformado en nitrato (NO_3^-) por los microorganismos nitrificantes presentes en el suelo, produciendo la acidificación del suelo (puede bajar hasta un $\text{pH}=4,0$). Estas dos formas inorgánicas del nitrógeno son las que pueden ser utilizadas por las plantas o los microorganismos para transformarlas en nitrógeno orgánico. En caso de no ser utilizado, el nitrógeno inorgánico permanece en el suelo pudiendo ser arrastrado por lixiviación y acabando en las aguas subterráneas.

La presencia de nitratos en el agua potable representa un peligro y está limitada en la legislación (Directiva 91/676 CEE) a 50 mg/L, y su limitación para vertidos está limitada, por el Real Decreto 509/96, en 15 mg/l N_{total} (de 10000 a 100000) y de 10 mg/l N_{total} (más de 100000 h-e). Cuando el suelo tenga humedad elevada, materia

Residuos ganaderos

orgánica biodegradable y niveles bajos de oxígeno se puede dar el proceso biológico de desnitrificación liberando óxidos de nitrógeno y N_2 .

Del nitrógeno orgánico presente en los residuos ganaderos una parte es de rápida mineralización, durante los primeros doce meses, otra parte es de lenta mineralización con una tasa de 2-3% anual.

Después de varios años de frecuentes aplicaciones de estiércol licuado, la eficacia del nitrógeno residual aumenta y, puede llegar a ser equivalente a la del nitrógeno de fácil mineralización, pudiendo generar un exceso de nitrógeno mineralizado.

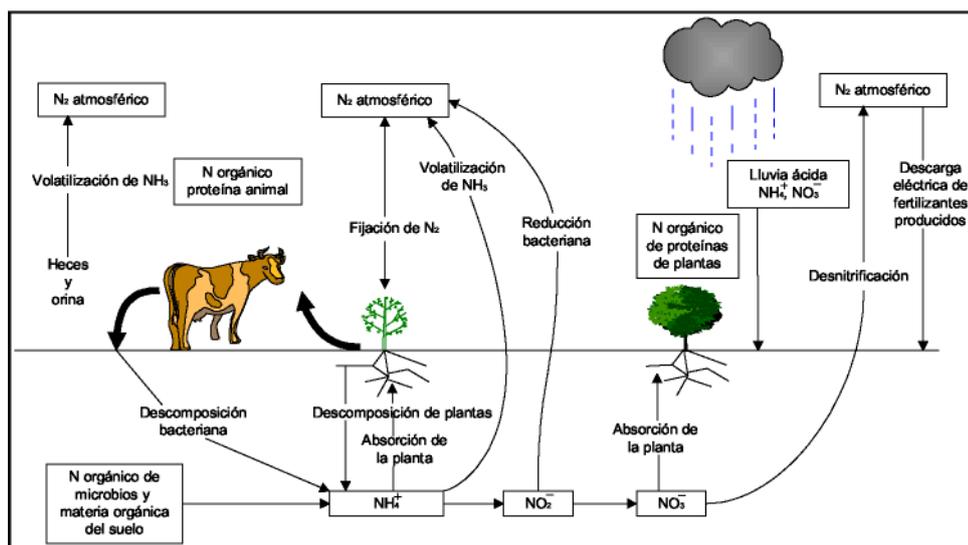


Figura 2.2: Ciclo del nitrógeno (Kiely, 1999)

Las deposiciones de NH_4^+ son transformadas muy rápidamente en NO_3^- por nitrificación, lo cual conlleva la acidificación del suelo. Como consecuencia muchas especies vegetales de características frágiles, desaparecen. Por otro lado, se desarrollan y entran en competencia las especies tolerantes a suelos ácidos. Aquellas especies de crecimiento rápido (nitrófilas) tendrán ventajas sobre las especies de crecimiento lento, pudiendo originar plagas de algunas especies no autóctonas, y fomentar el uso de plaguicidas con consecuencias controvertidas.

En ecosistemas forestales, las deposiciones de cantidades importantes de amonio conllevan una secreción de potasio, magnesio y calcio en solución del suelo. Esto significa, en definitiva, un desequilibrio nutricional para la planta, la cual repercutirá

en la resistencia a flagelos, parásitos, alteraciones de tipo fisiológico y advertencias climáticas.

2.2.1.3 Formas del nitrógeno y contaminación que causan

La contaminación del agua por los compuestos nitrogenados es cada vez más frecuente. Las formas de nitrógeno más frecuentes son el nitrógeno orgánico contenido en los microorganismos o en la materia orgánica, el ión amonio (NH_4^+) que se obtiene al final de la descomposición y sobre todo, el ion nitrato (NO_3^-) que es la forma más oxidada del nitrógeno.

El nitrato es la especie que se encuentra con mayor frecuencia y en cantidades abundantes. También es la forma de nitrógeno que asimilan la mayor parte de los vegetales y es, por tanto, indispensable para su crecimiento. Con lo cual la presencia de un poco de nitrato en el agua permite el desarrollo de las algas por lo que contribuye a la riqueza biológica de las aguas naturales. Sin embargo las concentraciones elevadas, producen un desarrollo anormal de ciertas algas que invaden el curso de ríos, las reservas de agua o las costas marítimas.

El nitrito es particularmente indeseable por sus efectos nocivos para el hombre, pero es inestable y sólo se encuentra en pequeñas cantidades. La CEE ha fijado en 0,1 mg/L de NO_2^- la concentración máxima en el agua distribuida para consumo humano. Ese compuesto, se oxida fácilmente formando nitrato y, por tanto, sólo se encuentra en pequeñas cantidades de manera esporádica.

Los nitratos en el agua son siempre indeseables. Hasta hace relativamente pocos años el abastecimiento de agua para uso humano en España se realizaba en un 60% con aguas superficiales; actualmente cada vez es más frecuente utilizar en mayor proporción las aguas subterráneas. Por esta razón la contaminación de esta agua con nitratos constituye un serio y preocupante problema.

La Directiva comunitaria 91/676, relativa a la contaminación por nitratos de las masas de agua, provenientes de fuentes difusas, fundamentalmente agrarias (fertilizantes minerales y orgánicos o ganaderos) limita el aporte de nitrógeno a 170 Kg NKT/Ha/año.

Residuos ganaderos

Las formas orgánicas del nitrógeno (proteínas, aminoácidos, urea, ácido úrico, etc.) presentes en forma de coloides o de partículas transportadas por el agua, consumen al degradarse, el oxígeno necesario para la vida acuática. El amonio presente en forma disuelta es un compuesto particularmente tóxico para los peces. Numerosos casos de mortalidad masiva de peces son debidos a la presencia de este ión en cantidad excesiva en el agua. En lo que contiene al agua destinada al consumo humano, la Comunidad Económica Europea ha fijado en 0,5 mg/l la concentración máxima de amonio en el agua distribuida.

2.2.1.4 Aporte de fósforo

El fósforo se encuentra fundamentalmente en la fracción sólida. Los fosfatos tienen una reducida movilidad en el suelo y las pérdidas son, en general, casi nulas. Si se alcanzase la saturación, puede sobrevenir la emigración de los fosfatos en profundidad, causando la eutrofización de las aguas superficiales y subterráneas.

En las condiciones normales de esparcimiento, se puede considerar el aporte de fósforo como equivalente al de un abono mineral. La dosis a aplicar debiera estar en 125 kg P₂O₅/Ha/año.

La eutrofización, desarrollo excesivo de las algas o de las plantas acuáticas, es cada vez mayor, trayendo consecuencias perjudiciales. Para evitar la eutrofización el Real Decreto 509/96 fija la concentración de fósforo en vertido en 2 mg/L P (de 10000 a 100000 h-e) y en 1 mg/L P (más de 100000 h-e).

En las costas, las mareas verdes son el resultado del desarrollo de las algas, en particular las ulvas, que se amontonan, mueren y se pudren liberando malos olores y aportando una carga de contaminación orgánica al mar.

En el agua dulce, el crecimiento excesivo de las poblaciones de algas consume el oxígeno disuelto, a veces hasta el agotamiento de las reservas, provocando la muerte por asfixia de la fauna y de la flora con gran perjuicio para los pescadores. Las toxinas emitidas por ciertas cianofíceas, que a veces se desarrollan anormalmente, pueden matar mariscos y peces o hacerlos tóxicos para el consumo humano. Esto

Residuos ganaderos

trae como consecuencia la disminución de los criaderos explotados por los pescadores y la destrucción de explotaciones conchíferas o piscícolas.

El desarrollo de las algas provoca también la obturación de los filtros en las estaciones de tratamiento del agua y además suelen dar un sabor desagradable al agua y emiten sustancias tóxicas para el consumidor. Las medidas de eliminación son limitadas, caras y peligrosas, por lo que parece preferible investigar medios preventivos que impidan el desarrollo anormal de las algas.

Las algas se desarrollan cuando encuentran, simultáneamente, todos los factores favorables: temperatura benigna, sol y agua rica en nutrientes, en particular nitrógeno y fósforo. Estos nutrientes provienen de diversos orígenes, pero centrados en las deyecciones emitidas por los animales, que contienen fósforo y pueden discurrir hacia cursos de agua, sea cuando los animales van a beber, sea porque la lluvia arrastra las deyecciones depositadas en el pasto o en el centro de la explotación, incluso cuando las deposiciones directas, una zanja no hermética o que se desborda, conducen a las deyecciones a un curso del agua. La erosión de las tierras enriquecidas con fósforo por medio de los abonos también contribuye a este transporte de fósforo hacia el agua.

2.2.1.5 Aporte de potasio

El potasio se encuentra, sobre todo, en la fracción líquida del estiércol, en forma inorgánica. Si no es absorbido por el humus o por las partículas de arcilla o asimilado de plantas, permanece en solución y puede ser lixiviado. Ese es, particularmente, el caso de suelo ligero. El contenido de potasio de la hierba de las praderas aumenta con la aplicación del estiércol licuado de los bovinos, de los cerdos o de las aves de corral, siendo su utilización tan buena como la del potasio procedente de los abonos minerales.

2.2.1.6 Aporte de metales

Las sales metálicas tienen, por su naturaleza, una elevada toxicidad que a largo plazo podría generar un fuerte deterioro del suelo. Esa toxicidad atañe a las plantas, a sus consumidores y a los microorganismos del suelo. Entre los metales aportados por el estiércol licuado, el hierro, el manganeso, el zinc y el cobre son esenciales, es decir, indispensables para el desarrollo del vegetal o del animal. El zinc y el cobre se añaden a los alimentos compuestos como factores del crecimiento y son asimilados muy escasamente, se encuentran en cantidades bastante importantes en los estiércoles licuados de los terneros y sobre todo, de los cerdos, y han suscitado una particular atención.

Los otros metales no esenciales como el plomo, el cadmio, el mercurio, el arsénico y el selenio sólo son aportados en cantidades ínfimas por los desechos animales y no representan ningún riesgo para los suelos. La contaminación por estos elementos sólo es observada en las proximidades de ciertas zonas industriales.

2.2.1.7 Transmisión de enfermedades o parásitos

No se pueden excluir los riesgos de contaminación de los suelos y de la transmisión de parásitos y bacterias patógenas (nematodos, cestodos, bacterias tales como la Brucela, la Salmonella u otras).

La aplicación del estiércol licuado aporta al suelo microorganismos resistentes a los antibióticos, sobre todo los *Clostridium Prefringens* que están presentes cada vez más a menudo, en las aguas subterráneas. Estos microorganismos, insensibles a los tratamientos clásicos de las aguas, son patógenos.

En las explotaciones ganaderas tradicionales, donde se usa cama, el estiércol no causa problemas epidemiológicos especiales, ya que la paja facilita la aireación para la descomposición de la materia orgánica y las bacterias termofílicas generan calor con su metabolismo exotérmico; de este modo se alcanzan temperaturas próximas a los 60 °C e incluso superiores en el estiércol compacto, siendo destruidos la mayor parte de los agentes patógenos. En el estiércol líquido no se produce esta generación

espontánea de calor y como consecuencia de ello la supervivencia de la flora microbiana, patógena o no, es mayor, conduciendo a una reconsideración del papel de este material en la epidemiología de las enfermedades animales.

En las explotaciones ganaderas intensivas, que están dotadas de cientos de cabezas, la simple presencia de un animal infectado puede generar un contagio rápido y masivo, además, la incidencia de infecciones latentes se incrementa cuando los animales de poblaciones homogéneas son confinados, con lo cual se favorece la contaminación del hábitat de la granja, en el que los residuos fecales también tienen un papel muy importante.

Los estudios de microorganismos fecales en el medio ambiente indican que el agua superficial puede estar contaminada con tales bacterias cuando las tierras de sus inmediaciones también lo están. Los patógenos presentes en el estiércol, encuentran en el suelo una mezcla de condiciones desfavorables: pH, temperatura, luz solar, niveles de nutrientes, sustancias tóxicas presentes en los residuos, antibióticos del suelo y organismos antagonistas que representan un obstáculo para su supervivencia y la mayor parte de los patógenos se reducen drásticamente en 2 ó 3 meses; sólo se prolonga su presencia si la concentración inicial del inóculo es alta. También destaca que la aplicación al suelo supone un riesgo para la salud si el lixiviado alcanza el agua profunda, si el agua de escorrentía alcanza los cursos de agua potable dedicados al consumo, o si la carga de patógenos se presenta en alimentos o cultivos dedicados a la obtención de piensos.

2.2.2 Problemas planteados en la atmósfera

2.2.2.1 Efectos ecológicos del amoniaco

El amoniaco causa daños directos en la vegetación que se encuentra en las cercanías de las fuentes de emisión. También se ha demostrado que este gas es uno de los principales responsables de la acidificación de la atmósfera y, en consecuencia, de los suelos y de las aguas mediante deposiciones húmedas.

El amoniaco es el más alcalino de los gases atmosféricos, lo cual le da una gran importancia en la química atmosférica y en las deposiciones ácidas. Se combina

Residuos ganaderos

fácilmente con compuestos ácidos (H_2SO_4 , HCl y HNO_3) presentes en la atmósfera dando lugar a aerosoles amoniacales, forma que le permite recorrer grandes distancias, constituyéndose así en un contaminante a escala internacional.

Una parte considerable del nitrógeno en el abono animal está en forma de nitrógeno amoniacal (NH_3) proveniente del ion NH_4^+ y cuyas proporciones dependen del pH y de la temperatura. Las emisiones pueden producirse en otras formas de nitrógeno como (NO , NO_2 , NO_x). Las fuentes más importantes de génesis de esta molécula son debidas a las actividades agrarias, a los residuos ganaderos y a los fertilizantes químicos. La tendencia en la producción de amoníaco es, igual que con el metano, exponencial.

La ganadería es la principal generadora de amoníaco, no obstante todas las especies participan de igual forma en el proceso. Ha de tener presente la talla del animal, la densidad y concentración de cabezas que permiten así la producción de amoníaco de una granja.

La volatilización sucede cuando la concentración de amoníaco en la superficie es superior a la concentración de equilibrio con la de amoníaco en el aire. En caso contrario, hay deposición. La volatilización de amoníaco a partir de la orina es muy superior al del excremento sólido o ambas mezcladas. Si tenemos presente que la volatilización del amoníaco (NH_3) conlleva una pérdida del ion amonio (NH_4^+), entonces llegará un momento en que, al no existir más substrato (NH_4^+), ya no habrá más volatilización de amoníaco; la concentración de NH_3 no disminuye más. Sin embargo a lo largo del tiempo la hidrólisis de las proteínas (mientras existan) va liberando amonio que a su vez va produciendo amoníaco con mayor o menor velocidad (depende de la temperatura y del pH fundamentalmente) y mientras se mantenga esa cinética la cantidad de amonio presente ya casi se mantiene, aunque a medida que pasa el tiempo cada vez en menor proporción.

Durante el almacenamiento, la materia orgánica es descompuesta en amoníaco, ácidos grasos volátiles, dióxido de carbono y metano. El estiércol digerido, normalmente, tiene una cantidad de nitrógeno amoniacal ligeramente mayor que el no digerido. Por tanto, el almacenamiento al aire del estiércol digerido puede causar mayores emisiones de amoníaco que el almacenamiento al aire del estiércol no digerido.

2.2.2.2 Efectos ecológicos del dióxido de carbono

El dióxido de carbono es un gas que absorbe las radiaciones infrarrojas que proceden de la superficie de la tierra, formando una especie de capa que no permite que el calor se elimine hacia el espacio, dando lugar al ‘efecto invernadero’.

El dióxido de carbono es el responsable de aproximadamente el 50% del potencial de calentamiento de la tierra.

Las microalgas son una importante fuente de eliminación de dióxido de carbono ya que consumen el CO₂ del ambiente transformándolo en O₂ durante su respiración.

Residuos ganaderos

3 SUERO DE QUESERÍA

3.1 ELABORACIÓN DEL QUESO

Según el código alimentario se puede definir el queso como el producto fresco madurado, sólido o semisólido, obtenido por cualquiera de estos sistemas:

1. Coagulación de la leche, leche desnatada, leche parcialmente desnatada, nata de suero o mazada, solos o en combinación, gracias a la acción del cuajo o de otros agentes coagulantes apropiados y por eliminación parcial del lactosuero resultante de esta coagulación.
2. Por el empleo de técnicas de fabricación que conllevan la coagulación de la leche y/o de materia de procedencia láctea, de manera que se obtiene un producto acabado con las mismas características físicas, químicas y organolépticas esenciales que el producto definido en el párrafo anterior.

Además de la leche o productos básicos lácteos, se utilizan para su fabricación los cultivos de levaduras o bacterias lácticas, cuajo, ácido o enzimas coagulantes, sal y aditivos autorizados según el tipo de queso y según la legislación de cada país.

La elaboración del queso incluye tres etapas fundamentales, que se muestran en la Figura 4.1.

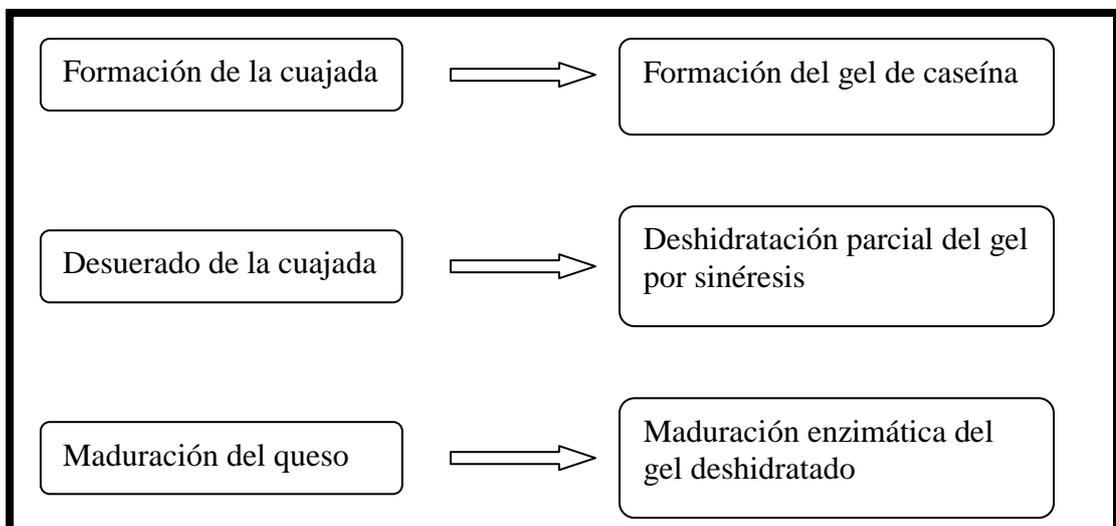


Figura 3.1 Las tres etapas fundamentales de la elaboración del queso

3.1.1 FORMACIÓN DE LA CUAJADA

El proceso principal que da origen a la formación de la cuajada es la coagulación, es decir, la conversión de la leche líquida en un gel denominado gel de caseína. La fabricación del queso es un proceso en el cual la caseína y la grasa de la leche se concentran de seis a doce veces dependiendo de la variedad. La formación de la cuajada se debe a una coagulación ácida e isoelectrica de la caseína y/o una coagulación enzimática. Posteriormente se produce el fenómeno de la sinéresis que implica la retracción del coágulo y la separación del suero.

Las cuajadas procedentes de una coagulación ácida o de una coagulación enzimática son distintas. El coágulo conseguido por la coagulación enzimática es de consistencia muy blanda, gelatinoso, casi impermeable, contráctil y expulsa muy bien el suero fraccionado; mientras que el coágulo conseguido por acidificación es más firme, de consistencia friable expulsa el suero espontáneamente, poco contráctil y poroso. En la práctica, las cuajadas de casi todos los tipos de quesos pueden considerarse intermediarias, con variantes que se aproximan en mayor o menor grado a uno u otro de los extremos.

3.1.2 DESUERADO DE LA CUAJADA

El desuerado afecta al 95% del agua originaria de la leche y sencillamente, es el fenómeno que representa la separación más o menos rápida del gel en dos partes, la parte líquida de dispersión (lactosuero) y la parte sólida constituida de la cuajada.

A este fenómeno de contracción del coágulo y pérdida de suero, que ocurre cuando la cuajada se corta y agita, se denomina sinéresis. Es una continuación de la agregación de la caseína y parece ser que las variables que aceleran la formación de la cuajada también aceleran la sinéresis. Un aumento en el contenido en proteínas de la leche disminuye la velocidad de pérdida de suero, pero favorece el desarrollo de la cuajada rígida. También es conocido el efecto de la grasa sobre la velocidad de la

sinéresis., ya que a mayor concentración de grasa en la leche, ésta ocupará un mayor espacio en la cuajada favoreciendo la expulsión del suero.

3.1.3 MADURACIÓN DEL SUERO

Esta es la última fase de elaboración de queso e independientemente de la composición de la materia prima y del procedimiento de la elaboración del queso, no cabe duda que el proceso de maduración contribuye de forma contable en las características de aroma y sabor típicas de cada variedad.

La maduración de un queso está gobernada por diferentes factores como el pH, la humedad, la temperatura de maduración, el cuajo, las enzimas nativas y la flora microbiana natural añadida intencionadamente a la leche o contaminante de la cuajada y queso. En la maduración domina, principalmente la hidrólisis de los componentes mayoritarios de la leche: lactosa, triglicéridos y caseínas. Estos procesos se llevan a cabo por la acción de las enzimas de los microorganismos a través de organismos glicolíticos, lipolíticos y proteolíticos, y en menor medida por la acción de enzimas presentes en la leche y por el cuajo residual.

3.2 CARACTERIZACIÓN DEL SUERO DE QUESERÍA

El suero de quesería, o lactosuero, se define como el líquido resultante de la coagulación de la leche en la fabricación del queso tras la separación de la caseína y de la grasa. El suero de quesería tiene un 5-7% de sólidos totales, representa del 80 al 90% del volumen total de la leche de vaca y contiene alrededor del 50% de los nutrientes de la leche original.

El lactosuero es un subproducto obtenido en la fabricación del queso a partir de la leche. Su composición varía con la calidad de la leche utilizada y con el tipo de queso a fabricar. Dependiendo del tipo de coagulación empleada el contenido en calcio y otras sustancias empleadas también varían.

Suero de quesería

Dichos lactosueros se pueden clasificar en sueros ácidos y dulces según la precipitación de la caseína utilizada. El suero ácido procede de la coagulación láctica de la caseína, mientras que el suero dulce se produce en la coagulación enzimática. Los sueros ácidos tienen mayor contenido en cenizas y menor contenido de lactosa que los sueros dulces, su utilización en alimentación está más limitada precisamente debido a su sabor ácido y su alto contenido de sales.

La composición del suero varía de acuerdo con el proceso industrial escogido para su producción, pero habitualmente puede ser definido como se observa en la Tabla 4-1, que representa la composición media de los dos tipos de suero, dulces y ácidos.

Tabla 3.1 Composición del suero dulce y ácido (%)

COMPONENTES	SUERO DULCE	SUERO ÁCIDO
Humedad	93-94	94-95
Grasa	0,3-0,5	0,3-0,6
Proteínas	0,8-1,0	0,8-1,0
Lactosa	4,5-5,0	3,8-4,2
Sales minerales	0,5-0,7	0,7-0,8
Ácido láctico y otros	0,1	0,1-0,8

Si se procede a una centrifugación del suero, el contenido en grasa dado en la Tabla 3.1 queda reducido al 0,03-0,05% lo que hace que pase a tener un contenido muy bajo en vitaminas liposolubles (A, D y E). El suero también es rico en vitaminas del grupo B (tiamina, ácido pantoténico, riboflavina, ácido nicotínico y cobalamina) y ácido ascórbico. La distribución porcentual de proteínas totales en el suero puede expresarse como: β -Lg (55-65%), α -Lg (15-25%), Ig (10-15%) BSA (5-6%), fracción proteosapeptona (10-20%), péptidos resultantes de la acción de la plasmina (<0,5%) y un residuo variable de β -caseína (1-2%). Las proteínas del suero lácteo tienen un alto valor nutricional, debido especialmente a la presencia de aminoácidos azufrados y de lisina.

Suero de quesería

La producción del suero es aproximadamente unas nueve veces la cantidad de queso producida, suponiendo un volumen igual al 85% del volumen inicial de la leche procesada.

El suero de queso representa un gran problema ambiental debido al alto volumen producido y a su elevado contenido en materia orgánica, 30000 a 50000 mg DBO/l y 60000 a 80000 mg DQO/l.

3.2.1 PRODUCCIÓN DIARIA DE QUESO Y DE SUERO EN CANTABRIA

En la Tabla 4-2 se presentan los resultados de producción de queso y suero diarios en las queserías que generan suero. De esta manera se puede estimar una producción diaria en Cantabria de 9618 Kg de queso, es decir, 2310 toneladas de queso anuales.

Tabla 3.2 Producción total de queso y suero en Cantabria

	Nº QUESERÍAS	MIN	MAX	SUMA	MEDIA	DESVIACIÓN TÍPICA
Producción queso (Kg/día)	43	2	1860	9618	223	405
Producción total suero (l/día)	43	12	13500	65118	1514	2755

3.2.1.1 Volumen de suero generado en Cantabria diariamente

La producción diaria de suero es de 65118 litros, esto es, 15600 toneladas de suero al año. La Tabla 4-3 refleja la estructura productiva del suero del sector quesero en Cantabria. Se trata de una producción atomizada, caracterizada por una mayoría de queserías pequeñas, donde se generan menos de 500 litros diarios de suero, de forma que el 63% de las queserías producen sólo el 13% de suero de la región, mientras que sólo 11 queserías producen el 87% restante.

Tabla 3.3 Producción total diaria de suero en Cantabria

<i>Producción suero (l/día)</i>	<i>Nº queserías</i>	<i>% de las queserías</i>	<i>Producción de suero</i>
<500	27	62,8	5,066
500-1000	5	11,6	3,486
1000-10000	10	23,3	43,066
>10000	1	2,3	13,5
<u>TOTAL</u>	43	100	65,118

3.2.2 TIPO DE SUERO GENERADO EN CANTABRIA

La composición del suero varía en función del tipo de leche empleado (vaca, cabra, oveja o mezcla de dos o de las tres leches), de la estación del año y del proceso tecnológico aplicado a la fabricación del queso.

Actualmente se elaboran unas 10 variedades de queso diferentes que generan suero. En las 13 de la 43 queserías (30%) se elabora más de un tipo de queso diferente, hasta 4 tipos de queso en alguna de ellas, por lo tanto, se produce un suero de origen y características variado dentro de cada quesería, resultando por tanto una producción variada de suero en el conjunto de la Comunidad Autónoma.

A la hora del manejo del suero, tanto el tipo de suero como la presencia de fermentos en el mismo son factores a tener en cuenta; esto es debido a que van a determinar su posterior evolución y, por tanto, sus propiedades y su capacidad de conservación.

Tabla 3.4 Volumen de suero generado en Cantabria en función del tipo de coagulación

<i>TIPO DE SUERO GENERADO</i>	<i>Nº QUESERÍAS DONDE SE PRODUCEN</i>	<i>PRODUCCIÓN (L/DÍA)</i>
Coagulación con cuajo (sin fermentos)	9	13630
Coagulación láctica	2	130
Coagulación mixta (cuajo y fermentos)	41	51358
Producción total	--	65118

El suero ácido, y el suero dulce con fermentos, son más estables que el suero dulce procedente de la coagulación enzimática, incluso conservados a temperatura ambiente, pues en pocas horas la lactosa es convertida en ácido láctico por los fermentos lácticos presentes, dando lugar a un producto fermentado. En el caso del suero de coagulación enzimática, al carecer de fermentos, su conservación es más problemática y, sin un manejo higiénico, puede haber un desarrollo de microorganismos indeseables y una mayor pérdida de valor nutritivo.

3.3 RECUPERACIÓN DE LOS COMPUESTOS PROTEICOS DEL LACTOSUERO

De los cuatro grupos de efluentes generados en las industrias lácteas, sólo el suero de queso puede ser utilizado en la recuperación de proteínas a gran escala, debido al volumen producido y a su composición homogénea.

Los métodos para el tratamiento del suero de queso vienen siendo investigados ampliamente y pueden ser resumidos como fermentación del suero para etanol; utilización del suero para alimentación animal o como un suplemento en la alimentación humana; separación de los componentes del suero del queso por tecnología de membrana; de exposición del suero por sistema de aplicación al suelo; tratamiento del suero a través de procesos de fango activados, filtros percoladores, lagunajes y algunas combinaciones de esos procesos; y digestión anaerobia.

Las principales aplicaciones industriales del suero son la producción de concentrados de proteínas de suero (WPC), lactosa y otros productos para su utilización bien en la alimentación humana como ingredientes en diferentes preparados (bebidas, bollería, helados, productos lácteos, derivados de pescado y cárnicos, etc.) O bien en la alimentación animal (ganado y animales de compañía)

Los procesos de recuperación pueden ser aplicados independientemente o en secuencia para mejorar el rendimiento final como es el caso de la ultrafiltración seguida del gel filtración. La composición resultante del WPC dependerá de los métodos empleados en la recuperación así como de las condiciones de trabajo.

Si el suero drenado de la cuba de quesería no va a ser industrializado de inmediato será necesario tratarlo adecuadamente para evitar su descomposición.

3.3.1 DESMINERALIZACIÓN

Los procesos de mayor interés para la separación de algunos componentes de las disoluciones son la electrodiálisis y la ósmosis inversa.

3.3.1.1 Electrodiálisis

La electrodiálisis consiste básicamente en pasar el suero a través de membranas de electrodiálisis selectivas a iones.

Generalmente, las instalaciones constan de una cámara dividida en compartimentos por membranas verticales de copolímeros de resina vinílica y venilbenzeno, colocadas alternativamente aniónicas y catiónicas. En los extremos de la cámara se colocan los electrodos para asegurar el pasar de la corriente continua. El lactosuero se introduce en compartimentos alternos. Los iones se mueven hacia la membrana correspondiente quedando allí detenidos, regenerando las sales extraídas del lactosuero para ser posteriormente arrastradas mediante una salmuera ligeramente acidificada.

3.3.1.2 Ósmosis inversa

El proceso de ósmosis inversa consiste en que al poner en contacto una disolución salina y agua, a través de una membrana semipermeable, si se ejerce una presión sobre la disolución salina se consigue un flujo neto de agua que abandona la disolución, alcanzando el agua una sobrepresión debida a la altura. Son necesarias presiones de hasta 50 bares y se consigue que las sustancias de pesos moleculares elevados no sean arrastradas, mientras que entre 75-95% de las sales del lactosuero son eliminadas.

Las membranas de ósmosis inversa se caracterizan por su naturaleza y los dispositivos que les sirven de soporte. Las membranas de acetato de celulosa tienen gran interés, tanto si son planas como si son tubulares necesitan un soporte mecánico que permita la aplicación de una presión mecánica elevada al objeto de lograr una circulación rápida del líquido.

El mayor problema existente es el riesgo de taponamiento de las membranas, por lo que se necesita un suero libre en grasa y finos de caseína. También se puede producir una precipitación de las sales de calcio en las membranas o en sus poros, pero con un control del pH puede evitarse. Tratando de resolver estos inconvenientes las membranas tradicionales han sido sustituidas por otras de fibra de nylon.

3.3.2 CONCENTRACIÓN Y DESHIDRATACIÓN DEL LACTOSUERO

Por este procedimiento se puede obtener en un volumen reducido, un producto nutritivo no perecedero de gran interés que puede ser usado tanto en la alimentación humana como animal. El suero sometido a deshidratación puede haber sido previamente desmineralizado, lográndose así un producto de más calidad y una disminución en los costes energéticos de la evaporación-deshidratación. Las etapas fundamentales del proceso son: evaporación, cristalización de la lactosa, atomización, enfriamiento, ensacado y peletización.

En la etapa de evaporación, realizada en evaporares de varios efectos para disminuir el consumo de vapor, el suero pasa a tener hasta un 50% de sólidos. El concentrado obtenido pasa a un tanque de cristalización donde se agita y enfría para que absorban menos impurezas y se puedan separar mejor; además el suero en polvo obtenido será menos higroscópico. Se separa la lactosa y el suero en polvo obtenido pasa a una torre de atomización para su secado final.

3.3.3 DESPROTEINIZACIÓN

Las proteínas del lactosuero son de excepcional calidad por no presentar carencias en aminoácidos. Tienen un elevado contenido en lisina, lo que hace que sean un complemento ideal para cualquier organismo en crecimiento. Desde el punto de vista nutricional, tienen un valor biológico superior a la caseína.

Uno de los procedimientos de obtención de proteínas consiste en una acidificación del suero a un pH de 4,6 y un calentamiento posterior por ebullición e inyección directa de vapor. Una vez alcanzados los 63°C las proteínas comienzan a flocular y, poco después de alcanzar la ebullición, se coagulan en la totalidad del producto. Las proteínas se recuperan por decantación y el líquido restante puede servir para la obtención de lactosa. Los flóculos tienen 15-18% de sólidos de los cuales el 70% son proteínas. Este producto una vez enfriado se puede deshidratar, moler y ensacar. Se le conoce con el nombre de lactoalbúmina. Aún quedan en el suero desproteínizado 3 g/l de las proteínas no sensibles al calor (proteasa, peptosa) y también la fracción NNP.

El problema que presentan las proteínas extraídas por este método es que se desnaturalizan al calentar, en presencia de lactosa y pierden lisina.

3.3.3.1 Gel filtración (GF)

Este proceso está basado en la teoría de filtración en gel, donde las partículas de pequeño volumen son retenidas en la retícula del gel, mientras que las proteínas son rechazadas rápidamente ya que su tamaño no les permite entrar en los poros de menor diámetro. De esta forma, las proteínas de mayor volumen molecular son separadas de la lactosa y sales minerales.

Mediante este proceso se obtiene un producto en polvo con un 75% de proteínas, en general por este método la fracción proteínica una vez seca contiene un 8-10% de humedad y un 40-80% de proteínas.

3.3.3.2 Ultrafiltración (U)

La ultrafiltración consiste en separar físicamente bajo un gradiente de presión (500 Kp) los componentes del suero, basándose en su peso molecular de filtración, por ejemplo de polisulfonato, produciéndose la retención los componentes proteicos de mayor tamaño. Es el proceso más extensamente utilizado para la separación de proteínas junto con la diafiltración.

Para lograr concentraciones de proteínas del orden del 80% sobre la materia seca, se sigue el procedimiento de diafiltración, reciclando el concentrado al tanque de aspiración en una sola etapa de UF, para operaciones en discontinuo, o con dos o más etapas en UF y reciclando el permeato en contracorriente, con adición de agua de dilución en la última etapa.

3.3.4 EXTRACCIÓN DE LA LACTOSA

En general, los métodos para la extracción de la lactosa son similares a los empleados en la industria azucarera. El proceso de desproteínización suele preceder a la evaporación del suero a los 90°C hasta que su contenido en sólidos totales sea 60%, a continuación se realiza un enfriamiento progresivo durante un tiempo de 16 a 36 horas y después una siembra de cristales de lactosa para lograr su cristalización; los cristales deberán tener el mayor tamaño posible para que se absorban menos impurezas y puedan separarse más fácilmente por centrifugación. Tras el lavado con agua fría se obtiene una masa cristalina que contiene entre el 85-90% de lactosa.

Como la lactosa bruta es coloreada y puede contener proteínas y sales, se somete a un proceso de refinado disolviendo la lactosa bruta en agua caliente hasta una concentración del 50-60%; la solución pasa posteriormente a un cambiador de placas para ser calentada a 105°C (punto de ebullición de la disolución) con adición de carbón activo, tierras filtrantes y superfosfatos. Se filtra a elevadas temperaturas y se enfría de nuevo en un cambiador para posteriormente proceder a su cristalización, con una pureza superior al 99,85%.

La lactosa es un disacárido formado por dos monosacáridos, glucosa y galactosa. Su escaso poder edulcorante y su limitada solubilidad puede ser mejorada por su hidrólisis a cantidades equimoleculares de los monosacáridos. Esta hidrólisis puede ser llevada a cabo tanto por procesos de catálisis ácida como enzimática.

3.3.5 PRODUCCIÓN DE LEVADURAS

El lactosuero, desproteinizado o licor madre (obtenido después de la cristalización de la lactosa), constituye un excelente medio de cultivo, principalmente para aquellos microorganismos capaces de metabolizar la lactosa. Basándose en esta propiedad, la lactosa se ha destinado a la producción de levaduras que, a solas o mezcladas con el medio cultivo, constituyen un alimento de alto valor biológico utilizable por el hombre o los animales.

Entre las levaduras, la *sacchomyces frágilis* es la mejor adaptada para la producción de proteínas a partir de la lactosa, tanto con técnicas de cultivo discontinuas como continuas. Una producción máxima de 62% se alcanzó con cultivos discontinuos, mientras que una producción de 75,5% se logró con cultivos en continuo.

El sustrato a temperatura variable (85-90° durante unos minutos) debe ser completado con los nutrientes nitrógenos y fósforo. Los aditivos más frecuentes son sulfato amónico, fosfato disódico, amoníaco y urea.

El oxígeno es uno de los factores para la multiplicación celular. Alrededor del 35% de la lactosa es oxidada a gas carbónico y agua, mientras que el resto se transforma en el nuevo material celular.

La separación de las levaduras puede realizarse por varios procedimientos. Por centrifugación puede obtenerse una crema de levadura con 15-18% de extracto seco. Se lava y posteriormente se deshidrata. También puede primero concentrarse y luego deshidratarse.

También han sido empleados bacterias y hongos por microorganismos encargados de producir las proteínas a partir de la lactosa. Los hongos tienen algunas ventajas frente a levaduras ya que poseen un mejor perfil de proteínas y la recuperación a partir del medio de crecimiento es más fácil.

3.3.6 FERMENTACIÓN DEL LACTOSUERO

El suero puede ser sometido a diversos procesos fermentativos encaminados a la obtención de ácidos, alcoholes, enzimas, vitaminas y bebidas alcohólicas entre otros. Se puede obtener ácido acético a partir del suero, al que se acondiciona alcohol, por medio de la bacteria *mycoderma acetise*, obteniendo así vinagre. Por medio de la fermentación acetanobutírica se pueden obtener butanol y acetona con esporas *clostridium acetobutýricum*. Las fermentaciones a partir del suero de queso de mayor relevancia son la láctica y la alcohólica.

3.3.6.1 Fermentación láctica

La producción de ácido láctico por fermentación del suero consiste en sembrar el suero desproteinizado y pasteurizado con *lactobacillus bulgaricus*, incubándose con carbonato cálcico o cal. A las 24 horas la fermentación se completa ya entre el 85-90% de la lactosa se ha transformado en ácido. El pH aumenta hasta 12 por adición de cal y se hierve durante 20 minutos para destruir las bacterias y precipitar el fosfato cálcico que se separa después por filtración. El pH se lleva a neutralidad por adición de ácido láctico.

3.3.6.2 Fermentación alcohólica

Generalmente, la producción de alcohol se logra por una fermentación inicial aerobia que permite el crecimiento suficiente de levaduras del tipo *saccharomyces fragilis* y *torula cremoris*, principalmente porque tienen mayor velocidad de fermentación y producen mayores cantidades de etano. Se necesita 10% de levadura como inóculo para iniciar el proceso. Dependiendo del proceso empleado, se añade licor macerado de cereal, fósforo, extracto de levaduras y carbohidratos entre otros.

3.3.7 TRATAMIENTOS DE LAS AGUAS RESIDUALES DE LAS INDUSTRIAS LÁCTICAS

Las aguas residuales de una industria quesera son principalmente de naturaleza orgánica y contienen gran cantidad de sólidos en suspensión, coloidales y disueltos.

El grado de depuración requerido, los caudales y las concentraciones de los componentes mencionados son los factores más importantes que condicionan la línea de tratamiento aplicable a cada industria.

Los procesos empleados en la depuración de las aguas residuales de industrias lácteas en general y queseras en particular pueden ser físicos, químicos y biológicos. La utilización de una o más de estas etapas da lugar a diversos grados de depuración.

Los métodos físico-químicos, aunque pueden emplearse de forma única en la depuración de las aguas residuales de las industrias lácteas, suelen emplearse como una etapa de pre o post tratamiento.

3.3.8 TRATAMIENTOS FÍSICOS

Las operaciones físicas más usuales son desbaste (rejas, tamices), filtración, flotación y decantación. Se utilizan para la separación de los sólidos en suspensión y los flotantes como las grasas.

3.3.8.1 Filtración

Este proceso se lleva a cabo haciendo pasar al afluente a través de turba absorbente logrando de esta forma la eliminación parcial de sólidos en suspensión, al mismo tiempo que consigue eliminar parte de las sustancias nitrogenadas solubles y de los antisépticos.

3.3.8.2 Decantación

Un decantador consiste en un estanque en el que las aguas a tratar se desplazan horizontal o verticalmente. Las materias en suspensión son retenidas en un tamiz o bien depositadas en el fondo del estanque. El tiempo de permanencia del vertido a tratar en el estanque de decantación no debe ser superior a las dos horas (aunque se han admitido tiempos mayores) para evitar que se produzcan procesos fermentativos que aumenten la DBO. Para impedir este fenómeno, los tanques deben estar provistos de sistemas especiales que eliminen los sólidos en suspensión y las

materias sedimentadas. Así se puede eliminar aproximadamente el 70% de las materias en suspensión y reducir la DBO en un 15-20%.

3.3.8.3 Aireación

En cuanto a la aireación, se ha descrito la utilización de un proceso de flotación por aire disuelto como etapa de separación de grasa previa a un proceso biológico.

3.3.9 TRATAMIENTOS QUÍMICOS

Los procesos químicos implican principalmente la eliminación de los sólidos suspendidos y coloidales por precipitación. Por ejemplo, la coagulación química tiene un efecto limitado en las aguas residuales lácteas como las de una industria quesera, puesto que no permite la eliminación de la lactosa, cuyo poder contaminante es muy elevado, y la DBO sólo se reduce en un 30%.

Estos métodos físico-químicos no siempre resultan muy apropiados para el tratamiento de los vertidos de las industrias lácteas, debido fundamentalmente a:

- Una alta producción de lodos cuyo vertido genera grandes inconvenientes debido a la necesidad de su estabilización previa.
- Unos altos costes de operación por la gran cantidad de reactivos que precisan.
- Los pequeños rendimientos debidos a su contenido bajo en proteínas y alto en lactosa.

3.3.9.1 Floculación química

El procedimiento de dornic y daire consiste en una filtración a través de una turba precedida de una floculación con superfosfato y cal, lo que permite precipitar materias nitrogenadas y además el flóculo al precipitarse realiza una auténtica filtración del líquido.

Como agentes floculantes pueden utilizarse también el cloruro férrico, el sulfato ferroso y el sulfato de alúmina. Éste último es especialmente útil cuando el agua a tratar es rica en suero. La cantidad de agente floculante necesario se eleva a un

kg/m³ de agua a tratar. En todos los casos, el procedimiento termina con la adición de cal para fijar el pH del vertido entre 7,0-7,5, puesto que en medio ácido no se produce la floculación.

3.3.10 TRATAMIENTOS BIOLÓGICOS

Los procesos biológicos se basan en la alimentación de la materia orgánica contenida en las aguas residuales debido al metabolismo microbiano. Este metabolismo puede ser aerobio o anaerobio.

Tradicionalmente, los procesos biológicos utilizados han sido aerobios, constatándose en los últimos años un desarrollo importante de los procedimientos de tipo anaerobio. Dentro de los primeros existen diferentes procesos que han sido probados en la depuración del agua residual láctea con éxito diverso, aparte de estos procedimientos que podemos denominar como artificiales se han empleado también métodos naturales en los que el agua residual ha sido vertida al campo como abono.

3.3.10.1 Tratamientos biológicos naturales

Cuando la ubicación de la industria lo permita, las aguas residuales de una industria láctea, tras un tratamiento de decantación y bajo determinadas condiciones, pueden verterse en explotaciones agrarias de diversas naturalezas. Los microorganismos del suelo degradarán la materia orgánica de las aguas residuales, y la amonización y la nitrificación enriquecen el suelo en sustancias asimilables para los vegetales. Un cambio abonado de esta forma tiene que ser atendido regularmente, ya que sino su capacidad de depuración disminuye y termina por desaparecer debido a que se produce una progresiva acidificación del terreno que finalmente detienen la degradación de las materias nitrogenadas.

3.3.10.2 Tratamientos biológicos

Los procesos de tratamiento aerobio han sido tradicionalmente los procesos biológicos más ampliamente utilizados, siendo el más extendido el proceso de fangos

Suero de quesería

activados en cualquiera de sus variantes. También se emplean las fosas de oxidación, lagunas aireadas, estanques de oxidación y biodiscos.

Fangos activados

Básicamente el proceso consiste en un tanque de aireación, un tanque de decantación y un sistema de recirculación de fangos. En el reactor ocurren las condiciones, de la materia nitrogenada. La biomasa utiliza el sustrato presente en las aguas residuales para desarrollarse. En el decantador secundario ocurre la sedimentación de los sólidos, permitiendo que el efluente final salga clarificado. Los sólidos sedimentados en el fondo del decantador secundario son recirculados para el reactor, aumentando la concentración de biomasa en el mismo, consiguiendo una eficiencia del sistema.

La biomasa consigue ser fácilmente separada en el decantador secundario debido a su propiedad de flocular. Esto se debe al hecho de que las bacterias poseen una matriz gelatinosa, que permite la aglutinación de las bacterias y otros microorganismos, como protozoarios. El flóculo posee mayores dimensiones facilitando la sedimentación.

El proceso de fangos activados necesita para su desarrollo de un sistema de aireación y agitación que abastezca el oxígeno necesario (mediante turbinas o insuflando), para la acción depuradora de las bacterias aerobias, evitando la sedimentación de los flóculos en el reactor y permitiendo la homogenización de la mezcla de los fangos activados.

Lechos bacterianos

Este proceso se adapta mejor que el de fangos activados a las variaciones continuas de carga, siendo además más económico, tanto desde el punto de vista de instalación como de explotación. Puede resultar en algunas ocasiones interesante como una primera etapa de tratamiento biológico.

Suero de quesería

El principio de funcionamiento de los lechos bacterianos consiste en hacer caer el agua a tratar, previamente decantada, en forma de lluvia sobre una masa de material de gran superficie específica, que sirve de soporte a los microorganismos depuradores. La materia orgánica presente en el agua residual es degradada por una población de microorganismos adherida al medio. La aireación está asegurada gracias al gradiente térmico existente entre el agua residual y el exterior.

Fosas de oxidación

Son anulares y de sección trapezoidal, con una profundidad de 1,5 metros. Logran en circuito cerrado la depuración natural del mismo modo que en un curso de agua.

El desplazamiento del agua residual se consigue mediante un sistema de cepillos rotatorios semisumergidos, que además efectúan la oxigenación necesaria para el desarrollo de los microorganismos encargados de la degradación de la materia orgánica. El movimiento de las aguas, a velocidad entre 0,1 y 0,3 m/s, es suficiente para evitar que los fangos sedimenten en el fondo. Las aguas residuales son introducidas en la fosa antes del cepillo de oxidación y tangencialmente a la dirección del flujo. El desagüe se produce de forma que el efluente en su salida es filtrado a través del lecho de fangos.

Se considera que las fosas de oxidación son los sistemas más económicos de oxidación completa.

Lagunas aireadas

Una laguna aireada se trata de un sistema biológico extenso, donde la depuración es obtenida por la acción conjunta del ecosistema acuático reducido y especializado.

Las lagunas aireadas requieren el empleo de energía alóctona para depurar, por lo que este sistema no es considerado como una tecnología natural. Se da el caso de que muchas de las cuales aireadas son lagunas facultativas sobrecargadas donde se instalan soplantes para aumentar los rendimientos y la calidad del efluente final.

Suero de quesería

Según el grado de mezcla pueden ser de mezcla parcial o completa. Metcalf y eddy indican como valores típicos, profundidad de 2 a 6 metros, carga superficial de 20 a 230 kg DBO/Ha.d, THR de 3 a 7 días, resultando una eliminación de DBO de 80 a 95%.

Biodiscos

Están formados por una batería de discos de PVC, entre otros, con diámetros que oscilan entre 2 y 3 metros, separados entre sí por una distancia de 1,5 y 2 cm.

Los discos giran lentamente manteniendo inmerso en el agua aproximadamente un 40% de su superficie. En su fase de inmersión se va creando sobre las paredes de los discos una fina película biológica que llega a alcanzar unos 2 mm. De espesor. Esta película es oxigenada cuando, debido al giro, la fase inmersa se encuentra en el exterior en contacto con el aire. Así se establece un proceso bacteriano alimentación-respiración.

Entre sus ventajas cabe destacar el menor consumo energético con respecto al método convencional, el hecho de que no sea necesario recircular fangos (ya que la masa bacteriana adherida a los discos va creciendo y al alcanzar su espesor un punto límite se desprende), la homogenización del agua es total y la facilidad de operación y mantenimiento del sistema.

Tratamientos terciarios

Los tratamientos terciarios de las aguas residuales de las industrias queseras y lácteas comúnmente están dirigidos a la mejora de la calidad del efluente, en general la eliminación de nitrógeno y/o fósforo residual de forma que éstos no resulten perjudiciales al medio receptor, evitando así problemas de eutrofización y de consumo excesivo de oxígeno de la corriente receptora de formación de cloraminas.

3.4 GESTIÓN ACTUAL DEL SUERO EN LAS QUESERÍAS DE CANTABRIA

Respecto a la gestión actual del suero de la Tabla 4-5 se deduce que 19 de las 43 queserías (cerca del 45%) no tienen gestionado el suero adecuadamente. Así pues, a fecha del estudio 24 queserías (el 55% del total) gestionan correctamente el suero. El destino más frecuente en estas queserías es la alimentación animal (en el 96% de los casos), habiéndose constatado su uso con excelentes resultados en la alimentación de cerdos, vacas y terneros, cabras, ovejas, caballos e incluso gallinas.

Tabla 3.5 Gestión del suero en las queserías de Cantabria

<i>Gestión actual del suero</i>	<i>Nº queserías</i>	<i>% queserías</i>	<i>Valoración</i>
<i>Entrega a granjas animales</i>			<i>Gestión</i>
Porcino Vacuno y otras	2		55,8 % de las
	2	9,3	queserías es
Total	4		adecuada al
Gestión interna	19	44,2	suero
Empresa transformadora	1	2,3	

Respecto al volumen de suero gestionado, los resultados indican que el 42,6% del suero (27749 litros/día) se gestiona adecuadamente, destinándose 23549 litros diarios (85% del suero gestionado) a la alimentación de animales.

De las 43 queserías encuestadas sólo una de ellas entrega el suero a una empresa transformadora de suero, ubicada en el principado de Asturias, aunque el dinero que cobran por el suero no compensa los gastos de transporte. En Cantabria no existe ninguna empresa de este tipo.

Cabe destacar, asimismo, que ninguna de las queserías encuestadas saca un provecho económico del suero que genera.

3.4.1 EQUIPAMIENTO ACTUAL DE LAS QUESERÍAS PARA EL MANEJO

El equipamiento del que disponen las queserías para el manejo del suero es un dato importante conocer la capacidad actual de gestión del mismo.

En este momento, sólo el 11,6% de las queserías podrían entregar a un posible gestor (empresa de tratamiento de suero o similar) suero en condiciones de frío, y sólo 7 de las 43 queserías podrían entregar a ese mismo gestor un suero desnatado.

Tabla 3.6 Nivel de equipamiento de las queserías

<i>EQUIPO</i>	<i>Nº QUESERÍAS DISPONEN EQUIPAMIENTO</i>	<i>% QUESERÍAS</i>
Tanque específico para el suero	23	53,5
Tanque de frío para el suero	1	2,3
Equipos refrigeración suero	4	9,3
Desnatadora	7	16,3

También hay que señalar el hecho de que la disposición o no de un tanque específico para el almacenamiento del suero no está directamente relacionado con la gestión realizada sino con el tamaño de la quesería, de modo que en muchas de las queserías sin tanque el suero es recogido en cántaras y suministrado de esta forma a los propios animales.

3.4.2 POSIBLES SOLUCIONES A LA GESTIÓN DEL SUERO

- ✓ Entrega a empresas transformadoras para el aprovechamiento de los componentes nutritivos del suero:

Suero de quesería

- La distancia a las empresas de tratamiento de suero más cercanas, ubicadas en otras comunidades, hace esta alternativa muy poco rentable para las empresas receptoras.
 - El proyecto de instalación de una planta centralizada para el tratamiento tecnológico conjunto del suero para el aprovechamiento de sus constituyentes si bien es una salida muy interesante, la experiencia de Cantabria a lo largo de 20 años ha puesto de manifiesto que los sucesivos proyectos de instalación de equipos de tratamiento en la región han resultado inviables económicamente tanto por el escaso volumen de producción diaria de suero (alrededor de 65.000 litros) como por dispersión geográfica de las queserías. De hecho, no existe ninguna planta de tratamiento en la región.
-
- ✓ Producción de energía: el tratamiento del suero de forma conjunta con los purines y otros residuos ganaderos para la producción de energía se constituye como una alternativa interesante que, aunque no aprovecha los constituyentes nutricionales de alta calidad contenidos en el suero, valoriza el residuo con recuperación energética y soluciona el problema del sector quesero.
 - ✓ Tratamiento y gestión como residuo.
 - ✓ Utilización del suero en alimentación animal:
 - Alimentación de ganado porcino: la utilización del suero para la alimentación de porcino constituye una salida cómoda y económica para el quesero y rentable para el ganadero de porcino.
 - Alimentación de ganado vacuno: la alimentación del ganado vacuno con suero de leche constituye actualmente uno de los principales destinos del suero en nuestra región. El control y la organización de la recogida del suero hacia las explotaciones de leche y el asesoramiento del sector sobre los requisitos normativos y las condiciones técnicas necesarias para la incorporación del suero en la dieta podría ser otra línea de trabajo a tener en cuenta.

4 Algas

Las algas son un grupo de organismos de estructura simple que producen oxígeno al realizar el proceso de la fotosíntesis, proceso en el cual los organismos con clorofila, como las plantas verdes, las algas y algunas bacterias, capturan energía en forma de luz y la transforman en energía química. Las algas pueden estar tanto en el agua como en el exterior, donde pueden vivir en simbiosis con hongos creando líquenes. Las algas son primariamente fotoautótrofas. La mayoría poseen pared celular, que contiene carbonato sílico o sílice que es una proteína. Su color es variable pudiendo ser verdes, rojas, amarillas, etc. dependiendo de la profundidad a la que viven para poder atrapar la luz solar.

4.1 Composición

Las microalgas tienen una composición en lípidos, carbohidratos y proteínas variable, ésta puede ser variada durante el proceso de cultivo. En general el contenido en lípidos de las microalgas varía entre el 20% y el 50% en peso seco. Éstas tienen una relación C:N entre 6 y 9 dependiendo ambos del tipo de microalgas.

De modo general se puede emplear la fórmula molecular la propuesta por Grobbelaar (2004):



de aquí se deduce que un kilogramo de microalgas contendría:

- 523,9 g de carbono
- 74,5 g de hidrógeno
- 296,5 de oxígeno
- 92,2 g de nitrógeno
- 12,76 g de fósforo

Algas

El contenido en un kilogramo de algas en masa seca según un estudio de Ras et al (2011) es:

- 367 g de carbono
- 61 g de nitrógeno
- 8,1 g de fósforo
- 6,6 g de potasio

4.2 Tipos de algas

Las algas se pueden clasificar de diversas formas. La forma más simple podría ser entre formas móviles e inmóviles. Hay otra clasificación utilizada, pero incorrecta entre animal y vegetal. El sistema de clasificación más comúnmente utilizado es el que las distribuye en diferentes reinos. Actualmente, según las últimas investigaciones, existen 16 líneas filogénicas (grupos de organismos con un antepasado común) o divisiones. Las líneas filogénicas de las algas se definen por las siguientes características:

- La composición de la pared celular
- Los pigmentos fotosintéticos
- Los productos de reserva
- Los flagelos de las células móviles
- La estructura del núcleo, el cloroplasto, el pirenoide (zona del cloroplasto que participa en la formación de almidón) y la mancha ocular (orgánulo constituido por una gran concentración de lípidos)

Las líneas filogénicas más comunes son:

- Algas verdeazuladas (cyanophyta): También son llamadas bacterias verdeazuladas porque carecen de membrana nuclear como las bacterias, tampoco poseen cloroplastos, mitocondrias o núcleo. Tienen un equivalente del núcleo llamado centroplasma, que está rodeado sin un límite preciso por el cromatoplasma periférico coloreado. El hecho por el cual se clasifican como algas en vez de como bacterias es porque liberan oxígeno al realizar la

Algas

fotosíntesis en un proceso similar al de las plantas. Normalmente se agrupan en colonias aunque ciertas formas pueden tener vida independiente. Su reproducción es por esporas o por fragmentación de los filamentos pluricelulares. Estas algas se pueden encontrar en todo el mundo, en lugares como las cortezas de los árboles, rocas, y suelos húmedos donde realizan la fijación del nitrógeno. Algunas coexisten simbióticamente con hongos para formar líquenes. Cuando hace calor, algunas especies forman extensas, y a veces tóxicas floraciones en la superficie de charcas y en las costas. En aguas tropicales poco profundas, las matas de algas llegan a constituir unas formaciones curvadas llamadas estromatolitos, cuyos fósiles se han encontrado en rocas formadas durante el precámbrico, hace más de 3000 millones de años. Esto sugiere que pudieron tener un importante papel cambiando la atmósfera primitiva rica en dióxido de carbono por la mezcla oxigenada que existe actualmente.



Figura 4.1: *Estromatolitos en sharkbay, Australia (Taringa.net)*

Algas



Figura 4.2: Algas verdes, cyanophyta (*elacuario.org*)

- Algas rojas (rhodophyta): Este tipo de algas se encuentran en los hábitats marinos. Algunas carecen de clorofila B y tienen pigmentos especiales rojos (ficoeritrina) y azules (ficocianina). En algunas algas rojas la ficoeritrina recubre de tal manera los cloroplastos que el color rojo es muy intenso pudiendo a su vez tener incrustaciones calcáreas que las empalidecen. Están compuestas por células completas constituyendo verdaderos organismos pluricelulares. En general tienen un tamaño pequeño o mediano. Las más sencillas se reducen a un simple filamento de células superpuestas, en las más complejas se diferencian claramente el rizoide (pelo o filamento que hace las veces de raíz), el cauloide (tallo hinchado o tuberculoso) y el filoide (parte laminar ramificada del tallo). Su ciclo sexual es muy complejo, implica una alternancia de generaciones, de morfología similar o diferente, y una fase posterior de fecundación que se desarrolla sobre el órgano femenino. La mayoría de las especies crecen cerca de las costas tropicales y subtropicales aunque alguna es de agua dulce. Tienen distintos aspectos: en forma de lámina o coralina (parecida al coral), como un caparazón, correosa como el cuero, y en forma de plumas. Estas algas son importantes en la cimentación de los arrecifes de coral, ya que debido a que se forman cúmulos de carbonato cálcico en sus membranas celulares, al producir material nuevo y sedimentarse junto a otros organismos. Algunos tipos de algas rojas tienen importancia económica como por ejemplo; el agar se utiliza en los

Algas

laboratorios, como medio de cultivo de hongos y bacterias, en las industrias farmacéuticas y de alimentación; el carraguín se utiliza en la fabricación de productos lácteos, en la industria textil, en cosmética, en farmacia y en tipografía. Varias algas rojas son utilizadas como alimentos, la más conocida es el nori que es muy consumida en Japón.



Figura 4.3: *Alga roja (eol.org)*

- Algas verdes (chlorophyta): Este tipo de alga es de los organismos más antiguos, el fósil más antiguo encontrado es de hace 2000 millones de años debido a esto se las considera como las antecesoras de las plantas verdes terrestres, ya que como ellas poseen clorofila A y B y almidón como material de reserva. Pueden ser unicelulares móviles o no móviles, coloniales o pluricelulares. Las especies unicelulares móviles se asemejan a los flagelados vegetales en que se desplazan por el agua gracias a los flagelos y se diferencian en la reproducción sexual. Las especies inmóviles pueden llegar a generar especies móviles (zoosporas). Ambas especies pueden vivir aisladas o reunirse en colonias. Estas colonias suelen tener forma determinada y un número fijo de células iguales y constituyen un cenobio o comunidad celular. La mayoría están formadas por dos capas; una interna de celulosa y otra

Algas

externa con pectina (sustancia blanca amorfa que producen algunas plantas). Muchos clorofitos unicelulares se agrupan en filamentos y son visibles como musgo de río o verdín de charca. En hábitats marinos las más desarrolladas se componen de sifones plurinucleados y alcanzan una longitud de hasta 10 metros. Uno de los géneros tiene paredes celulares impregnadas con una forma de carbonato cálcico llamada aragonita y contribuye de modo importante a la formación de los arrecifes de coral. Las algas verdes se pueden localizar también en suelo húmedo (adheridas a las plantas terrestres) siendo algunas de ellas parásitas, e incluso en la nieve y el hielo. La reproducción de las algas verdes es vegetativa (por fragmentación y división celular), asexual (por esporas y zoosporas), y sexual por conjugación. Las algas verdes son muy importantes en el mundo natural y animal ya que constituyen una importante fuente de alimentos (plancton) y contribuye al aporte de oxígeno atmosférico. También existen problemas creados por ellas ya que cuando la población de caráceas (algas de agua dulce) aumenta demasiado provocan mal olor y en charcas y lagos contaminados por nitratos y fosfatos aparece en el agua una espuma densa y maloliente y se produce un drástico descenso del oxígeno disponible, necesario para otras formas de vida acuática.



Figura 4.4: *chlorophyta* adherida a las rocas (*eol.org*)

Algas

- Algas pardas (phaeophyta): Se encuentran principalmente en el hábitat marino, en las zonas agitadas de los mares polares, pudiendo existir en las profundidades oceánicas y muy rara vez se las encuentra en aguas dulces. Estas algas crecen aferradas a las rocas que están sumergidas en el agua. Cuando baja la marea se ven en las rocas que estaban sumergidas. Son capaces de resistir las mareas, la resaca y los golpes de las olas ya que se agarran a las olas mediante el rizoides. La luz solar la obtienen por el filoide, que es donde se produce la fotosíntesis. Poseen unas bolsas llenas de aire situadas en el filoide o cauloide, con las que flotan, permitiendo a estas algas mantenerse rectas y sobre todo a las que son muy largas elevarse considerablemente hacia la luz. Las algas pardas tienen un crecimiento rápido un gran tamaño, pudiendo llegar a medir hasta 200 metros de altura, y por sus tejidos complejos. Carecen de clorofila B, pero tienen otro tipo, la clorofila C y pigmentos fotosintéticos especiales (fucoxantina, carotina y xantofila) cuyo coloración varía entre amarillo, rojo intenso y marrón de esta manera se enmascara el color verde de la clorofila en sus células vegetales. Este tipo de algas son pluricelulares y tienen estructuras diferenciadas, asemejándose a las plantas en su estructura de raíces, tallo y hojas, pero siendo muy diferentes en su aspecto interior. Las paredes de sus células se componen de una celulosa similar a la de las algas rojas. Y sus caras exteriores están compuestas por el alginato (un compuesto peptídico gelatinoso), que protege a las células y a los estratos celulares de la desecación cuando quedan al aire al retirarse el agua marina con la marea. Sus células reproductoras poseen flagelos permitiendo una mejor movilidad de las zoosporas, estas se mueven hasta un punto donde se detienen y allí generan una nueva alga. Las zoosporas se producen en unos órganos especiales llamados zoosporangios. Las algas pardas se utilizan como estabilizantes de la emulsión en la fabricación de helados, como fertilizantes, como fuente de alimentos ricos en vitaminas y para la obtención de yodo.

Algas



Figura 4.5: *algas pardas* (evemartinencohotmailcom.blogspot.com)

- **Diatomeas (bacillariophyta):** Las diatomeas son organismos unicelulares, pero pueden unirse en colonias con forma de tallo o ramificadas. Sus células son completas, tienen membrana, núcleo, cromatóforos, dos vacuólos que se reparten el jugo celular, etc. En estas células se acumulan gotas de aceite en vez de almidón. En muchas diatomeas existe una línea sinuosa que recorre la valva que va de un nódulo a otro interrumpida por un nódulo central. El sílice les confiere rigidez y origina patrones de estrías, esculpidos de manera complicada, que suelen servir para su identificación. El color a estas algas se lo confiere el pigmento clorofila que se encuentra en los citoplasmas, que junto con la xantofila, la carotina y la fucoxantina le confieren una apariencia castaño-dorada con una pigmentación similar a la de las algas pardas. Lo más notable de estas algas es su membrana, que las envuelve y las protege, constituida por una modificación de la celulosa impregnada de una combinación silícica lo que lo proporciona una especie de caparazón llamado frústulo. El frústulo se compone de dos piezas que encajan una en otra por sus bordes, como una tapa y el recipiente. Su reproducción es generalmente por división celular. Las cubiertas se separan y van generando sucesivamente

Algas

células cada vez más pequeñas hasta que se alcanza una talla mínima. Periódicamente se originan células de la talla del organismo original por reproducción sexual. Se localizan en las capas superficiales de los océanos, donde constituyen un componente principal del plancton. También se pueden encontrar en charcas de agua dulce y en suelos húmedos. Los restos fósiles de las conchas de las diatomeas se llaman tierra de diatomeas y se usa como abrasivo y filtrante.

Existen dos tipos de diatomeas:

- Céntricas: Abunda en los mares y carece de rafe. Tienen la valva circular y las grabaduras o estrías van desde el centro hasta los bordes. Constituyen el principal componente del plancton junto a los flagelados vegetales.
- Pennadas: En general son alargadas o elípticas, en forma de I y de S. Tienen rafe y las grabaduras parten a menudo de la grieta longitudinal y se disponen a ambos lados de ella, como en una pluma de un pájaro.

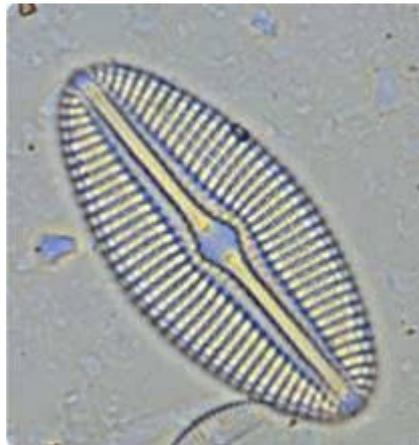


Figura 4.6: *Diatomea* (*servicios2.marm.es*)

- Otras líneas filogenéticas de algas: Se han definido al menos otras once líneas de algas. La mayoría son organismos flagelados unicelulares o miembros de colonias. Los dinoflagelados (Pyrrophyta), conocidos por originar la marea roja, son mayoritariamente marinos y desempeñan un papel importante por ser productores primarios en la red trófica. Los cocolitopóridos (división Prymnesiophyta o Haptophyta) poseen unas escamas calcificadas complejas

Algas

llamadas cocolitos, estas algas fosilizadas forman acantilados blancos son importantes en el estudio de los estratos terrestres. Las líneas filogenéticas restantes son Chrysophyta, Xanthophyta (Tribophyta), Eustigmatophyta, Raphidophyta, Cryptophyta, Euglenophyta y Prasinophyta.



Figura 4.7: Ejemplo de marea roja (*el—plancton.blogspot.com*)

4.3 Interacciones algas-bacterias

En el año 2008 un estudio desarrollado por los investigadores Mijail Zubkov y Glen Tarran en el National Oceanography Centre de Southampton en Inglaterra descubrió al estudiar los ecosistemas del océano Atlántico Norte descubrieron que pequeñas algas obtienen los fosfatos indirectamente, posiblemente al alimentarse de bacterioplancton. Esto implicaba que estas pequeñas algas podrían tener un papel clave en el control de los niveles de bacterias e incluso podrían tener implicaciones en el ciclo del carbono.

Actualmente se conoce que las microalgas y las bacterias interactúan. Ha habido estudios al respecto debido a los efectos de inhibición y estimulación del crecimiento, estos efectos pueden ser de la bacteria hacia la microalga o viceversa.

Algas

Las interacciones empiezan cuando las bacterias colonizan la superficie de las raíces, esta colonización se desarrolla en dos etapas. La primera es una adsorción reversible, rápida y débil, la segunda consiste en un anclaje lento pero firme e irreversible, al final la bacteria puede colonizar tejidos internos y moverse por los vasos del xilema y el floema, así pueden establecerse en los espacios intercelulares sin causar daño, y así llevar a cabo el proceso de fijación del nitrógeno que resulta beneficioso para la nutrición vegetal.

Existen distintas vías de acción que aunque no han sido dilucidadas completamente todavía se han aceptado por el momento algunas vías de acción:

- Fijación del nitrógeno: Esto contribuye a la nutrición de la planta.
- Efectos hormonales: Promueven el metabolismo y el crecimiento vegetal
- Incremento en el crecimiento de las raíces: Genera una mayor absorción de agua y minerales
- Alteración de la membrana: Varía su funcionamiento por medio de moléculas de comunicación celular.

Valoraremos ahora las interacciones positivas de esta simbiosis:

En 1988 los primeros estudios al respecto llevados a cabo por Cole et al. Se analizaron setenta estudios sobre la relación existente entre la productividad primaria y diversos parámetros del bacterioplancton en sistemas marinos y dulceacuícola, detectando una correlación positiva entre la abundancia de bacterias y fitoplancton. Estudios más actuales reafirman esta teoría, además señalan que esta relación bacterioplancton con bacterias depende de variables estacionales, parámetros físico-químicos y biológicos (Ducklow 1999). Estos factores pueden actuar o bien de forma separada o bien interrelacionados, debido a esto habrá una mayor o menor disponibilidad de carbono orgánico en ecosistemas acuáticos, por lo cual sabemos que las bacterias son los principales responsables de la mineralización de carbono orgánico e intermediarios de estos en la cadena trófica.

La presencia constante de bacterias asociadas al fitoplancton es considerado un fenómeno natural, pero estudios realizados (Riquelme et al.) han puesto en evidencia que la mayor densidad de bacterioplancton siempre va después de la máxima producción de fitoplancton, esto lleva a la hipótesis que este aumento bacteriano se produce por la utilización del fitoplancton muerto y detritus. Debido a todo esto

debemos considerar en el momento de estudiar las interrelaciones microbianas en los ecosistemas acuáticos que los componentes del fitoplancton influyen la bacterioflora asociada, mientras que la densidad bacteriana se correlaciona con la abundancia del fitoplancton.

Tabla 4.1: Tipos de interacciones bacteria-microalga descritas en la literatura

	Microorganismo	Actividad	Especie afectada
MICROALGAS	<i>Asterionella gracilis</i>	Promotora	<i>Pseudomonas</i> sp., <i>Vibrio</i> sp.
	<i>Skeletonema costatum</i>	Promotora	<i>Vibrio</i> sp., <i>Flavobacterium</i> sp., <i>Aeromonas</i> sp., <i>Plesiomonas</i> sp.
	<i>Chattonella marina</i>	Antibacteriana	<i>Pseudomonas</i> .
	<i>Skeletonema costatum</i>	Antibacteriana	<i>Vibrio</i> sp., <i>Listonella anguillarum</i> , <i>Vibrio fisheri</i> .
	<i>Tetraselmis suecica</i>	Antibacteriana	<i>Listonella anguillarum</i> , <i>Vibrio alginolyticus</i> , <i>Vibrio salmonicida</i> , <i>Vibrio vulnificus</i> , <i>Vibrio</i> sp.
	<i>Chlorella</i> sp.	Antibacteriana	<i>Vibrio harveyi</i> .
BACTERIAS	<i>Flavobacterium NAST</i>	Promotora	<i>Asterionella gracilis</i> .
	<i>Vibrio</i> sp. <i>Pseudomonas</i> sp. <i>Arthrobacter</i> sp.	Promotora	<i>Isochrysis galbana</i> .
	<i>Pseudomonas</i> sp. <i>Xanthomona</i> sp. <i>Flavobacterium</i> sp.	Promotora	<i>Oscillatoria</i> sp.
	<i>Pseudoalteromonas peptidysin</i>	Algicida	<i>Gymnodinium catenarum</i> , <i>Chattonella marina</i> , <i>Heterosigma akashiwo</i> .
	<i>Saprospira</i> sp.	Algicida	<i>Isochrysis</i> sp., <i>Chaetoceros</i> sp.
	<i>Cytophaga</i> sp.	Algicida	<i>Chattonella antiqua</i> .
	<i>Flavobacterium</i> sp.	Algicida	<i>Gymnodinium nagasakiense</i> , <i>Chattonella antiqua</i> , <i>Chattonella marina</i> .

Algas

Ahora valoraremos las interacciones negativas.

Se pueden separar dependiendo del comportamiento de las interacciones entre las bacterias y el fitoplancton en el ecosistema marino en dos tipos, resumidos en esta tabla y que posteriormente desarrollaremos.

- **Antagonismo bacteriano:** Al analizar las fluctuaciones en la cantidad de partículas virales durante un bloom (gran concentración de células de fitoplancton) de fitoplancton se detectó un rápido incremento en la abundancia de partículas virales justo después de la máxima abundancia de bacterias (Bratbak et al. 1990). Estos fenómenos han sido confirmados en el laboratorio (Suttle 1992), quien al adicionar un virus al fitoplancton observó una significativa reducción de la biomasa del fitoplancton.

En estudios posteriores se ha llegado a averiguar que estos procesos de lisis e inhibición de las algas por bacterias, o creación de virus por ellas son específicos, es decir, que cada bacteria produce lisis de algunas diatomeas y produce un rápido crecimiento en otras. De esta forma se llega a la conclusión que las bacterias son uno de los agentes controladores de la sucesión y estructuras del fitoplancton y los ecosistemas marinos.

- **Antagonismo microalgal:** Algunas microalgas, principalmente las diatomeas, son inhibidoras de algunas bacterias y afectan a su composición. La mayoría de los experimentos se han hecho con cultivos microalgales no axénicos (axénico: se desarrolla en un ambiente sin ningún otro ser vivo) por lo cual la capacidad inhibitoria de las microalgas sería provocada por la bacterioflora asociada a las mismas.

Este tipo de interrelaciones de este tipo son originadas al comienzo por la competencia por nutrientes y después derivan en antagonismo e interferencia (Fredrickson & Stephanopoulos, 1981). De esta forma, los microorganismos evolucionan desarrollando mecanismos de producción de sustancias con actividad antibiótica, manteniendo así la dinámica y estructura de la población de bacterias en los microambientes algales.

Esta relación de mutualismo entre fitoplancton y bacterias, mediante la producción y consumo de carbono orgánico extracelular, se rompe en condiciones limitantes de

nutrientes (Aota & Nakajima 2001). Por ejemplo, cuando un nutriente es limitante, las bacterias compiten con el fitoplancton provocando un incremento de la tasa de mortalidad del fitoplancton.

4.4 Problemas medioambientales

Las algas no tienen una reglamentación específica sobre su vertido al medio ambiente ya que es un vertido muy poco común. Pero hay problemas y beneficios de las algas en el medio acuático marino o continental, por lo que estudiaremos las implicaciones de las algas en estos medios y el contenido de algunos efluentes que pueden favorecer la proliferación de algas.

El mayor problema actual, en las aguas continentales sobre todo, es el proceso de eutrofización. Este proceso se debe a un exceso de nutrientes en las aguas, lo que provoca un crecimiento masivo de cianobacterias (microalgas), esto conlleva un consumo mayor de O_2 y la vida que hay hasta ese momento se va viendo reducida hasta el punto en que desaparece. Al final del proceso de eutrofización podría llegar a desaparecer el agua ya que no existe la suficiente cantidad de bacterias para alimentarse de las microalgas y estas se van muriendo y depositando en el fondo hasta que eliminan el agua por completo. El proceso de crecimiento de algas por el que se da la eutrofización se ve favorecido por todos los vertidos que contienen un alto contenido en nitrógeno y fósforo que son los elementos que en una alta concentración provocan un desarrollo rápido de las microalgas.

4.4.1 Problemas de las microalgas en los ambientes acuáticos

- Suponen un gran problema en el tratamiento para potabilizar aguas. El agua recogida de los ríos o de los lagos para su posterior potabilización está, en algunos casos, contaminada por microalgas. Esto provoca que tenga que haber un tratamiento para su eliminación, ya que si no se eliminan puede que haya atascos en bombas, deterioro y taponamientos de filtros, problemas en

Algas

el olor y sabor de las aguas. Lo que conlleva un aumento en el costo del tratamiento de potabilización.

- Las microalgas degradan los ambientes en los que están, creando una especie de espuma verde en la superficie reduciendo su posible uso recreativo y confiriéndole un aspecto de suciedad y contaminación, además generan un olor desagradable parecido al de los insecticidas.
- Provocan falta de oxígeno en los ambientes en los que se encuentran en grandes cantidades provocando la muerte de animales y otras plantas. Reduciendo la diversidad del ambiente en el que se encuentran.
- Algunas microalgas tienen un potencial tóxico alto sobre la salud humana. La anatoxina es neurotóxica, es bloqueante neuromuscular, pero si están purificadas y concentradas pueden producir parálisis cardio-respiratoria. Las hepatotóxicas afectan al hígado por estancamiento de la sangre pudiendo llegar a producir un coma hepático.

Estos efectos no son siempre así. Si las toxinas están en su estado natural y en bajas concentraciones pueden ser inofensivas, como mucho producirán síntomas como diarrea, vómito, fiebre, malestar general. Se cree que pueden llegar a ser cancerígenas a largo plazo aunque no está demostrado. El problema para controlar esta toxicidad es que no se conocen las condiciones en las que son tóxicas, depende de factores fisiológicos, genéticos y ambientales.

Además de para los humanos las cianobacterias producen sustancias letales para el ganado y otro tipo de animales. Las hepatotoxinas y neurotoxinas no son solo extremadamente nocivas para los vertebrados sino también para los invertebrados diminutos que viven en los lagos y las charcas. Estos organismos son los depredadores habituales de las cianofeas, y así como algunas plantas vasculares eliminan taninos, fenoles, esteroides y alcaloides para defenderse de la depredación, las cianofeas sintetizan venenos para protegerse de las especies que pueden competir con ellas o sus depredadores.

4.4.2 Beneficios de las microalgas en los ambientes acuáticos

Algas

- Las cianofeas se utilizan en la alimentación, sobre todo en campos inundados para el cultivo de algunas plantas como el arroz, como biofertilizantes. Estas mejoran las condiciones del suelo y regulan el crecimiento de plantas superiores. Estas algas constituyen una fuente de nitrógeno ya que poseen la capacidad fisiológica de utilizar el nitrógeno del aire para la producción de sus proteínas y otros compuestos nitrogenados.

Es un método muy atrayente sobre todo para los grandes países productores de arroz, porque al realizar una siembra de cianofeas en suelos húmedos el coste económico que supone es casi cero y el impacto ambiental nulo, gracias a su fijación biológica.

- La espirulina es un microalga que se cultiva, sobre todo en Estados Unidos, Canadá, China y Japón. Es un alga fotosintética, pluricelular, minúscula (longitud menor a un milímetro), y de color verde-azulado que se encuentra generalmente en aguas saladas. Se utiliza como complemento alimentario gracias a su alto contenido en proteínas (digerimos el 95% de su valor proteico), aminoácidos, vitaminas. Ácidos grasos esenciales y sales minerales.

También se utiliza como alimento, e incluso como medicina en Japón el microalga *Chlorella* (2 a 10 micras). Es el alimento con mayor porcentaje de clorofila del planeta y uno de los más completos (45% proteínas, 20% grasa, 20% carbohidratos, 5% fibra, 10% minerales y vitaminas). Pero a pesar de todos estos beneficios esta alga es sobre todo conocida por eliminar toxinas del cuerpo. Tiene la capacidad de desintoxicación del hígado, los intestinos y la sangre. Por esto los científicos japoneses han utilizado esta alga para acelerar la evacuación de metales pesados del cuerpo humano.

- Actualmente se están siguiendo nuevas líneas de investigación para el aprovechamiento de microalgas. Una de ellas es la utilización de microalgas para la obtención de biodiesel y/o plásticos ya que a estas algas se las conoce en este ámbito como 'carbón limpio'. Los estudios realizados hasta el momento han sacado a la luz que la misma cantidad de microalgas genera 30

Algas

veces más biodiesel que la misma cantidad de los compuestos actualmente utilizados, además este biodiesel de algas no contiene sulfuros ni sulfatos, no es tóxico y es altamente biodegradable.

Algas

5 Metodología

5.1 Instalación experimental

Para comenzar se van a definir los elementos empleados en la realización del ensayo de este proyecto por separado.

5.1.1 Reactor Batch

Los ensayos se realizaron en reactores Batch, que son frascos de vidrio de 250 ml ó de 500 ml. Se utilizaron los de 500 ml.



Figura 5.1: Reactores batch

5.1.2 Fotobiorreactor

Las microalgas necesitan un aporte de luz continuo, para ello introducimos los reactores Batch en un fotobiorreactor, que consiste en un recipiente de metacrilato

Metodología

iluminado mediante cuatro fluorescentes que proporcionan la luz blanca necesaria. Las muestras están colocadas sobre un agitador magnético ya que necesitan estar agitándose continuamente, para lo cual se introducen unos imanes en el interior de los reactores.

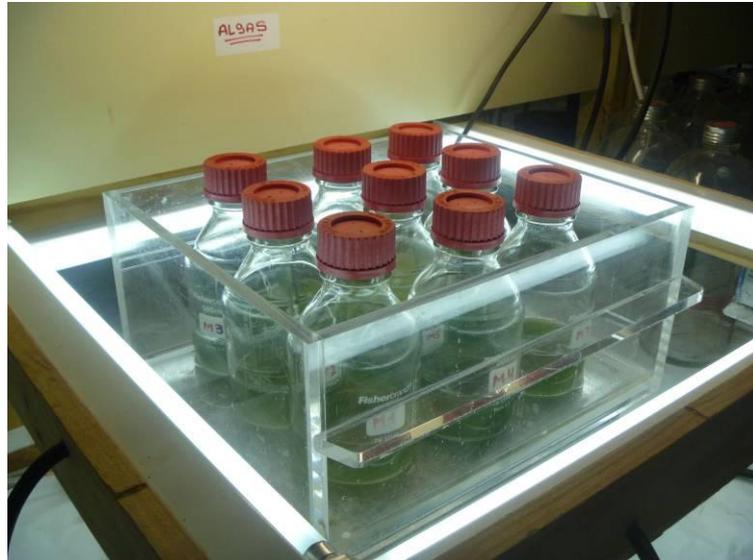


Figura 5.2: Fotobiorreactor



Figura 5.3: Reactores batch con la muestra y el agitador magnético de fondo

5.1.3 Método de extracción de muestras

Las muestras se extrañ mediante una pipeta de 25 mL de boca ancha. Durante la extracción las muestras permanecían abiertas, agitadas, se les corregía el pH y se volvían a cerrar.

5.2 Las técnicas analíticas

Todas las técnicas empleadas son realizadas según los métodos que aparecen en el Standard Methods (APHA, 1995).

5.2.1 pH

La medida de pH se realiza con un pHmetro modelo microPH 2002 de CRISON de alta resolución que dispone de un electrodo combinado pH INGOLD.

Gracias a un sistema autocalibrante, el microPH 2002 reconoce automáticamente las soluciones tampón pH 7.02, 4.00, 2.00 y 9.26 (a 20°C).

Para su determinación se introduce el electrodo directamente en la muestra para evitar alteraciones ligadas al paso del tiempo, por transferencia de componente de la fase líquida a la fase gaseosa.



Figura 5.4: *microPH 2002 CRISON y electrodo pH INGOLD*

5.2.2 N-NH₄⁺

El nitrógeno amoniacal fue medido mediante un medidor de electródo selectivo modelo Thermo Scientific Orion DUAL STAR™ pH/ISE Meter y un electródo selectivo de amoniaco marca Thermo. El electródo tiene en la base una membrana hidrofóbica y permeable al gas que separa la muestra, que tiene que ser líquida, de la solución de llenado. Para la medición se requieren 50 mL de muestra, a la que habrá que añadir 1 mL de reactivo ISA para elevar el pH. El electrodo realiza la medición y obtenemos una respuesta en ppm. Previamente hay que realizar una recta de calibrado nueva cada día de medición, para ello se preparan patrones con una concentración en ión amonio que esté en los límites, y dentro del rango de la concentración que tendrán nuestras muestras, con ellos el medidor hará una autocalibración.

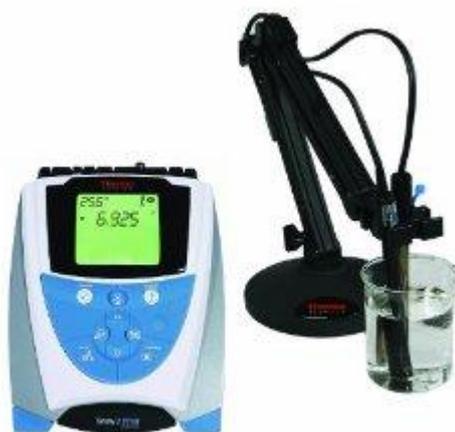


Figura 5.5: Thermo Scientific Orion DUAL STAR™ pH/ISE Meter y un electródo selectivo

5.2.3 Fósforo

El análisis de fosfatos incluye dos pasos generales en los métodos:

- Conversión de la forma fosfatada en ortofosfato disuelto.
- Determinación colorimétrica del ortofosfato disuelto.

El Método que se utiliza para la determinación de fósforo es el Método Colorimétrico del ácido vanadomolibdofosfórico.

Metodología

En una disolución diluida de ortofosfato, el molibdato amónico reacciona en condiciones ácidas para formar un heteropoliácido, ácido molibdofosfórico. En presencia de vanadio, se forma ácido vanadomolibdofosfórico amarillo. La intensidad del color amarillo es proporcional a la concentración de fosfato.

Hay dos formas por las que se pueden realizar medidas de fósforo, a partir de cenizas o directamente a partir de la muestra. Para ambas formas se necesitan unos reactivos. En este caso tres disoluciones:

- SOLUCIÓN 1: Se disuelven 25 g de amonio molibdato en 300 ml de agua destilada.
- SOLUCIÓN 2: Se disuelven 1,25 g de amonio metavanadato en 300 ml de agua destilada y se calienta hasta ebullición. Una vez se enfría se añaden 330 ml de HCl (35%-37%) y se deja enfriar de nuevo
- SOLUCIÓN PATRÓN: Se mezclan la solución 1 con la solución 2 y se enrasa a un matraz de 1 L.

La primera posibilidad de medición de fósforo se realiza pesando 0,1 g de cenizas de la muestra ya calcinada y se le añaden 10 ml de HCl (1:1). Se diluye con agua destilada y se deja agitando en torno a 30 minutos. A continuación se filtra a vacío y el filtrado se enrasa en un matraz de 100 ml con agua destilada. Dependiendo de la concentración de nuestra muestra se hace necesario diluirla de nuevo. (Esto se comprueba experimentalmente).

La segunda posibilidad de medición es además la segunda parte del proceso de medición de la primera posibilidad, ya que no es necesario hacer cenizas para medir fósforo si la muestra es líquida y prácticamente incolora. Ésta posibilidad empieza añadiendo a tubos de ensayo de 25 ml; 14 ml de muestra, 4 ml de solución patrón y 2 ml de agua destilada. Hay que preparar un patrón con 16 ml de agua destilada y 4 ml de solución patrón.

Tras preparar las muestras introducimos éstas en el espectrofotómetro dónde, tras realizar una recta de calibrado [anexo2](#) obteniéndose el resultado en ppm.



Figura 5.6: *espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 25*

5.2.4 Nitritos, Nitratos y CT, CI, COT

Los análisis correspondientes a nitratos, nitritos, carbono orgánico total, carbono orgánico y carbono inorgánico se realizaron en laboratorio del Centro de Investigación del Medio Ambiente (CIMA), perteneciente a la Consejería de Medio Ambiente del Gobierno de Cantabria.

5.2.5 Sólidos suspendidos (SS)

Se miden SS en las microalgas para conocer el crecimiento que han tenido. Los SS fueron medidos por filtración y secado siguiendo los siguientes pasos:

Se preparan los filtros, para ello después de pasar a través de allos una pequeña cantidad de agua destilada, se introducen en la mufla a 500 °C durante 30 minutos.

- Se dejan enfriar en un desecador.
- Una vez frío se pesa (P1).
- Se filtran 50 ml de la muestra.
- Una vez filtrado se introduce en la estufa (P-selecta) el filtro con los sólidos que han quedado retenidos a 102 °C durante 2 horas.

Metodología



Figura 5.7: Estufa P-selecta

- Se dejan enfriar en un desecador.
- Una vez frío se pesa (P2).
- Se introduce en la mufla (HerónHK-11) a 550 °C durante 2 horas.



Figura 5.8: Mufla HerónHK-11

Metodología

- Se dejan enfriar en el desecador.
- Una vez frío se pesa (P3).
- Cálculos:

$$(1000/V_{\text{muestra}})*(P2-P1) = SST$$

$$(1000/V_{\text{muestra}})*(P2-P3)=SSV$$

6 Cálculos y resultados

6.1 Caracterización de la alimentación

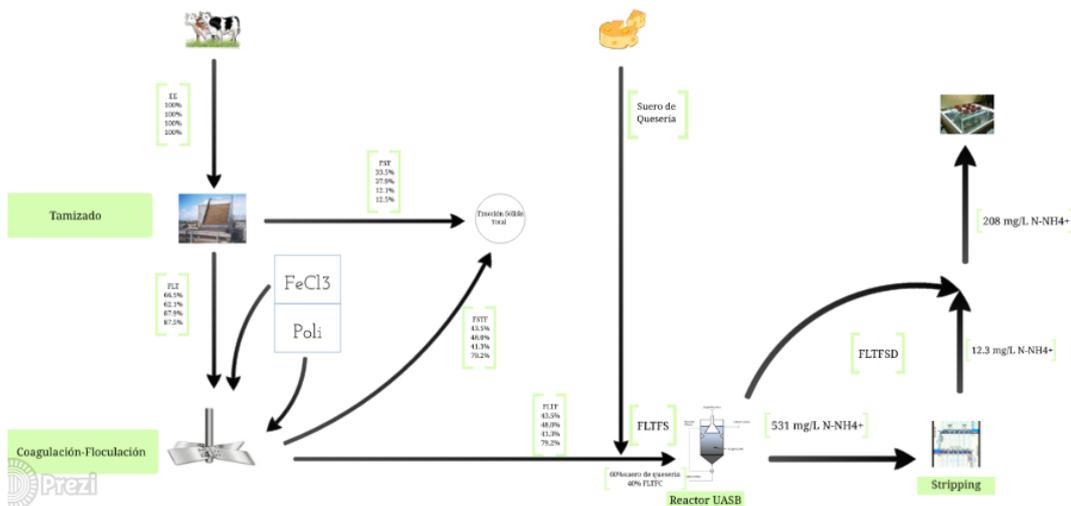


Figura 6.1: Esquema del proceso de pulido del estiércol para ser alimentación de las microalgas

La alimentación que se utilizó en el ensayo, fue el efluente (FLTFSD) procedente de la codigestión, en un reactor UASBn que operó a 35°C con un THR (tiempo hidráulico de retención) de 1.3 días, de la FLTF y suero de quesería en una relación en porcentaje de masa de 40/60, respectivamente.

Para la obtención de la FLTF de la alimentación del reactor el estiércol de vacuno sufrió un proceso de eliminación de sólidos en suspensión. Este proceso comenzó con un tamizado para obtener la FLT. Después la FLT se sometió a un proceso de coagulación-floculación, para separar los sólidos más finos, con un tamaño superior a las 0.25 micras, de la fracción líquida. El FLTF resultante junto con el suero de quesería fue introducido en el reactor UASB donde se eliminó la materia orgánica biodegradable, produciéndose metano obteniéndose los siguientes resultados en el proceso de tratamiento anaerobio.

Cálculos y resultados

Tabla 6.1: Características del Afluente, Efluente y condiciones operación reactor UASB

AFLUENTE	
pH	6,35
DQO _T	35628
DQOs	33547
DQOf	30947
DQO _(AGV)	2751
AB	512
AV	3911
AB/AT	0,12
ST	35,04
SV	26,71
SV/ST	0,77
N-NH ₄	435
N-NKT	1209
P _t (mg/Kg)	271
EFLUENTE	
pH	7,9
DQOT	1457
DQOs	1238
DQOf	967
DQO _(AGV)	74
AB	8414
AV	0
AB/AT	1,00
ST	6,71
SV	1,72
SV/ST	0,25
N-NH ₄	682
N-NKT	822
P _t (mg/Kg)	185
CONDICIONES OPERACIÓN	
THR	2,17
Bv	16,4
Bv eliminada	15,8
% Dep.DQO	95,9
% Dep.DQOs	96,3
% Dep.DQOf	96,9
% Dep SV	93,4
LCH4/g DQOeli	0,354
LCH4/g SVeli	0,492
LCH4/g DQO	0,339
LCH4/g SV	0,458
LCH4/(L·d)	5,57
%CH4	58,2

Para su caracterización se analizó el N-NH₄⁺, siendo su concentración de 682 mg/L. ya que el N-NH₄⁺. Para alcanzar una concentración adecuada de nitrógeno amoniacal se sometió al efluente a una proceso parcial de eliminación mediante stripping, para reducir su concentración y obtener una alimentación para el cultivo de microalgas con una concentración adecuada para facilitar su asimilación evitando problemas de toxicidad.

Cálculos y resultados

Después del stripping el efluente tratado se mezcló en la proporción adecuada con efluente sin tratar para obtener una concentración próxima a las 200 mg N-NH₄⁺/L, quedando el FLTFSD con una concentración en N-NH₄⁺ de 208 mg/L. La concentración de fósforo fue 13 mg/L.

6.2 Diseño estadístico de experimentos

El diseño de experimentos se realizó mediante el programa estadístico STATGRAPHICS (versión 4.0) para la evaluación del efecto entre las concentraciones de N-NH₄⁺ y la concentración inicial de en durante su crecimiento.

Dentro del programa se seleccionó la opción Response Surface, y central Composite 2²+star, con un resultado de 10 muestras, siendo 2 de ellas las muestras centrales. Las variables independientes fueron el porcentaje de FLTFSD (%FLTFSD/ (FLTFSD+H₂O)) y la concentración inicial de SS de microalgas. Los límites que se definen para la primera de ellas fueron 20% y 50% respectivamente y resultando otros 2 puntos axiales, cuyos valores fueron 13,8% y 56,21%. Para los SS iniciales de las microalgas los valores límites que se definieron fueron 10 mg/L y 30 mg/L, mientras que los puntos axiales resultantes fueron 5,86 mg/L y 34,14 mg/L. Quedando representados gráficamente de la siguiente forma.

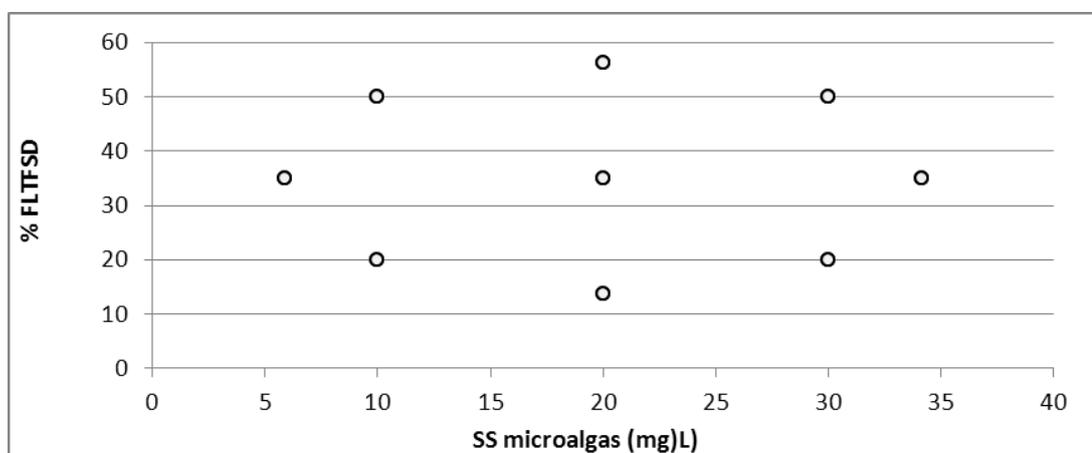


Figura 6.2: Representación condiciones diseño

Para el experimento se introdujeron distintas cantidades de FLTFSD, estas cantidades y la cantidad de microalgas introducidas, dependieron del porcentaje de

Cálculos y resultados

FLTFSD y concentración de inóculo que el diseño de experimentos fijó, quedando los valores por muestra mostrados en la siguiente tabla.

Tabla 6.2: Concentraciones de $N-NH_4^+$ y el P en cada muestra

MUESTRA	$N-NH_4^+$ (mg/L)	P(mg/L)	$N-NH_4^+$ (mg)	P(mg)
M1	119,09	7,34	48	2,94
M2	105,93	6,51	42	2,60
M3	105,93	6,56	42	2,62
M4	74,15	4,59	30	1,84
M5	29,21	1,84	12	0,74
M6	74,15	4,56	30	1,82
M7	74,15	4,62	30	1,85
M8	42,34	2,62	17	1,05
M9	74,15	4,59	30	1,84
M10	42,37	2,67	17	1,07

6.3 Ensayo

El ensayo consistió en introducir en reactores batch, los cuales tuvieron una iluminación diaria de 18 horas manteniéndose sin luz durante 6 horas por la noche , tanto la alimentación como las microalgas se introdujeron en las cantidades que dictó el ensayo de experimentos (tabla 6.4). Teniendose por lo tanto ocho muestras distintas, todas ellas por duplicado con disposición en estrella y dos muestras centrales. Los valores de los parámetros representados en todas las tablas para las muestras no centrales son las medias de las dos muestras duplicadas empleadas durante el proyecto.

Cálculos y resultados



Figura 6.3: Ejemplo de dos muestras en los reactores batch



Figura 6.4: Muestras del ensayo en el fotobiorreactor

Cálculos y resultados

En estas tablas se reflejan las cantidades introducidas en los reactores batch.

Tabla 6.3: *Cantidades de la alimentación en los reactores batch*

MUESTRA	Vrecipiente (ml)	FTLFSD %	FLTFCD (ml)	Inóculo (mgSSV/L)	Inóculo (mL)	VOLUMEN (ml)
M1	600	56,21	224,9	20	7,27	400
M2	600	50	200	10	3,64	400
M3	600	50	200	30	10,91	400
M4	600	35	140	20	7,27	400
M5	600	13,8	55,1	20	7,27	400
M6	600	35	140	5,86	2,13	400
M7	600	35	140	34,14	12,42	400
M8	600	20	80	10	3,64	400
M9	600	35	140	20	7,27	400
M10	600	20	10,91	30	10,91	400

Una vez que se introdujeron el inóculo de las microalgas y la alimentación en los reactores, éstos se cerraron y comenzó el ensayo. Se tomaron muestras de 25 ml cada 3-4 días del interior de los reactores con una pipeta de boca ancha sin detenerse la agitación y analizándose en cada muestra el pH, $N.NH_4^+$, SS, NO_2^- , NO_3^- , CT, CO y CI. El P se estudió únicamente al inicio y al final del estudio.

Después de la medida del pH, en caso de valores mayores de 8, éste fue corregido diariamente hasta valores por debajo de 8, obteniéndose los siguientes resultados.

Cálculos y resultados

Tabla 6.4: Evolución del pH de las muestras durante el transcurso del ensayo

DÍA	pH						
	0	4	7	11	14	18	21
M1	7	7,4	7,4	9,4	10,1	9,4	8,9
M2	7	7,3	7,9	9,5	10,3	10,0	9,4
M3	7	7,6	7,8	9,6	10,3	9,7	9,7
M4	7	7,3	7,9	10,1	10,4	7,9	7,7
M9	7	7,4	8,1	10,3	10,3	7,8	7,7
M5	7	8,3	9,2	11,0	10,9	10,6	9,6
M6	7	8,1	8,2	10,0	9,8	10,7	10,8
M7	7	8,3	8,4	10,0	10,4	10,2	8,4
M8	7	8,3	8,9	9,6	11,0	11,2	11,0
M10	7	9,0	9,3	9,2	10,9	10,6	10,8

El pH fue aumentando con el transcurso de los días.

Las concentraciones de nitrógeno amoniacal, medido por electrodo selectivo, se muestran en la siguiente Tabla 6.5.

Tabla 6.5: Evolución del $N-NH_4^+$ (mg/L) durante el transcurso del ensayo

DÍA	$N-NH_4^+$ (ppm)						
	0	4	7	11	14	18	21
M1	119	80	11	2,4	2,0	<1	<1
M2	105	73	27	<1	<1	<1	<1
M3	105	36	3,2	<1	1,8	<1	<1
M4	74	45	5,0	<1	<1	<1	<1
M9	74	39	3,9	<1	<1	<1	<1
M5	29	12	3,5	<1	<1	<1	<1
M6	74	37	0,8	<1	<1	<1	<1
M7	74	40	0,7	1,6	<1	<1	<1
M8	42	14	8,9	5,8	1,3	<1	<1
M10	42	12	5,0	3,8	<1	2,0	<1

El nitrógeno en forma de amonio fue disminuyendo debido a que se produjo una oxidación continua a nitritos, nitratos y utilización en las reacciones de síntesis de las microalgas.

Los SS se midieron mediante filtración y secado, mostrándose los resultados en la siguiente tabla.

Cálculos y resultados

Tabla 6.6: Valores de los SS medidos por filtración durante el transcurso del ensayo

DIA	SS Filtración y secado (ppm)						
	0	4	7	11	14	18	21
M1	20	91	159	363	461	514	510
M2	10	31	83	339	486	538	543
M3	30	91	165	484	630	670	744
M4	20	26	116	381	634	724	734
M9	20	25	127	363	619	708	721
M5	20	24	96	313	284	358	395
M6	6,0	31	105	416	537	638	722
M7	34	67	153	343	474	498	510
M8	10	33	117	377	572	664	652
M10	30	80	205	236	375	500	499

Los SS nos indican el crecimiento en el cultivo de microalgas a lo largo del ensayo, por eso aumenta progresivamente.

Los valores de las concentraciones de CT, CI, COT, N-NO₂⁻ y N-NO₃⁻, determinados en el laboratorio del CIMA, fueron los siguientes durante el transcurso del ensayo.

Tabla 6.7: Evolución del CT durante el transcurso del ensayo

DIA	CT (ppm)						
	0	4	7	11	14	18	21
M1	756	664	554	458	324	308	268
M2	714	624	508	386	282	250	232
M3	432	416	454	350	280	260	234
M4	674	556	346	258	186	212	200
M9	668	542	628	264	193	204	192
M5	258	216	158	98	84	90	82
M6	504	414	308	232	186	144	120
M7	528	398	316	234	184	122	126
M8	280	224	168	100	64	58	52
M10	290	234	182	138	72	62	52

Cálculos y resultados

Tabla 6.8: Evolución del CI durante el transcurso del ensayo

DIA	CI (ppm)						
	0	4	7	11	14	18	21
M1	504	420	338	288	190	164	138
M2	496	436	348	240	150	118	102
M3	310	304	316	246	168	138	108
M4	554	394	236	158	94	100	106
M9	554	386	224	169	101	89	111
M5	186	134	90	24	15,8	9,2	11
M6	376	278	202	130	94	52	32
M7	382	288	218	144	96	58	48
M8	220	174	124	62	22	9,4	3,4
M10	214	172	128	90	30	17	6,0

Tabla 6.9: Evolución del CO durante el transcurso del ensayo

DIA	CO (ppm)						
	0	4	7	11	14	18	21
M1	270	244	216	170	134	144	130
M2	236	188	160	146	132	132	130
M3	124	112	138	104	112	122	126
M4	216	162	110	100	92	112	94
M9	216	156	404	95	92	115	81
M5	108	82	68	74	68	80	70
M6	180	136	106	102	92	92	88
M7	128	110	98	90	88	64	78
M8	58	50	44	38	42	48	48
M10	72	62	54	48	42	45	46

Tabla 6.10: Evolución del N-NO₂⁻ durante el transcurso del ensayo

DIA	N-NO ₂ ⁻ (ppm)						
	0	4	7	11	14	18	21
M1	1,3	2,0	30	57	52	44	<1
M2	<1	1,6	32	54	34	33	24
M3	<1	2,7	19	53	37	8,1	<1
M4	1,8	2,9	41	33	21	15	11
M9	1,8	3,4	38	36	23	17	12
M5	1,5	2,1	7,1	6,6	3,3	<1	<1
M6	<1	1,3	42	39	17	15	15
M7	2,0	3,3	35	23	11	14	5,0
M8	<1	1,0	1,4	1,7	1,8	<1	<1
M10	2,8	3,1	2,5	3,8	3,8	<1	<1

Cálculos y resultados

Tabla 6.11: Evolución del $N-NO_3^-$ durante el transcurso del ensayo

DIA	N-NO ₃ ⁻ (ppm)						
	0	4	7	11	14	18	21
M1	0	2,2	14	86	16	4,6	36
M2	0	1,8	36	50	24	16	18
M3	0	<1	63	40	12	25	19
M4	0	2,3	48	27	5,4	7,2	9,9
M9	0	2,5	45	22	4,4	6,9	11
M5	0	1,8	6,4	7,9	1,1	<1	<1
M6	0	<1	14	24	14	6,9	3,0
M7	0	2,2	12	30	10	<1	3,6
M8	0	<1	1,4	1,7	<1	<1	<1
M10	0	1,6	3,2	3,2	1,7	<1	<1

Tabla 6.12: Valores Iniciales y finales del fósforo

MUESTRA	Pt(ppm)i	Pt(ppm)f
M1	7,3	3,4
M2	6,5	2,1
M3	6,5	0,81
M4	4,6	2,18
M9	4,6	2,3
M5	1,8	0,13
M6	4,5	0,96
M7	4,6	0,59
M8	2,6	0,32
M10	2,6	0,42

Tabla 6.13: Valores iniciales y finales de los SS en las microalgas

MUESTRA	Microalgas (ppm) SS(i)	Microalgas (ppm) SS(f)	Microalga (mg) SS(i)	Microalgas (mg) SS(f)
M1	20	510	8	204
M2	10	543	4	217
M3	30	744	12	297
M4	20	734	8	293
M9	20	721	8	288
M5	20	395	8	158
M6	6	722	2	288
M7	34	510	13	204
M8	10	652	4	260
M10	20	499	12	199

6.4 Análisis de Resultados

Se comienza analizando los resultados de estudio por separado. Primero se hizo un estudio de las muestras con la misma concentración inicial de microalgas, posteriormente se hizo de las muestras con el mismo % inicial de FLTFSD, obteniéndose los siguientes resultados.

6.4.1 Evolución del Carbono Inorgánico en las muestras durante el ensayo

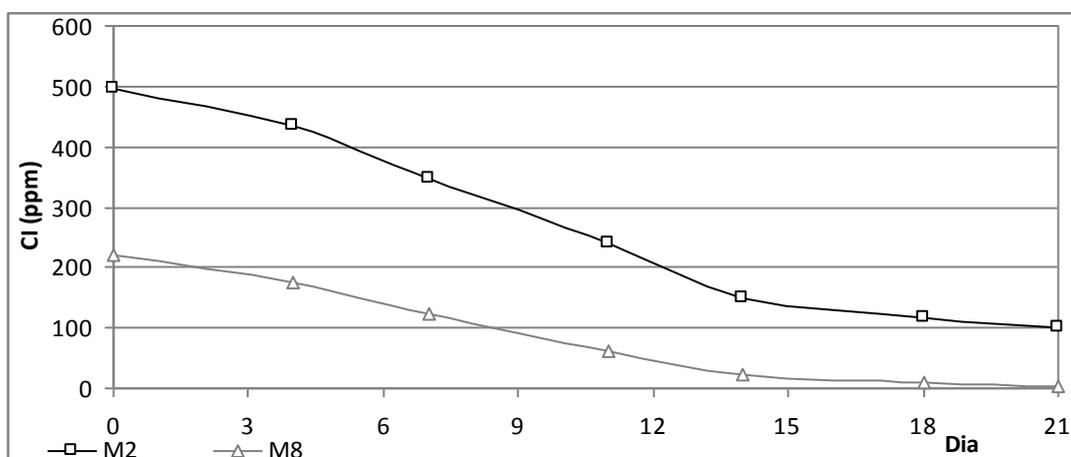


Figura 6.5: Evolución de la concentración de CI para muestras con 10 mg SS/ inicial

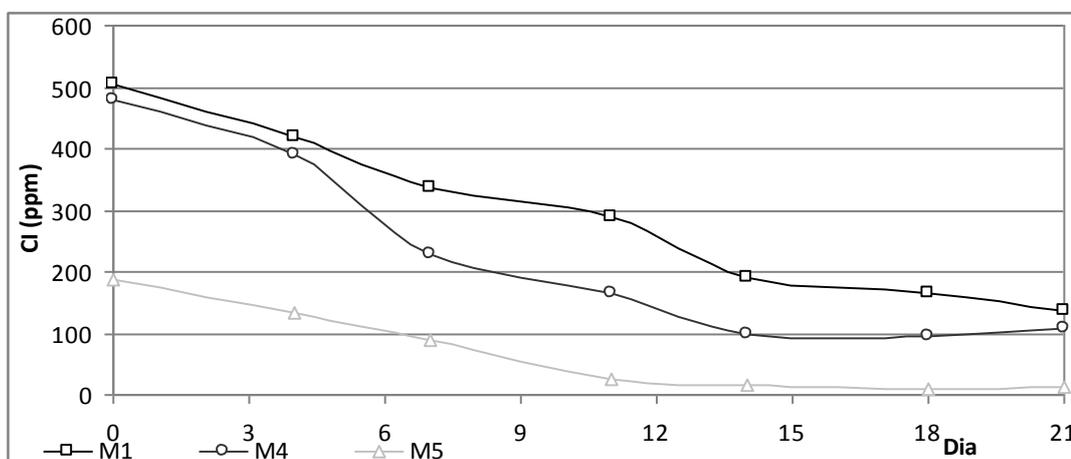


Figura 6.6: Evolución de la concentración de CI para para muestras con 20 mg SS/inicial

Cálculos y resultados

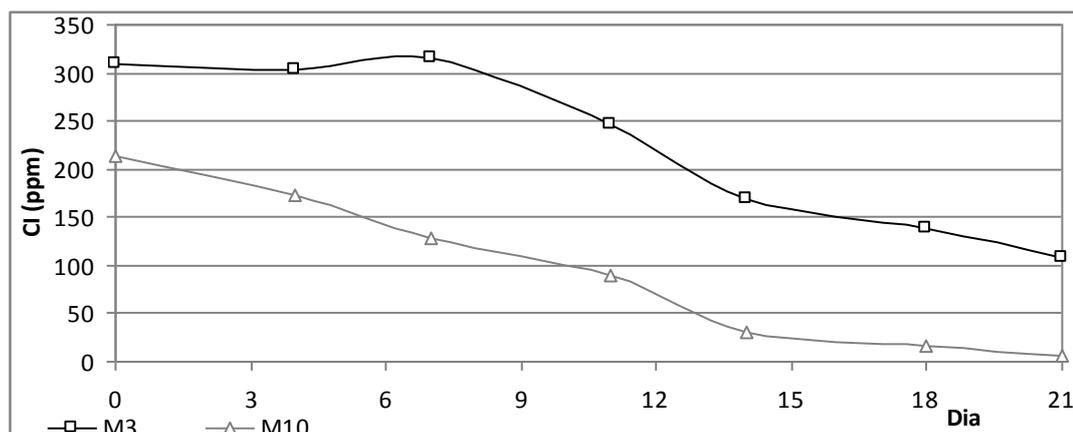


Figura 6.7: Evolución de la concentración de CI para muestras con 30 mg SS/inicial

El carbono inorgánico es el carbono debido al CO_2 en forma asociada o libre y es la fuente de carbono para las microalgas. En las Figuras 6.11, 6.12 y 6.13 se observa que la concentración del CI descendió debido a su consumo por parte de las microalgas. Se observa que la concentración inicial de microalgas no influye en su consumo ya que, si bien es cierto que en las muestras con un menor porcentaje de FLTFSD la concentración de carbono inorgánico disminuyó hasta prácticamente cero, el consumo fue prácticamente similar. Esto se observa mejor en las gráficas 6.14, 6.15 y 6.16 en las que el % de FLTFSD en la alimentación es el mismo e independientemente del valor de la concentración inicial de microalgas los valores de todas estas muestras alcanzan prácticamente el mismo valor final.

La única producción de CO_2 y por lo tanto de CI se debe a la respiración de las microalgas, al tratarse de un sistema en discontinuo cerrado e iluminado durante 18 horas al día la concentración de CI debe disminuir, ya que su consumo en la fotosíntesis es siempre superior a su producción durante la respiración, excepto en las horas nocturnas de no iluminación.

Cálculos y resultados

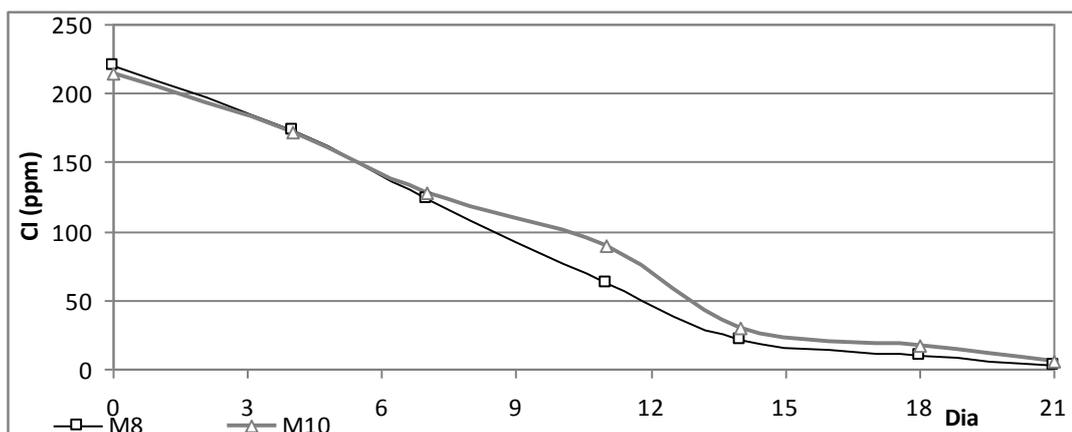


Figura 6.8: Evolución de la concentración de CI para muestras con 20 % FLTFS inicial

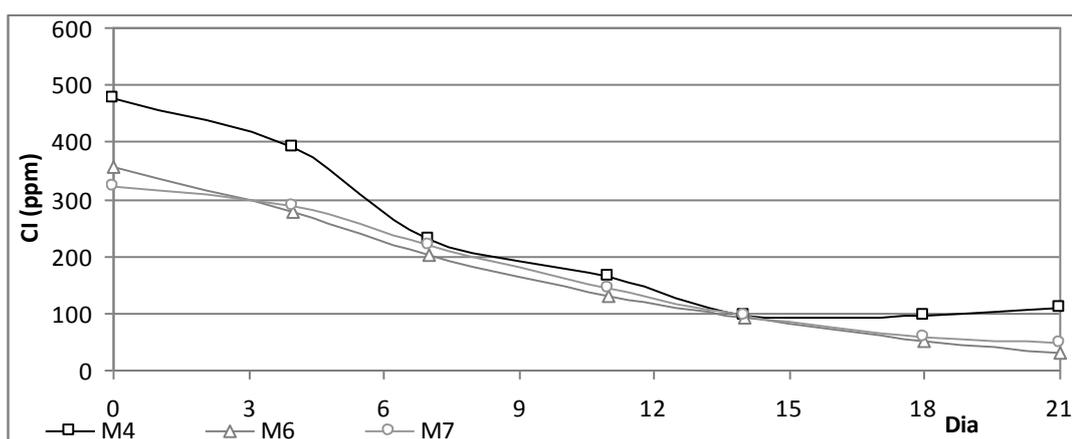


Figura 6.9: Evolución de la concentración de CI para muestras con 35 % FLTFS inicial

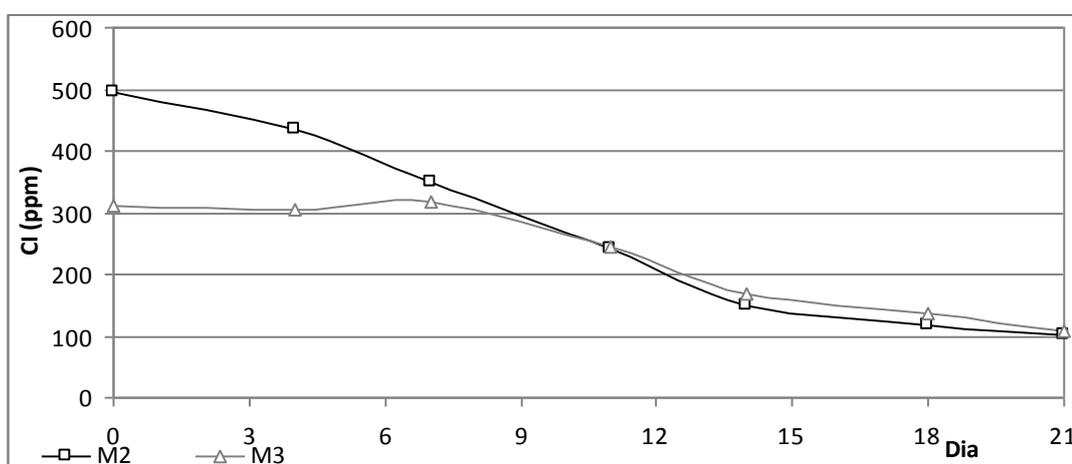


Figura 6.10: Evolución de la concentración de CI para muestras con 50 % FLTFS inicial

6.4.2 Evolución de la concentración de NO_3^- y NO_2^- en las muestras durante el ensayo

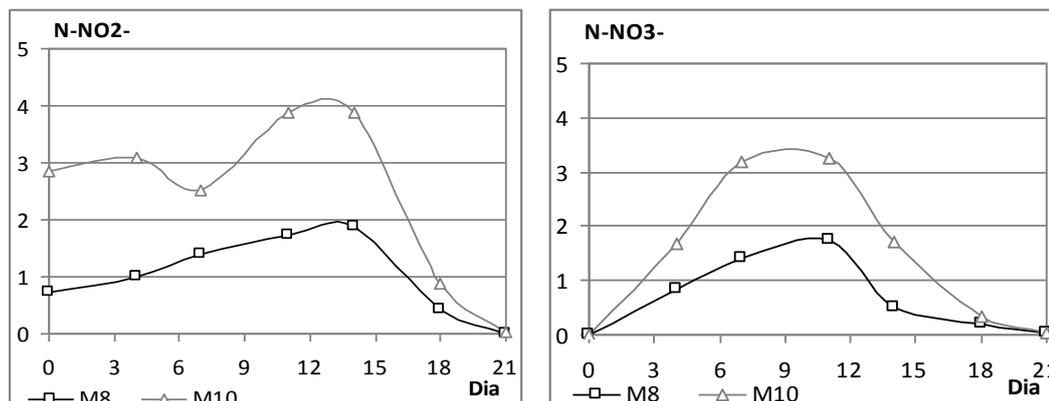


Figura 6.11; Evolución de la concentración de NO_2^- y NO_3^- para muestras con 20 % FLTFSD inicial

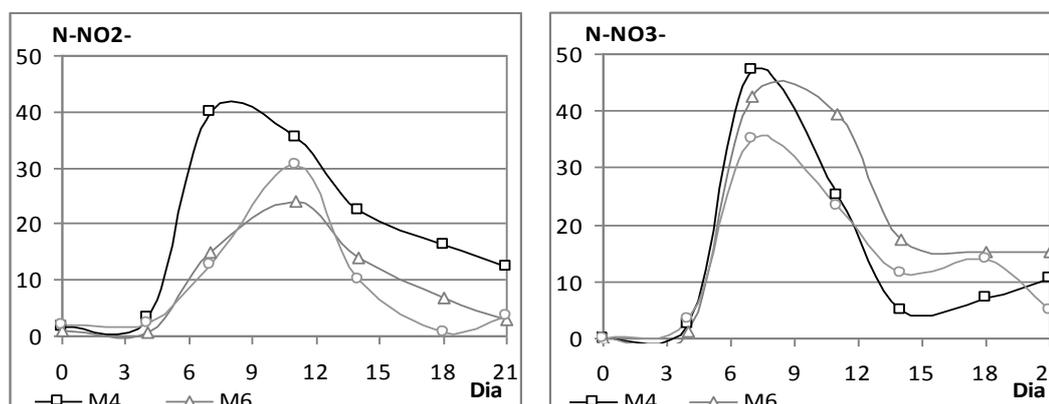


Figura 6.12; Evolución de la concentración de NO_2^- y NO_3^- para muestras con 35 % FLTFSD inicial

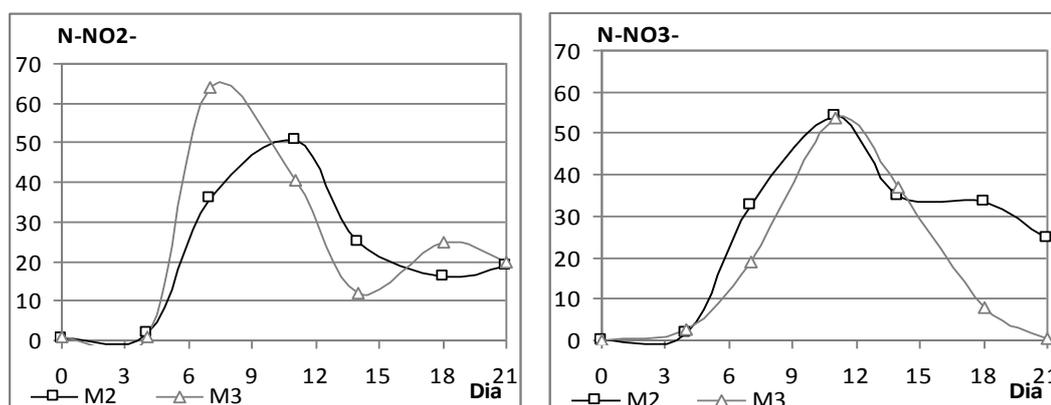


Figura 6.13; Evolución de la concentración de NO_2^- y NO_3^- para muestras con 50 % FLTFSD inicial

En las Figuras 6.17, 6.18 y 6.19 en las que hay el mismo % de FLTFSD inicial se puede observar cómo aumentó la concentración N-NO_2^- y N-NO_3^- en todas las muestras hasta la mitad de la duración de la experimentación siendo el aumento mayor para las muestras con mayor porcentaje inicial de FLTFSD (Figura 6.19) y menor para las que tenían un menor porcentaje inicial (Figura 6.20), lo que suponía menor concentración de nitrógeno amoniacal. Esto es debido a que las algas durante el periodo de iluminación, la función fotosintética predomina sobre la respiración y

Cálculos y resultados

aumentan la concentración de O_2 en el medio. Por lo tanto el $N-NO_2^-$ aumenta mientras la concentración de $N-NH_4^+$ no alcanzó su valor mínimo. El $N-NO_3^-$ aumenta a medida que aumenta el $N-NO_2^-$ salvo al final del ensayo donde ya no se produce más $N-NO_2^-$ pero las algas siguen realizando su función fotosintética produciendo oxígeno que provocó que se siguiera oxidando una pequeña parte del $N-NO_2^-$ aumentando la concentración de $N-NO_3^-$.

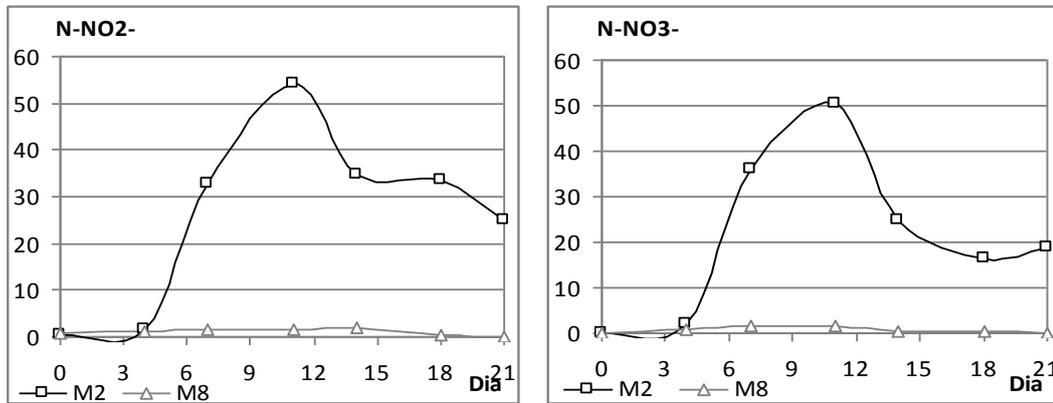


Figura 6.14: Evolución de la concentración de NO_2^- y NO_3^- para muestras con 10 mg SS/inicial

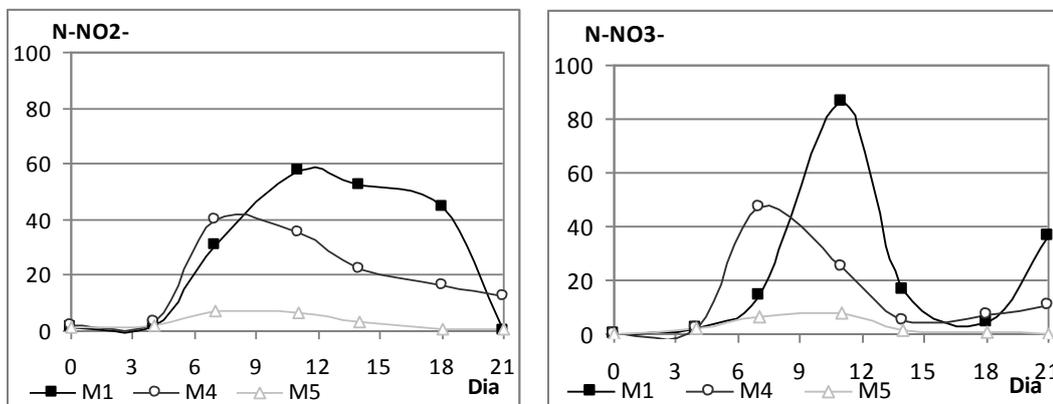


Figura 6.15: Evolución de la concentración de NO_2^- y NO_3^- para muestras con 20 mg SS/inicial

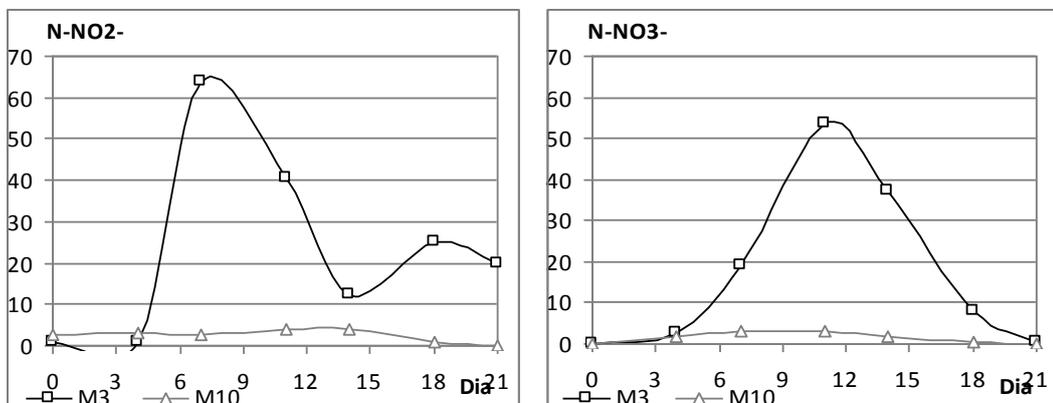


Figura 6.16: Evolución de la concentración de NO_2^- y NO_3^- para muestras con 30 mg SS/inicial

En las muestras con la misma concentración de microalgas al inicio, Figuras 6.20, 6.21 y 6.22 se puede observar que la influencia en la formación de nitratos y nitritos estuvo en la concentración de nitrógeno amoniacal inicial que hubo en las muestras y no en la concentración de microalgas.

6.4.3 Evolución en la concentración de $N-NH_4^+$ en las muestras durante el ensayo

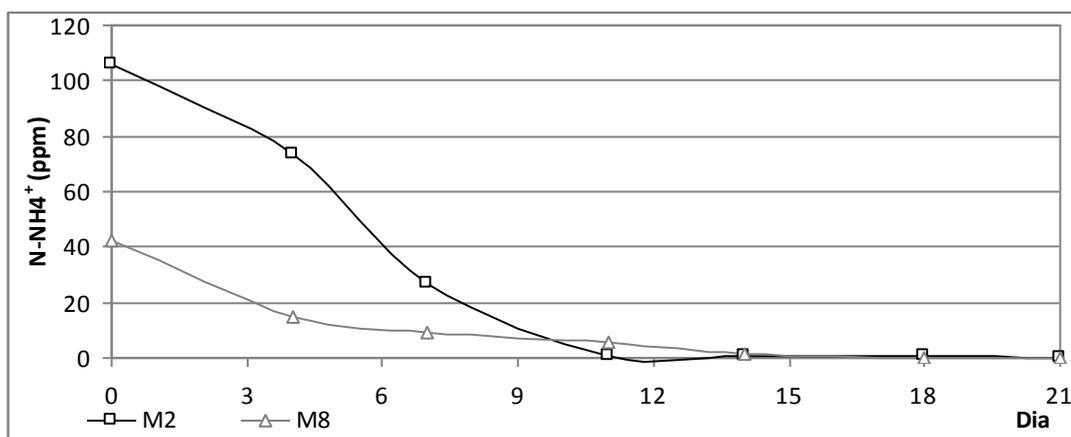


Figura 6.17: Evolución de la concentración de $N-NH_4^+$ para muestras con 10 mg SS/ inicial..

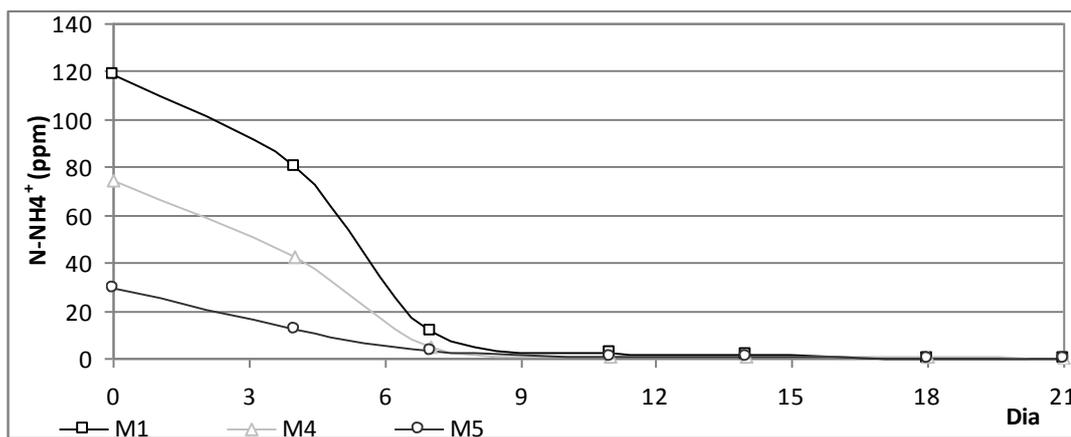


Figura 6.18: Evolución de la concentración de $N-NH_4^+$ para muestras con 20 mg SS/L inicial.

Cálculos y resultados

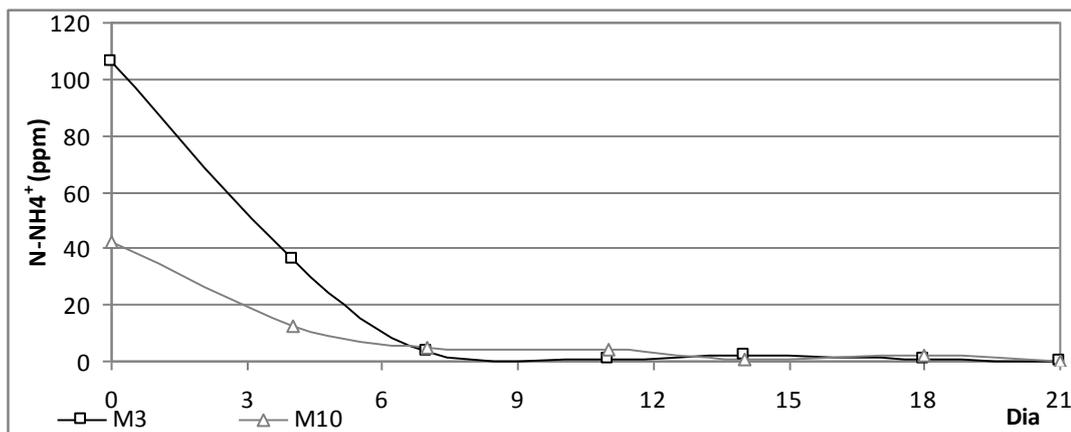


Figura 6.19: Evolución de la concentración de $N-NH_4^+$ para muestras con 30 mg SS/L inicial.

En las Figuras 6.5, 6.6 y 6.7 se puede observar como desciende el $N-NH_4^+$ durante la experimentación en todos los casos hasta prácticamente cero, tardando más tiempo en reducirse en las muestras con menor concentración inicial de SS. Se comprobó que las microalgas se alimentan del $N-NH_4^+$ o de las especies en las que se transforma mediante oxidación.

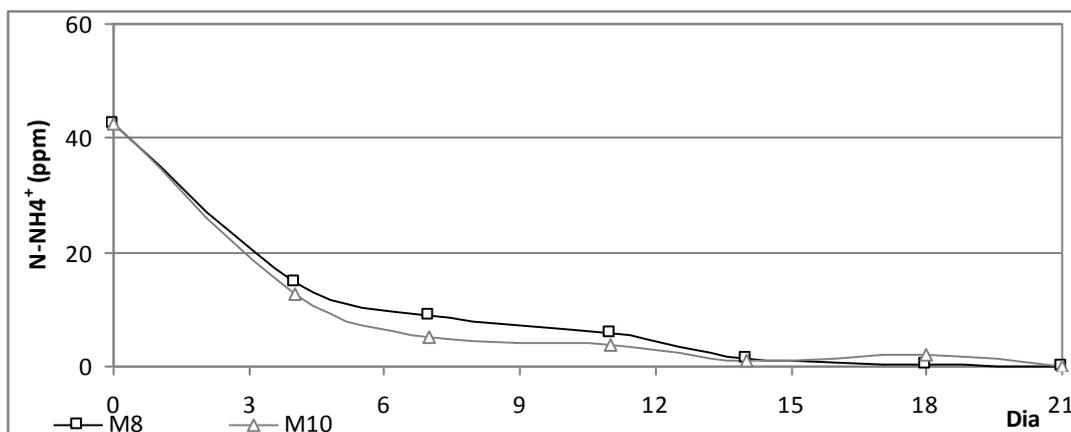


Figura 6.20: Evolución de la concentración de $N-NH_4^+$ para muestras con 20 % FLTFSD inicial

Cálculos y resultados

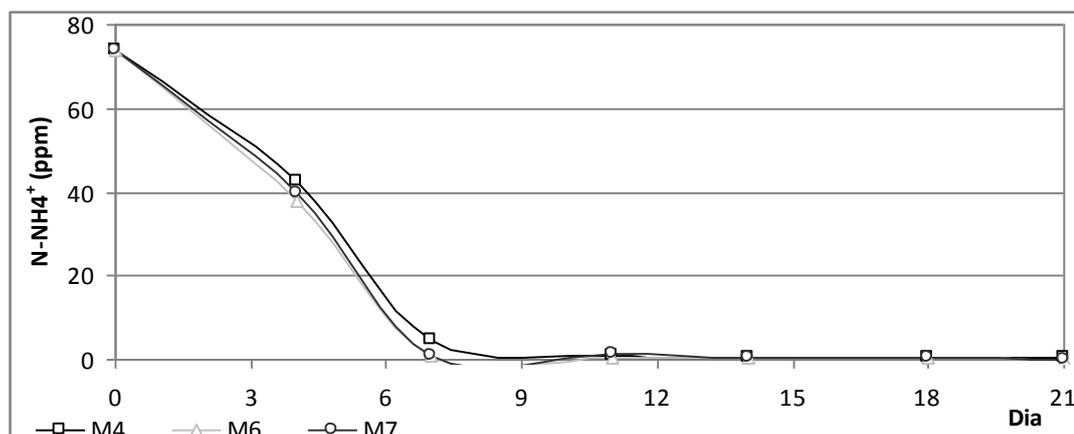


Figura 6.21: Evolución de la concentración de $N-NH_4^+$ para muestras con 35 % FLTFSD inicial

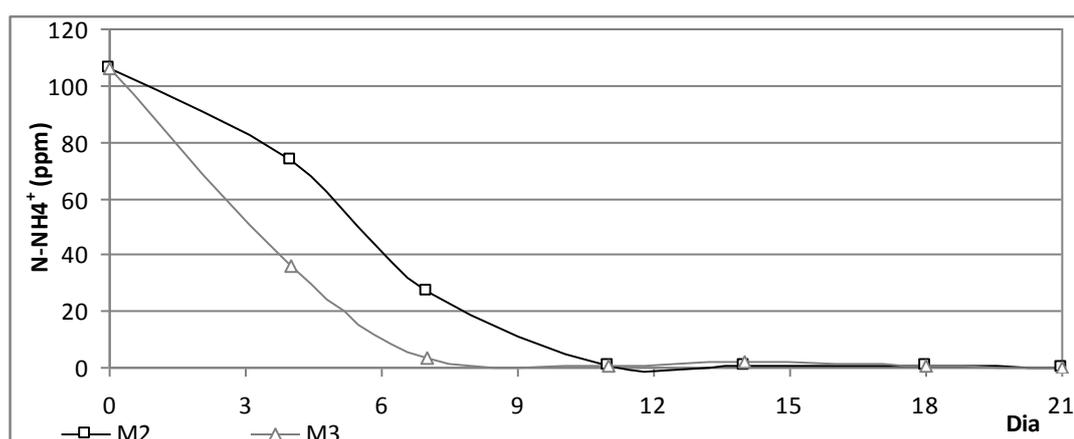


Figura 6.22: Evolución de la concentración de $N-NH_4^+$ para muestras con 50 % FLTFSD inicial

En las Figuras 6.8, 6.9 y 6.10 se observa como en las muestras 4, 6 y 7 el $N-NH_4^+$ desapareció más rápidamente, ya que son las muestras que poseían un % de FLTFSD intermedio. En las muestras 8 y 10 el $N-NH_4^+$ desapareció más lentamente debido a que son las muestras que poseían un % de FLTFSD menor. En las muestras 2 y 3 se observó una cinética desigual para eliminación del $N-NH_4^+$, esto fue debido a que la muestra 2 poseía una concentración inicial de microalgas tres veces menor a la muestra 3 y no podían eliminarlo a la misma velocidad.

6.4.4 Evolución de los Sólidos Suspendedos en las muestras durante el ensayo

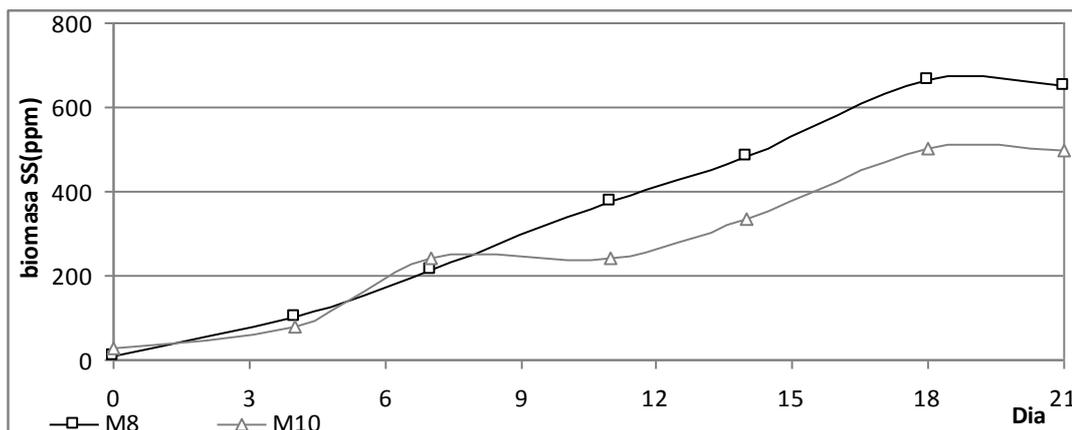


Figura 6.23: Evolución de la concentración SS del inóculo para muestras con 20 % FLTFSD inicial

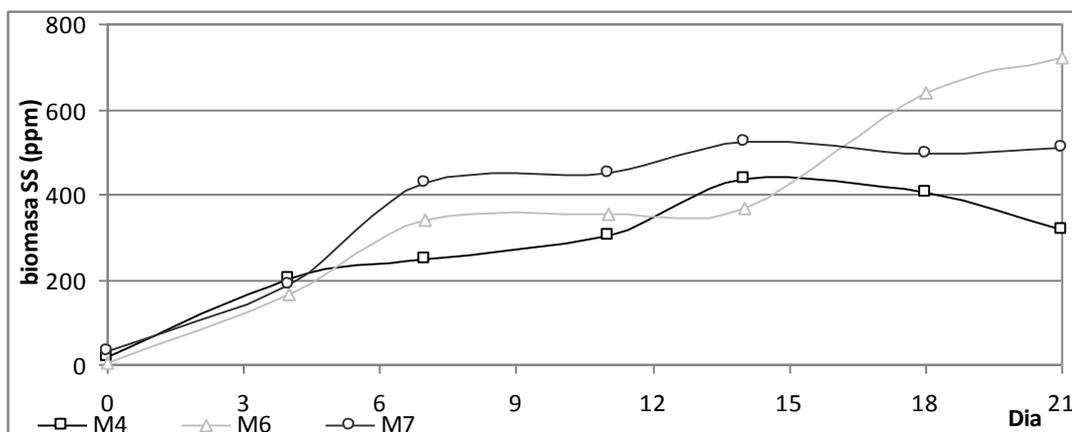


Figura 6.24 Evolución de la concentración SS del inóculo para muestras con 35 % FLTFSD inicial

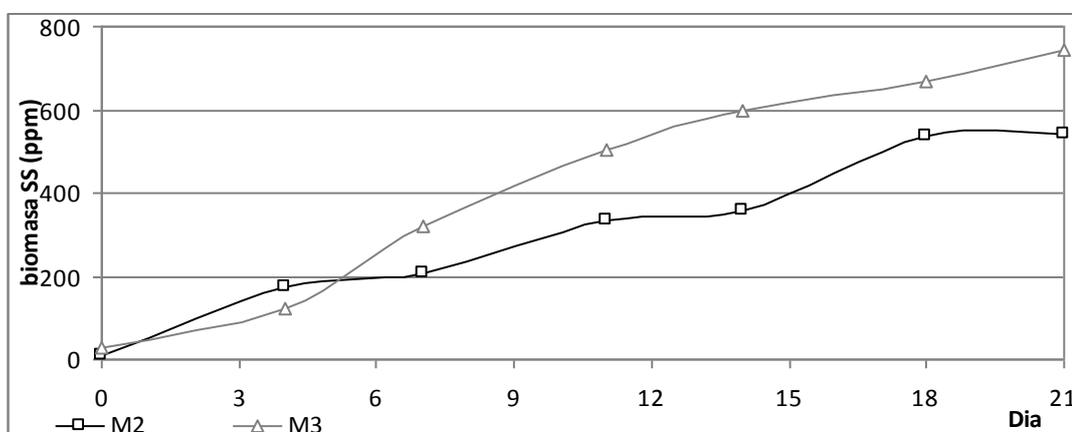


Figura 6.25 Evolución de la concentración SS del inóculo para muestras con 50 % FLTFSD inicial

El crecimiento de las microalgas se midió mediante la concentración de los SS. En las Figuras 6.23, 6.24 y 6.25 se observó que la concentración de microalgas fue aumentando en todas las muestras sin influencia de su concentración inicial.

Cálculos y resultados

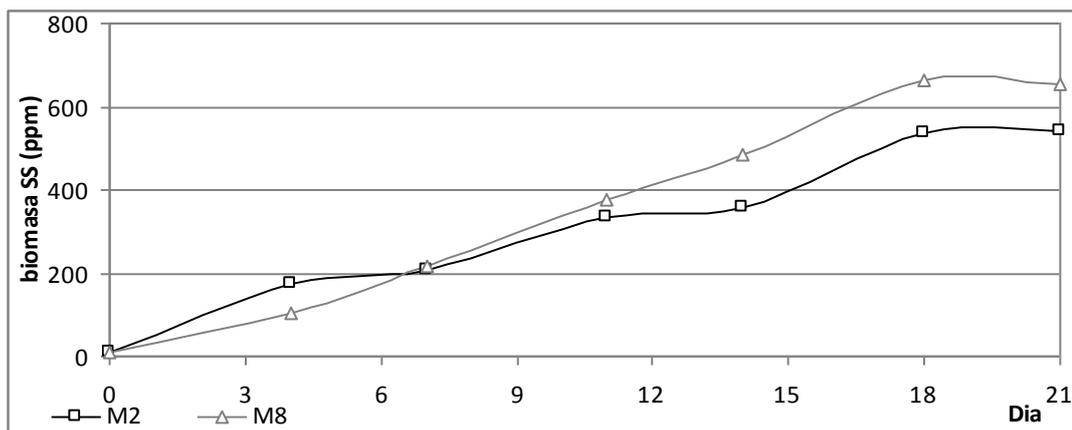


Figura 6.26: Evolución de la concentración de las microalgas para muestras con 10 mg SS/inicial

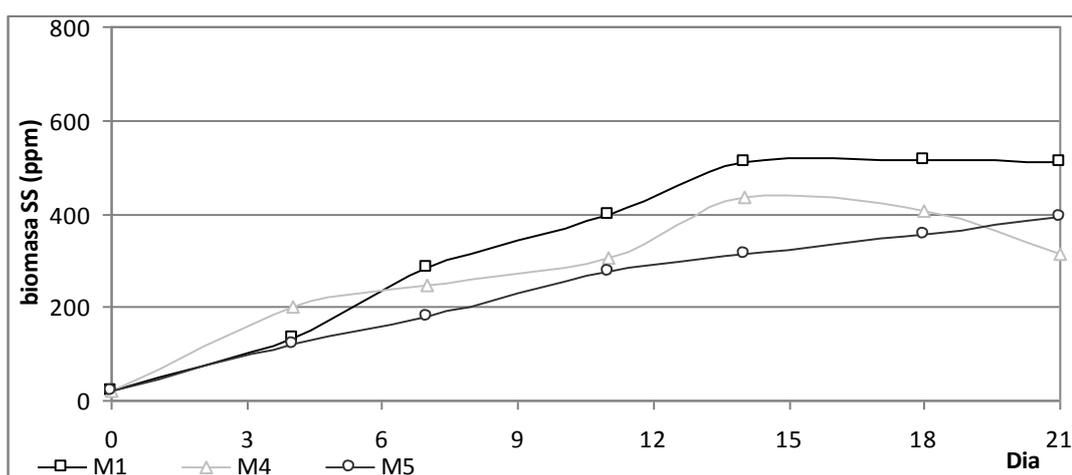


Figura 6.27: Evolución de la concentración de las microalgas para muestras con 20 mg SS/inicial

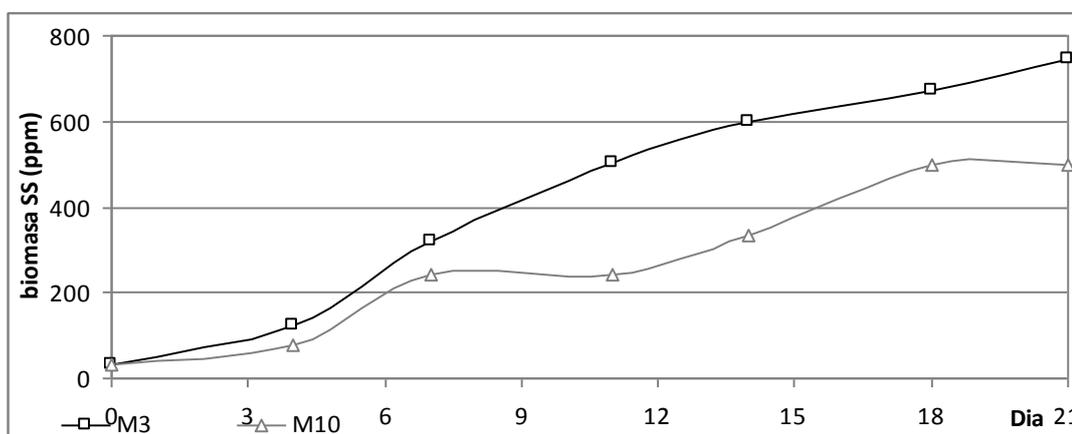


Figura 6.28: Evolución de la concentración de las microalgas para muestras con 30 mg SS/inicial

En las Figuras 6.26, 6.27 y 6.28 se observó que el % de FLTFSD inicial que se introdujo tuvo gran influencia en el crecimiento de las algas. Esto es lógico ya que

Cálculos y resultados

las muestras con un mayor % de FLTFSD inicial, tenían mayor concentración de sustrato para que se alimentasen las microalgas.

7 Conclusiones

7.1 Tratamientos previos del sustrato

El sustrato utilizado para el crecimiento de las microalgas provenía de la codigestión anaerobia de estiércol de vacuno lechero y suero de quesería.

El estiércol de vacuno lechero había sido sometido a:

- pretratamiento para eliminación de SS mediante tamizado
- coagulación-floculación, para separar las fracciones sólida (FS) y obtener una fracción líquida (FLTF) sin materia en suspensión.
- La FLTF fue co-digerida anaeróbicamente en un reactor UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket) con suero de quesería FLTFS, para eliminar la materia orgánica biodegradable, obteniendo un efluente digerido y estabilizado (FLTFSD).
- Postratamiento de eliminación física parcial del nitrógeno amoniacal presente en la FLTFSD mediante stripping, obteniendo un efluente con menor contenido en nitrógeno amoniacal, éste era recuperado mediante absorción en una disolución ácida. Este efluente final era adecuado para el cultivo de microalgas sin tener que diluirlo.

7.2 Postratamiento en cultivo de microalgas

7.2.1 Interpretación Cuantitativa de los resultados

Postratamiento final en reactores batch para recuperación de nutrientes mediante cultivo de microalgas.

Se realizó un ensayo para estudiar el efecto de dos variables, cantidad del sustrato (FLTFSD) y concentración inicial de microalgas, en el rendimiento de la utilización de los nutrientes por las microalgas. Las variables fueron el porcentaje de FLTFSD, valores extremos 20 y 50%, y la concentración de inóculo de microalgas, valores extremos 10 y 30 ppm. Estos datos fueron introducidos en el programa statgraphics

Conclusiones

4.0, para hacer un análisis estadístico Response Surface, y opción central Composite 2²+star, con un resultado de 10 muestras, siendo 2 de ellas las muestras centrales.

En cuanto a la evolución de la concentración de N-NH₄⁺ no se observaron diferencias en la concentración final en las muestras ya que en todas ellas se redujo su valor hasta prácticamente cero.

Las concentraciones finales de nitritos, entre 0,004 y 25 ppm N-NO₂⁻, fueron más altas en aquellas muestras cuyas relaciones % FLTFSD/ mgSSL⁻¹ fueron mayores; en orden decreciente muestras 6, 2 y 4-9 con relaciones 5.93, 5.00 y 1.75, respectivamente. Influyó más un porcentaje alto de % FLTFSD, mayor concentración de nitrógeno amoniacal, que la concentración inicial baja de inóculo. Los nitratos tuvieron unas concentraciones finales entre 0.024 y 36 ppm N-NO₃⁻. En el caso de los nitratos la concentración final fue mayor en las muestras con mayor porcentaje de FLTFSD, caso de las muestras 1, 3 y 2. Las concentraciones de nitritos y nitratos fueron creciendo con el transcurso de los días hasta la mitad del tiempo de experimentación, después comenzaron a decrecer, alcanzando el valor máximo primero los NO₂⁻ y después los NO₃⁻; esto es debido a que, mientras que los nitratos son producidos a partir de los nitritos y consumidos por las algas, los nitritos no son utilizados por las algas.

La concentración del carbono inorgánico, fundamentalmente aportada por el FLTFSD, descendió rápidamente debido a su consumo por parte de las microalgas, organismos autótrofos, para su crecimiento. La única producción de CO₂ y por lo tanto de CI se debe a la respiración de las microalgas. Al ser un ensayo en batch y haber mantenido las muestras cerradas e iluminadas 16 horas al día durante el periodo de estudio, la función fotosintética, consumidora de CO₂, predominó sobre la respiración de las microalgas, productora de CO₂, provocando el descenso de la concentración de CI. En las muestras con menor porcentaje de FLTFSD y como consecuencia menor concentración inicial de CI, muestras 5, 8 y 10, ésta se redujo hasta un valor final entre 3 y 11 ppm. En las muestras 1, 2 y 3, con mayor concentración inicial de carbono inorgánico, éste disminuyó hasta un valor final ligeramente superior a los 100 ppm. Las muestras centrales vieron reducida su concentración hasta valores próximos a los 100 ppm.

Conclusiones

Las concentraciones de carbono orgánico, excepto para las muestras con mayor porcentaje de FLTFSD $\geq 35\%$, no sufrieron cambios muy significativos durante todo el tiempo de experimentación. En el caso de la muestra con 56 % FLTFSD, el COT llegó a reducirse a la mitad.

El pH estuvo entre valores de 9 y 11 durante todo el ensayo para todas las muestras. El pH aumentó debido al consumo de CO_2 por las microalgas, alcanzándose los valores máximos al final del estudio cuando el N-NH_4^+ era menor de 20 ppm, salvo en el caso de las muestras centrales donde el pH final fue de 7.7; esto pudo ser debido a que prácticamente no hubo crecimiento de microalgas y la concentración de nitratos aumentó en estas muestras lo que produjo un aumento en la acidez del medio y por consiguiente un descenso en el pH. El ascenso de pH, que fue corregido mediante adición de solución ácida hasta valores de pH de 7,5, no produjo ningún efecto tóxico sobre las microalgas por la baja concentración de N-NH_4^+ , en niveles por debajo de la inhibición de NH_3 .

En las muestras con menor concentración inicial de N-NH_4^+ en la alimentación 5, 8 y 10, las microalgas crecieron desde valores de 8, 4, 12mgSS hasta valores de 158, 261 y 199mgSS, respectivamente. En las muestras con mayor concentración inicial de N-NH_4^+ 1, 2 y 3 en la alimentación, las microalgas crecieron desde valores de 8, 4, 12mgSS hasta un valor de 204, 217 y 298mgSS, respectivamente. En las muestras centrales 4 y 9 las microalgas crecieron desde un valor de 8mgSS hasta un valor medio final de 127 mgSS.

7.2.2 Interpretación del análisis estadístico mediante diseño de experimentos.

- El análisis estadístico obtenido indicó que sólo la concentración inicial del inóculo elevada al cuadrado afecta significativamente al proceso ya que fue el único que obtuvo un valor de p-value menor a 0.05 siendo éste exactamente de 0.011.

Conclusiones

Analysis of Variance for mgSSL1					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
A:mgSSL	7926,05	1	7926,05	1,18	0,3383
B:porcentFLTFC	11147,8	1	11147,8	1,66	0,2670
AA	134554,0	1	134554,0	20,05	0,0110
AB	31329,0	1	31329,0	4,67	0,0968
BB	36874,5	1	36874,5	5,49	0,0790
Total error	26847,7	4	6711,93		

Total (corr.)	213290,0	9			
R-squared = 87,4126 percent					
R-squared (adjusted for d.f.) = 71,6783 percent					

Figura 7.1: Análisis de la varianza en el aumento en la concentración del inóculo

- En la Figura 7.2 se presenta el pareto Chart resultado del análisis estadístico para el crecimiento de la concentración de SS del inóculo.

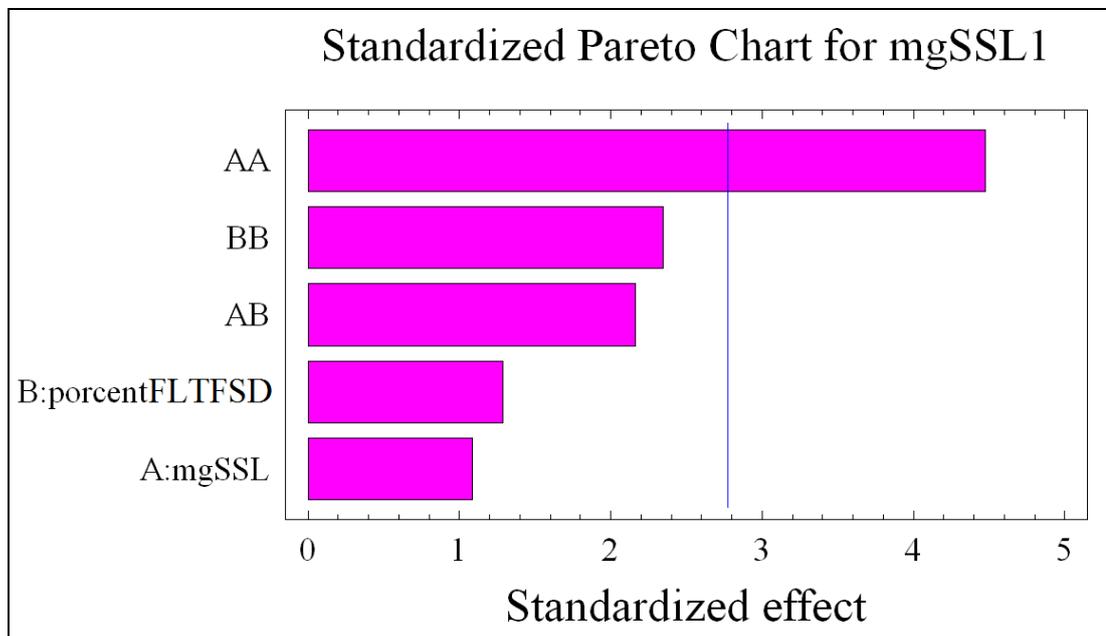


Figura 7.2 Diagrama de pareto para el aumento en la concentración del inóculo

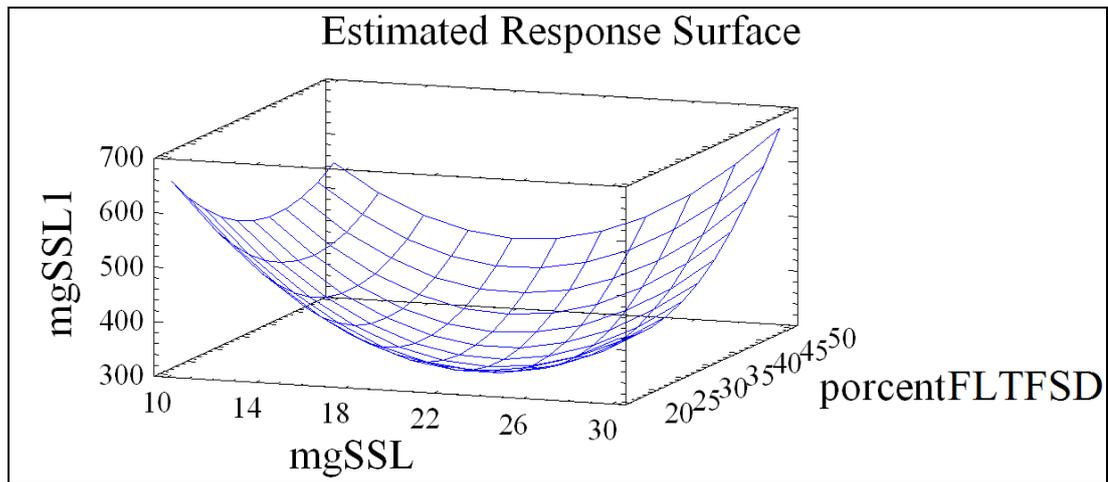


Figura 7.3: Efecto de las concentraciones iniciales en el crecimiento del inóculo

En la Figura 7.3 se muestra la influencia de las concentraciones iniciales de inóculo y el % de FLTFSD en el crecimiento de las algas siendo éste más pronunciado para concentraciones iniciales de 10 mg y siendo casi nulo para concentraciones intermedias, ocurriendo lo mismo para el porcentaje inicial de FLTFSD.

- El modelo estimado viene dado por la ecuación :

$$\text{mgSSL} = 1874,65 - 93,4354 * \text{mgSSL} - 37,2672 * \% \text{FLTFSD} + 1,71607 * \text{mgSSL}^2 + 0,58995 * \text{mgSSL} * \% \text{FLTFSD} + 0,399453 * \% \text{FLTFSD}^2$$

8 Bibliografía

ALVAREZ, SUSANA BEATRIZ Y BAZÁN GRACIELA INÉS, 2002. Proliferaciones masivas algales, con especial referencia al Bajo Giuliani, La Pampa.

BASHAN DE LUZ E., BASHAN YOAV, 2003. Bacterias promotoras de crecimiento de microalgas: una nueva aproximación en el tratamiento de aguas residuales. Revista Colombiana de Biotecnología. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia.

BIODIESELSpain, 2011. Algas: combustible, alimento y plástico del futuro

GÓMEZ C LILIANA, 2010. Bacterias promotoras de crecimiento vegetal (BPCV) y microalgas: perspectivas de nuevas asociaciones. Departamento de Ciencias Naturales y Medio Ambiente, Universidad Popular del Cesar. Valledupar-Colombia

GRUPO DE INGENIERÍA AMBIENTAL DE LA UNIVERSIDAD DE CANTABRIA 1999. Informe 'Industria Ganadera en Cantabria'.

MUÑOZ RAÚL, et al, 2009. Long-term operation of high rate algae ponds Q6 for the bioremediation of piggery wastewaters at high loading rates

MUÑOZ RAÚL, GUIEYSSE BENOIT, 2006. Algal-bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: A review.

OSORIO MARIO ANDRÉS, 2007. Clasificación de las algas marinas.

Ras, M., Lardon, L. (2011) Experimental study on a coupled process of production and anaerobic digestion of *Chlorella vulgaris*. Bioresource Technology 102, 200-206.

Bibliografía

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 1995. 19th edition, American Public Health Association / American Water Works Association / Water Environment Federation, Washington D.C., US

RUIZ MARTÍNEZ, ANA. Tesina fin de máster 'Puesta en marcha de un cultivo de microalgas para la eliminación de nutrientes de un agua residual urbana previamente tratada anaeróbicamente.'

TORRE TORRE, ÁLVARO. Proyecto fin de carrera 'Postratamiento de la fracción líquida de estiércol de vacuno digerido mediante cultivo de microalgas'.

ZUBKOV MIJAIL Y TARRAN GLEN, 2008. High bacterivory by the smallest phytoplankton in the North Atlantic Ocean. Revista Nature

9 Anexos

9.1 Nomenclatura

FLT: fracción líquida tamizada.

FLTF: fracción líquida tamizada, floculada y coagulada.

FLTFS: fracción líquida tamizada, floculada-coagulada, con suero.

FLTFSD: fracción líquida tamizada, floculada-coagulada, con suero y digerida.

DQO: demanda química de oxígeno.

AGV: ácidos grasos volátiles.

SV/SSV: sólidos volátiles/ sólidos suspendidos volátiles.

ST/SST: sólidos volátiles/sólidos suspendidos volátiles.

SF: sólidos fijos.

SS: sólidos suspendidos

CO: carbono orgánico total

CI: carbono inorgánico

CT: carbono total

MO: materia orgánica

MS: materia seca

N-NKT: nitrógeno kjedal total

N-NH₄⁺: nitrógeno amoniacal

Ppm: partes por millón

TCD: detector de conductividad térmica

THR: tiempo hidráulico de retención

9.2 Recta de calibrado del fósforo

Para medir el fósforo contenido en las microalgas por espectrofotometría es necesario realizar previamente una recta de calibrado. Para realizar la recta de calibrado hay que realizar primero unos patrones.

Los patrones se realizan todos a partir de la solución estándar de fosfatos: 219 mg $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{L}$. (P.M. $\text{KH}_2\text{PO}_4 = 135 \text{ g/mol}$). La concentración de solución será por tanto: $219 \text{ KH}_2\text{PO}_4/\text{L} * 30/135 = 48.78 \text{ mgP/L}$.

- Patrón 5 mgP/L: 10 ml de solución estándar en 100 ml.

$$\left. \begin{array}{l} 48.78\text{mg P} \text{ ----- } 1000\text{ml} \\ \text{X} \text{ ----- } 10\text{ml} \end{array} \right\} \text{X}=0.4878 \text{ mg P}$$

:

$$\left. \begin{array}{l} 0.4878 \text{ mg P} \text{ ---- } 100\text{ml} \\ \text{X} \text{ ----- } 1000\text{ml} \end{array} \right\} \text{X}=4.878 \text{ mg P}$$

- Patrón 10 mgP/L: 20 ml se solución estándar en 100 ml.

$$\left. \begin{array}{l} 48.78\text{mg P} \text{ ----- } 1000\text{ml} \\ \text{X} \text{ ----- } 20\text{ml} \end{array} \right\} \text{X}=0.9756 \text{ mg P}$$

$$\left. \begin{array}{l} 0.9756 \text{ mg P} \text{ ---- } 100\text{ml} \\ \text{X} \text{ ----- } 1000\text{ml} \end{array} \right\} \text{X}=9.756 \text{ mg P}$$

- Patrón 15 mgP/L: 25 ml de solución estándar en 100 ml.

$$\left. \begin{array}{l} 48.78\text{mg P} \text{ ----- } 1000\text{ml} \\ \text{X} \text{ ----- } 25\text{ml} \end{array} \right\} \text{X}=1.4634 \text{ mg P}$$

$$\left. \begin{array}{l} 1.4634 \text{ mg P} \text{ ---- } 100\text{ml} \\ \text{X} \text{ ----- } 1000\text{ml} \end{array} \right\} \text{X}=14.634 \text{ mg P}$$

Anexos

- Patrón 20 mgP/L: 40 ml de solución estándar en 100 ml.

$$\begin{array}{l}
 48.78\text{mg P} \text{ ----- } 1000\text{ml} \\
 \text{X} \text{ ----- } 40\text{ml} \\
 \hline
 1.9512 \text{ mg P} \text{ ---- } 100\text{ml} \\
 \text{X} \text{ ----- } 1000\text{ml}
 \end{array}
 \left. \vphantom{\begin{array}{l} 48.78\text{mg P} \\ \text{X} \\ 1.9512 \text{ mg P} \\ \text{X} \end{array}} \right\}
 \begin{array}{l}
 \text{X}=1.9512 \text{ mg P} \\
 \\
 \text{X}=19.512 \text{ mg P}
 \end{array}$$

- Patrón 30 mgP/L: 60 ml de solución estándar en 100 ml.

$$\begin{array}{l}
 48.78\text{mg P} \text{ ----- } 1000\text{ml} \\
 \text{X} \text{ ----- } 60\text{ml} \\
 \hline
 2.9268 \text{ mg P} \text{ ---- } 100\text{ml} \\
 \text{X} \text{ ----- } 1000\text{ml}
 \end{array}
 \left. \vphantom{\begin{array}{l} 48.78\text{mg P} \\ \text{X} \\ 2.9268 \text{ mg P} \\ \text{X} \end{array}} \right\}
 \begin{array}{l}
 \text{X}=2.9268 \text{ mg P} \\
 \\
 \text{X}=29.268 \text{ mg P}
 \end{array}$$

Estos patrones al ser medidos por absorbancia dieron los siguientes resultados:

Tabla 9.1: Valores recta calibrado fósforo

ppm	X
1	0,0492
2	0,109
3	0,1631
4	0,2045
5	0,251

Con estos resultados se construye la grafica que proporciona una recta de calibrado.

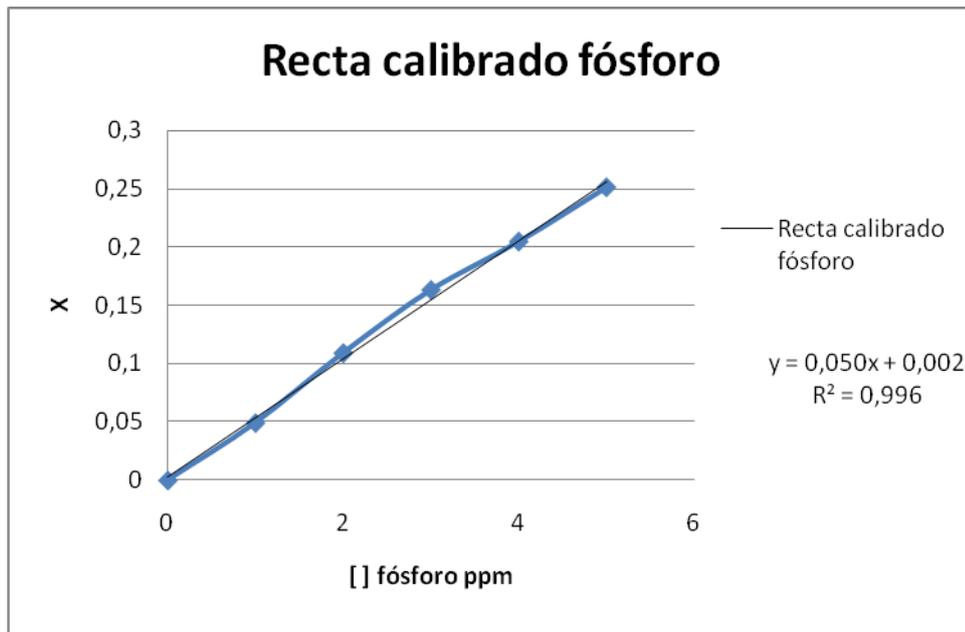


Figura 9.1: Recta de calibrado del fósforo

