



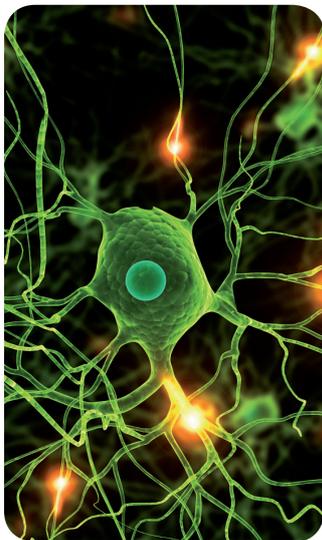
MÁSTERES de la UAM

Facultad de Ciencias
/ 15-16

Ingeniería
Química



excelencia Campus Internacional UAM
CSIC+



**Estudio
de la producción
de biogás a partir
de las biomasas
residuales obtenidas
en la producción
de biodiésel a partir
de microalgas**

*Sara Mellina
Argumánez*



MASTER UNIVERSITARIO EN INGENIERÍA QUÍMICA

Curso académico 2015-16

Trabajo Fin de Máster

Estudio de la producción de biogás a partir de las biomasas residuales obtenidas en la producción de biodiésel a partir de microalgas

Autor: Sara Mellina Arguménez

Directores: Gemma Vicente Crespo

Cristina González Fernández

Agradecimientos

En primer lugar, quiero agradecer a mi tutora, Gemma Vicente, por todo el apoyo que me ha prestado en este largo año, tanto académico como emocional. Sin ella, este trabajo no hubiera sido posible. Por ello, siempre tendrá mi eterna gratitud.

A mis chicas de IMDEA, nunca olvidaré las risas en el laboratorio.

A mis padres, por estar conmigo en cada etapa de mi vida, apoyarme en todas mis decisiones, sufrirme y, sobretodo, por enseñarme a luchar.

Y por último, a Javi, por creer en mí aun en los momentos donde ni yo misma creía... Por ser mi tierra firme y la persona que me hace sonreír cada día... Simplemente, gracias.

Por todos aquellos que permanecerán por siempre en mi memoria...

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	1
2. INTRODUCCIÓN.....	2
2.1. Antecedentes	2
2.2. Biocombustibles como fuente alternativa	2
2.2.1. Producción de biocombustibles a partir de microalgas	3
2.3. Digestión anaerobia a partir de microalgas	3
2.4. Contextualización del trabajo	4
2.4.1. Descripción de la biorrefinería	6
3. OBJETIVOS.....	7
4. METODOLOGÍA	8
4.1. FASE I: Procedimiento experimental para la digestión anaerobia en discontinuo	8
4.1.1. Metodología del experimento.....	9
4.1.2. Métodos analíticos: caracterización de las biomásas residuales.....	13
4.1.3. Análisis del contenido en metano de la producción de biogás	16
4.2. FASE II: Modelo cinético teórico para el proceso de digestión anaerobia	17
4.2.1. Modelo cinético de primer orden	17
4.2.2. Modelo cinético de Monod.....	18
4.3. FASE III: Escalado del proceso a nivel industrial.....	19
4.3.1. Digestor de mezcla completa CSTR.....	19
4.3.2. Simulación del proceso con el software SuperPro Designer®.....	20
5. RESULTADOS	21
5.1. FASE I: Parte experimental.....	21
5.1.1. Caracterización de las biomásas residuales.....	21
5.1.2. Resultados BMP: Producción de biogás y metano	25
5.2. FASE II: Modelos cinéticos para el proceso de digestión anaerobia	29
5.2.1. Modelo cinético de primer orden	30
5.2.2. Modelo cinético de Monod.....	32
5.3. FASE III: Digestor CSTR a escala industrial.....	34
5.3.1. Simulación del proceso con el software SuperPro Designer®.....	34
5.3.2. Comparación de la producción anual de <i>Spirulina platensis</i> en un CSTR frente a otros residuos agroindustriales	35
5.3.3. Propuesta de biorrefinería.....	36
6. CONCLUSIONES.....	37
7. BIBLIOGRAFÍA.....	38
8. ANEXOS.....	41

8.1.	Anexo I: Fases de la digestión anaerobia	41
8.1.1.	Fase de hidrólisis	41
8.1.2.	Fase acidogénica.....	41
8.1.3.	Fase acetogénica.....	41
8.1.4.	Fase metanogénica	42
8.2.	Anexo II: Métodos de producción de biodiésel.....	43
8.2.1.	Método directo de producción de biodiésel, sin etapa de extracción previa de lípidos. 43	
8.2.2.	Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída	43
8.2.3.	Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída en forma de ácidos grasos libres	44
8.3.	Anexo III: Cálculo de la producción de metano.....	45
8.4.	Anexo IV: Modelo cinético de Monod.....	47
8.5.	Anexo V: Quimiostato.....	48
8.6.	Anexo VI: Gráficos del modelo cinético de primer orden	50
8.6.1.	<i>Nannochlorosis gaditana</i>	50
8.6.2.	<i>Spirulina platensis</i>	52
8.6.3.	<i>Isochrysis galbana</i>	54
8.7.	Anexo VII: Gráficos del modelo cinético de Monod	56
8.7.1.	<i>Nannochlorosis gaditana</i>	56
8.7.2.	<i>Spirulina platensis</i>	58
8.7.3.	<i>Isochrysis galbana</i>	60
8.8.	Anexo VIII: Diagrama de bloques de la biorrefinería seleccionada.....	62

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Sustratos para la digestión anaerobia en discontinuo.....	9
Tabla 2. Composición de las diferentes biomazas e inóculo	21
Tabla 3. DQO de las biomazas	22
Tabla 4. Composición química de las biomazas en función de proteínas calculadas con método Lowry	23
Tabla 5. Comparación del cálculo de proteínas.....	24
Tabla 6. Análisis elemental de las muestras.....	24
Tabla 7. Biodegradabilidad en reactor discontinuo de digestión anaerobia	25
Tabla 8. Producción teórica máxima de metano (TMP) y producción experimental de metano (BMP)	26
Tabla 9. Constante cinética y producción de metano por modelo cinético de primer orden.....	30

Tabla 10. Parámetros cinéticos de la ecuación de Monod.....	32
Tabla 11. Parámetros del proceso de digestión anaerobia en continuo introducidos en el simulador...	34
Tabla 12. Corriente de salida digestor anaerobio en continuo	35
Tabla 13. Producción potencial de biogás a partir de distinto residuos	35

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fases del proceso de digestión anaerobia.	4
Figura 2. Diagrama de bloques de la biorrefinería	5
Figura 3. Crimper	12
Figura 4. Montaje de digestores batch en incubadora	12
Figura 5 Recta de calibrado para cálculo de proteínas solubles.	15
Figura 6. Cromatógrafo de gases.....	16
Figura 7. Jeringuilla de inyección de biogás	16
Figura 8. Esquema de un digestor CSTR	20
Figura 9. Producción neta acumulada de metano a partir de <i>N. gaditana</i>	27
Figura 10. Producción neta acumulada de metano a partir de <i>S. platensis</i>	28
Figura 11. Producción neta acumulada de metano a partir de <i>S. platensis</i>	28
Figura 12. Producción neta acumulada de metano mediante biomazas residuales procedentes de MI-AGL.....	29
Figura 13. Producción de metano: BMP vs Modelo cinético de primer orden.	31
Figura 14. Velocidad de dilución en función del sustrato	32
Figura 15. Comparación de producción de metano de forma experimental y por modelo cinético de Monod.	33
Figura 16. Producción de biodiésel a partir del proceso MD.	43
Figura 17. Producción de biodiésel a partir del proceso MI-L.....	43
Figura 18. Producción de biodiésel a partir del proceso MI-AGL.	44
Figura 19. Producción de metano de <i>N. gaditana</i> sin tratar para modelo cinético de primer orden.	50
Figura 20. Producción de metano de <i>N. gaditana</i> por MD para modelo cinético de primer orden.....	50
Figura 21. Producción de metano de <i>N. gaditana</i> por MI-L para modelo cinético de primer orden. ...	51
Figura 22. Producción de metano de <i>N. gaditana</i> por MI-AGL para modelo cinético de primer orden.	51
Figura 23. Producción de metano de <i>S. platensis</i> sin tratar para modelo cinético de primer orden.	52
Figura 24. Producción de metano de <i>S. platensis</i> por MD para modelo cinético de primer orden.	52
Figura 25. Producción de metano de <i>S. platensis</i> por MI-L para modelo cinético de primer orden.	53
Figura 26. Producción de metano de <i>S. platensis</i> por MI-AGL para modelo cinético de primer orden.	53

Figura 27. Producción de metano de <i>I. galbana</i> sin tratar para modelo cinético de primer orden.....	54
Figura 28. Producción de metano de <i>I. galbana</i> por MD para modelo cinético de primer orden.	54
Figura 29. Producción de metano de <i>I. galbana</i> por MI-L para modelo cinético de primer orden.....	55
Figura 30. Producción de metano de <i>I. galbana</i> por MI-AGL para modelo cinético de primer orden.	55
Figura 31. Producción de metano de <i>N. gaditana</i> sin tratar para modelo cinético de Monod	56
Figura 32. Producción de metano de <i>N. gaditana</i> por MD para modelo cinético de Monod.....	56
Figura 33. Producción de metano de <i>N. gaditana</i> por MI-L para modelo cinético de Monod.....	57
Figura 34. Producción de metano de <i>N. gaditana</i> por MI-AGL para modelo cinético de Monod.....	57
Figura 35. Producción de metano de <i>S. platensis</i> sin tratar para modelo cinético de Monod	58
Figura 36. Producción de metano de <i>S. platensis</i> por MD para modelo cinético de Monod.	58
Figura 37. Producción de metano de <i>S. platensis</i> por MI-L para modelo cinético de Monod.	59
Figura 38. Producción de metano de <i>S. platensis</i> por MI-AGL para modelo cinético de Monod.....	59
Figura 39. Producción de metano de <i>I. galbana</i> sin tratar para modelo cinético de Monod.....	60
Figura 40. Producción de metano de <i>I. galbana</i> por MD para modelo cinético de Monod.	60
Figura 41. Producción de metano de <i>I. galbana</i> por MI-L para modelo cinético de Monod.	61
Figura 42. Producción de metano de <i>I. galbana</i> por MI-AGL para modelo cinético de Monod.	61
Figura 43. Diagrama de bloques de la biorrefinería seleccionada.....	62

1. RESUMEN

Los aspectos medioambientales y la necesidad de utilización de energías renovables han motivado que el biogás tenga un gran interés, tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo, expandiendo la investigación y la aplicación en estas direcciones. Esta tecnología ofrece posibilidades y soluciones de interés para problemas mundiales como son la producción de energías alternativas, la gestión de desechos humanos, animales, municipales e industriales con seguridad y el control de la contaminación ambiental [1].

La digestión anaerobia para la producción de biogás es una forma sencilla y energéticamente eficiente de producción de energía renovable en comparación con otros métodos. Además, esta tecnología permite el uso de una amplia gama de tipos de biomasa.

A pesar de que la digestión de la biomasa de microalgas se sugiere por primera vez en la década de 1950, se han realizado pocos estudios para la evaluación de la misma. Por ello, en este trabajo se evalúa el potencial de recuperación de energía a través de la digestión anaerobia a partir de las microalgas *Nannochlorosis gaditana* e *Isochrysis galbana*, y de la cianobacteria *Spirulina platensis*.

Esta investigación estudia las tres biomásas citadas anteriormente (*Nannochlorosis gaditana*, *Isochrysis galbana* y *Spirulina platensis*) procedentes del proceso de producción de biodiésel en una refinería, para su idoneidad como sustrato para la digestión anaerobia.

El potencial metanogénico (BMP) y el rendimiento máximo teórico de producción de metano (TMP) obtenidos para cada biomasa permiten realizar una comparación de la productividad de metano entre las biomásas estudiadas, así como determinar el pretratamiento más adecuado para la mayor biodegradación de las especies para aumentar la producción de biogás. Los resultados reflejan que la producción de biogás es mayor en aquellos casos donde las biomásas residuales proceden del proceso de producción de biodiésel mediante el método indirecto a partir de la fracción lipídica previamente extraída en forma de ácidos grasos libres, en comparación con las biomásas sin tratar y con aquellas que han sido obtenidas mediante otros métodos de producción de biodiésel.

Por otra parte, los datos obtenidos permiten un estudio del modelo cinético más apropiado para las diferentes biomásas, siendo éste el modelo cinético de Monod. Los parámetros de este modelo determinan que el proceso de degradación de materia orgánica es más rápido en aquellas biomásas que proceden del método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída en forma de ácidos grasos libres, lo que, a su vez, conlleva a una mayor producción de biogás.

Finalmente, a partir de todos los resultados que se obtienen, se escala a nivel industrial el proceso digestión anaerobia en un reactor CSTR para la cianobacteria *Spirulina platensis*, procedente del proceso de producción de biodiésel mediante MI-AGL.

2. INTRODUCCIÓN

2.1. Antecedentes

Los combustibles fósiles son parte integral de la forma de vida y de la economía moderna, pero las reservas de carbón, petróleo y gas natural se están utilizando a un ritmo cada vez mayor, de forma que las predicciones hasta su consumo completo, es decir, hasta agotarse es de unos 100 años [2]. Actualmente, la mayor parte de la energía consumida a nivel mundial proviene de fuentes no renovables [3], donde además se ha previsto un aumento de la demanda de crudo entre 87 y 99 millones de barriles diarios hasta 2035, siendo ésta una estimación conservadora [4]. Aunque todavía existan reservas de combustibles fósiles sin explotar o que son descubiertas, muchas de ellas se encuentran en lugares como el Ártico y la Antártida, por lo que su explotación es técnica, medioambiental y políticamente difícil. El aumento de la demanda se complementa con el aumento de las concentraciones atmosféricas de dióxido de carbono a partir de concentraciones preindustriales de menos de 240 ppm a 388 ppm y en aumento, lo que lleva a la perturbación del clima global [5]. El aumento de la demanda de energía está siendo impulsado por una población creciente y por el aumento del consumo de energía de países en desarrollo, con sus economías en crecimiento. Además, hay estudios que prevén que el aumento de los requerimientos de energía sea de un 30% para el año 2035, donde el 90% de este aumento procede de países que no pertenecen a la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE), y en particular de China [6].

Por lo tanto, se requieren fuentes alternativas de energía para ayudar a satisfacer la creciente demanda y para mitigar el agotamiento de los recursos energéticos fósiles y el aumento de dióxido de carbono antropogénico. Por estos motivos, el interés en las diversas formas de energía renovable ha crecido notablemente en estos últimos años, siendo la sostenibilidad un principio clave en la gestión de los recursos naturales [7].

2.2. Biocombustibles como fuente alternativa

Los combustibles derivados de la biomasa orgánica, conocidos como biocombustibles, provienen tradicionalmente de cultivos agrícolas, material leñoso y de residuos orgánicos agrícolas [8] [9]. Una de sus principales ventajas, a diferencia de la mayoría de las otras fuentes de energía renovables con la excepción de la energía hidroeléctrica, es que la energía producida a partir de biocombustibles puede ser fácilmente almacenada hasta que sea requerida, eliminando los desajustes que se producen entre la producción y la demanda que son típicas de la energía eólica y solar [10].

Los biocombustibles se pueden clasificar, según la procedencia de la materia prima, en biocombustibles de primera generación, de segunda generación y de tercera generación.

Los biocombustibles de primera generación, derivados de cultivos terrestres para alimentación como pueden ser la caña de azúcar o el maíz, compiten con el sector alimenticio, provocando una enorme presión sobre los mercados mundiales de los alimentos y contribuyendo al encarecimiento de los mismos [7] [11]. Este hecho ha provocado una reciente disminución de la popularidad pública de estos biocombustibles [12].

Los biocombustibles de segunda generación, obtenidos a partir de residuos orgánicos y biomásas lignocelulósicas procedentes de cultivos no alimentarios, abordan algunos de los problemas anteriores; sin embargo, sigue existiendo la problemática de la competencia en el uso del suelo [13].

Por lo tanto, en base a las proyecciones de conocimientos y tecnologías actuales, los biocombustibles de tercera generación, derivados específicamente de microorganismos oleaginosos (microalgas, levaduras, hongos y bacterias), son considerados como una fuente de energía alternativa técnicamente viable que está desprovisto de los principales inconvenientes asociados a los biocombustibles primera y segunda generación [7].

2.2.1. Producción de biocombustibles a partir de microalgas

En los últimos años, ha existido un incremento considerable en el interés en la producción de biocombustibles a partir de microalgas como materia prima [14]. Las microalgas son organismos fotosintéticos microscópicos con numerosos componentes, tales como proteínas, carbohidratos y lípidos, que pueden ser utilizadas para la producción de biocombustibles. Esta biomasa se puede emplear directamente o procesada para generar combustibles líquidos o gaseosos por una gran variedad de procesos de conversión bioquímicos o termoquímicos [7] [15].

Entre sus ventajas, destaca que pueden ser cultivadas en tierras no cultivables, no compite con los alimentos, y puede ser integrado con diversos flujos de residuos [16], además de contribuir a mitigar las emisiones de dióxido de carbono por el consumo de su metabolismo fotosintético. Por otra parte, las microalgas en comparación con las biomásas terrestres también presentan ventajas, como un menor período de crecimiento, y una mejor adaptabilidad [17]. Sin embargo, también existe cierta preocupación acerca de su viabilidad técnica y económica, por lo que todavía se requieren de nuevas investigaciones que mejoren la tecnología actual [18].

2.3. Digestión anaerobia a partir de microalgas

Una de las técnicas de aprovechamiento energético de las microalgas es la digestión anaerobia, donde ésta se define como la descomposición de materia orgánica en ausencia de oxígeno mediante bacterias fermentativas y arqueas metanogénicas para producir biogás formado por metano y dióxido de carbono. Las microalgas pueden cultivarse en aguas residuales para reducir su demanda química de oxígeno (una medida de la contaminación orgánica), y para la alimentación de los digestores

anaerobios existentes aumentando el contenido de carbono disponible para la conversión de biomasa en biogás. Esto ofrece un doble efecto, reducir la necesidad de tratamiento adicional de aguas residuales y aumentar la producción de metano.

La digestión anaerobia es uno de los métodos más simples de producción de energía [19] [20]. Estudios bioquímicos y microbiológicos previos dividen el proceso de descomposición en cuatro fases: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis, donde la fase metanogénica, junto con la fase de hidrólisis, son consideradas como las etapas críticas del proceso [21] [22] [23]. Estas etapas se producen tanto en serie como en paralelo, como se muestra en la figura 1. En el anexo I se explica de una forma detallada las diferentes fases de la digestión anaerobia.

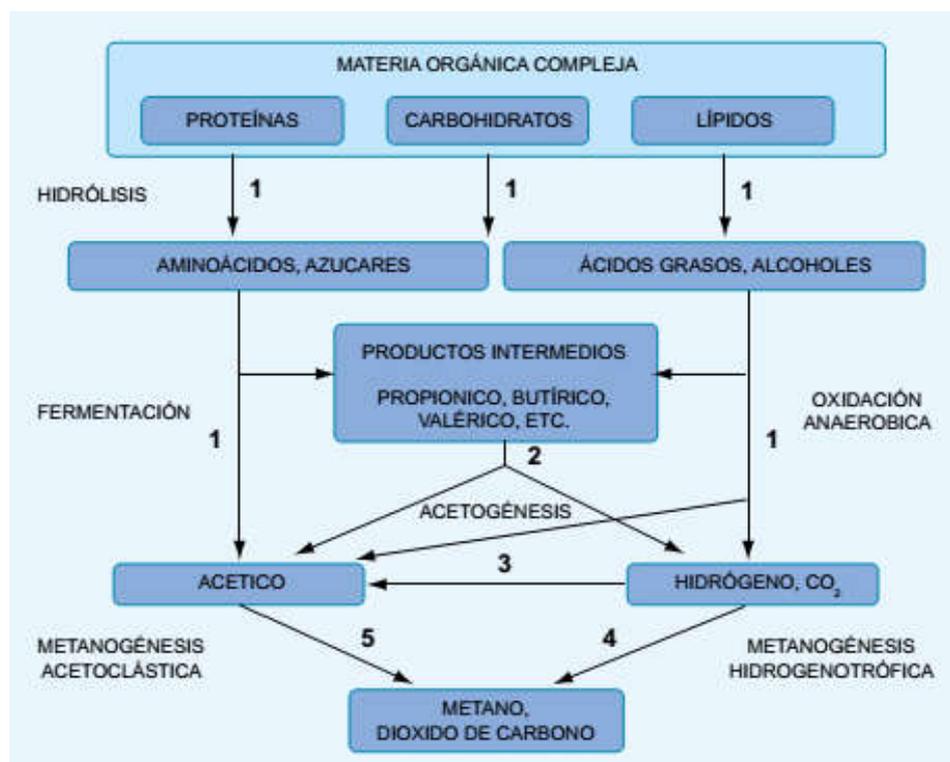


Figura 1. Fases del proceso de digestión anaerobia.

Sin embargo, el uso de especies marinas (microalgas y/o cianobacterias) puede dar lugar a efectos inhibidores en las bacterias metanógenas debido a la salinidad del medio [21]. Esto puede reducir el rendimiento de metano, mientras que la estructura de la pared celular puede limitar la degradación [24].

2.4. Contextualización del trabajo

Este Trabajo Fin de Máster (TFM) se centra en el estudio de la viabilidad del aprovechamiento de las microalgas y sus residuos para la producción de biogás mediante digestión anaerobia, para enmarcarlo dentro de una biorrefinería.

En la figura 2, se puede observar de forma esquematizada la biorrefinería que se estudia en el presente trabajo fin de máster, donde debe reseñarse que esta investigación se va a centrar exclusivamente en el proceso de digestión anaerobia.

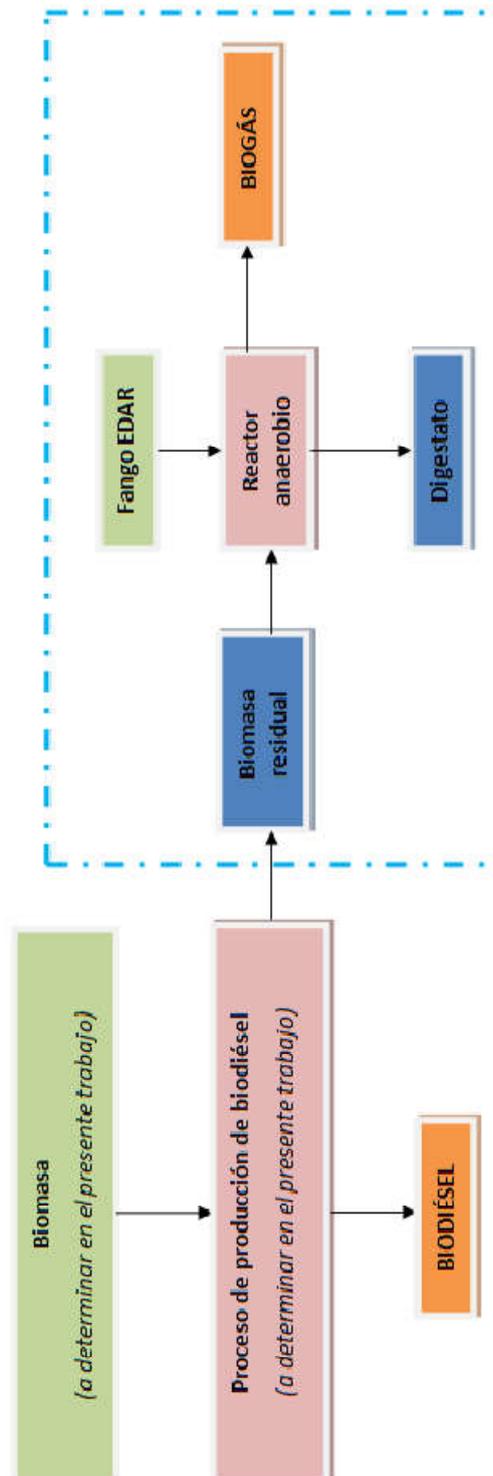


Figura 2. Diagrama de bloques de la biorrefinería

La digestión anaerobia es un proceso que ha sido muy estudiado, pero para su utilización con nuevos sustratos requiere de una nueva investigación que determine las principales particularidades que puede presentar el proceso, ya que buena parte del correcto desarrollo del mismo viene condicionada por el sustrato utilizado. Por tanto, el tema principal del trabajo destaca por ser innovador y de actualidad.

Actualmente, existen diversos proyectos de investigación científica y producción a escala en planta piloto donde se producen biocombustibles y otros productos de alto valor añadido a partir de biomasa de microalgas. Si se pudiera aplicar a este proceso la digestión anaerobia a los subproductos que se obtienen, ello supondría la obtención de energía adicional al proceso, consiguiendo disminuir los requerimientos energéticos de la planta de producción, así como la mejora en el aprovechamiento de todos los productos generados, incrementando la viabilidad económica de esta industria.

2.4.1. Descripción de la biorrefinería

La investigación se centra en el estudio de las biomásas residuales que se obtienen del proceso de biodiésel a partir de tres métodos diferentes, para su posterior utilización como sustrato en la producción de biogás mediante digestión anaerobia.

En el presente trabajo se estudian las biomásas residuales procedentes del:

- [1] Método directo de producción de biodiésel, sin etapa de extracción previa de lípidos. En el presente trabajo, se conocerá este método mediante las siglas MD.
- [2] Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída. A partir de este momento, este proceso será conocido bajo las siglas MI-L.
- [3] Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída en forma de ácidos grasos libres. Como en los casos anteriores, este método será conocido bajo las siglas MI-AGL.

En el anexo II se muestran los diagramas de bloques correspondientes a los tres métodos de producción de biodiésel enumerados.

3. OBJETIVOS

El presente Trabajo Fin de Máster se centra en la línea de investigación del Grupo de Ingeniería Química y Ambiental (GIQA) y del Instituto Madrileño de Estudios Avanzados (IMDEA) de Energía sobre la obtención de energía a partir de microalgas y/o cianobacterias. El objetivo principal de esta investigación es determinar la viabilidad de la digestión anaerobia de diferentes microalgas para la producción de biogás y, en particular, la recuperación de energía de biomasas residuales procedentes del proceso de producción de biodiésel dentro de una biorrefinería.

El objetivo general, a su vez, se puede dividir en varios objetivos, que se desarrollan en fases diferentes del trabajo:

- En la primera fase, parte experimental del trabajo, el objetivo principal es la comparación de las distintas biomasas residuales procedentes del proceso de producción de biodiésel de esteres etílicos, en su utilización como sustrato en el proceso de digestión anaerobia, seleccionando la especie con la que se obtienen los mejores resultados. Cabe indicar que los procesos de obtención de biodiésel se han realizado en la Universidad Rey Juan Carlos (URJC), mientras que la producción de biogás se ha obtenido en IMDEA, siendo este último proceso el desarrollado a lo largo del presente trabajo fin de máster.
- En la segunda fase, parte técnica del trabajo realizada en la URJC, el objetivo es determinar qué modelo cinético se adecua en mayor medida a los resultados obtenidos en la fase experimental, y a partir de este resultado, escalar la producción de biogás a nivel industrial para enmarcarlo dentro de la biorrefinería.

Para poder alcanzar los objetivos propuestos es necesario seguir un plan de trabajo, expuesto a continuación:

- Búsqueda bibliográfica sobre las características de las biomasas *Nannochlorosis gaditana*, *Isochrysis galbana* y *Spirulina platensis*, así como de los estudios actuales sobre digestión anaerobia de sustratos marinos, y en particular, sobre las biomasas estudiadas.
- Caracterización de las biomasas para identificar su potencial de producción de biogás.
- Producción de biogás a escala de laboratorio en reactores discontinuos, partiendo de todas las biomasas suministradas.
- Comparación de las biomasas y selección de la especie de mayor rendimiento.
- Estudio del modelo cinético más adecuado para la digestión anaerobia de las distintas biomasas estudiadas.
- Escalado a nivel industrial del proceso de digestión anaerobia en un reactor CSTR para la especie de mayor rendimiento de biogás.

4. METODOLOGÍA

Una vez evaluadas todas las posibilidades de la biorrefinería, se considera que la opción más atractiva para el aprovechamiento de la fracción sólida obtenida en el proceso de biodiésel es la digestión anaerobia.

En este Trabajo Fin de Máster (TFM), el estudio se centra en determinar qué tipo de microalga y/o cianobacteria utilizada para la producción de biodiésel aumenta la producción de biogás, generado en la digestión anaerobia, y qué método de producción de biodiésel favorece que las biomásas residuales tengan una mayor biodegradabilidad en el proceso de digestión anaerobia, mejorando también de esta forma la producción de biogás. A su vez, se plantea qué modelo cinético es el más adecuado para esta reacción y, una vez obtenido éste, se escala el proceso a nivel industrial para introducirlo dentro de la biorrefinería.

Por tanto, el trabajo queda estructurado en tres fases. Hay una primera fase experimental, donde se desarrolla un experimento de digestión anaerobia en discontinuo con diferentes biomásas residuales procedentes de la producción de biodiésel, que a su vez ha sido realizado mediante diferentes métodos. La segunda fase del proyecto es teórica, en la que se pretende determinar el modelo cinético más apropiado para el proceso de digestión anaerobia considerando los resultados experimentales obtenidos. Y por último, hay una tercera fase de escalado del proceso de digestión anaerobia a nivel industrial, utilizando un reactor CSTR, teniendo en cuenta los resultados experimentales obtenidos y los parámetros determinados en el modelo cinético.

4.1. FASE I: Procedimiento experimental para la digestión anaerobia en discontinuo

Se realizan experimentos, en IMDEA Energía, de digestión anaerobia en discontinuo para determinar qué método de producción de biodiésel y qué tipo de microalga y/o cianobacteria es el más adecuado para su aprovechamiento mediante digestión anaerobia. El ensayo en discontinuo permite, por su simplicidad, un mejor control de todos los parámetros de operación, resultando ser de gran ayuda como paso previo a un ensayo de mayores dimensiones.

Las biomásas con las que se va a proceder a realizar el experimento son: *Nannochlorosis gaditana*, *Spirulina platensis* e *Isochrysis galbana*, donde éstas han sido sometidas a distintos procesos de transformación, que se pueden observar en la tabla 1. Además de las biomásas residuales, también se realiza el estudio de las microalgas frescas, ya que de esta forma es posible comparar la biodegradación sufrida por las biomásas residuales, así como las posibles inhibiciones de las mismas.

Por tanto, nos encontramos ante tres tipos de biomasa obtenidas a partir de tres métodos diferentes de producción de biodiésel (anexo II) y una muestra fresca de cada una de las biomásas. Es decir, que se van a realizar doce experimentos para el proceso de digestión anaerobia.

Tabla 1. Sustratos para la digestión anaerobia en discontinuo

Microalga	Estado de las microalgas			
<i>Nannochlorosis gaditana</i>	Fresca	Biomasa residual obtenida del proceso de producción de biodiésel MD ¹	Biomasa residual obtenida del proceso de producción de biodiésel MI-L ²	Biomasa residual obtenida del proceso de producción de biodiésel MI-AGL ³
<i>Spirulina platensis</i>				
<i>Isochrysis galbana</i>				

¹MD: Método directo de producción de biodiésel, sin etapa de extracción previa de lípidos

²MI-L: Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída

³MI-AGL: Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída en forma de ácidos grasos libres

4.1.1. Metodología del experimento

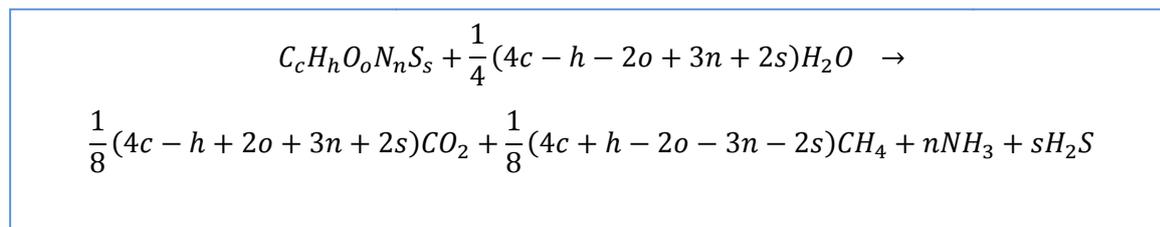
La base de este experimento es el ensayo de biodegradabilidad, también conocido como experimento de BMP (Biochemical Methane Potential), cuyo fundamento consiste en simular un proceso de digestión anaerobia de forma controlada, introduciendo un sustrato orgánico (las diferentes biomasa residuales) en el cultivo anaerobio y realizando un seguimiento continuo de la producción de biogás que se genera en dicho proceso.

4.1.1.1. Potencial metanogénico

El potencial metanogénico de un residuo (Biochemical Methane Potential – BMP) se define como la producción específica última de metano para un tiempo de degradación infinito. En la realidad, los ensayos tienen una duración finita obteniéndose el potencial de metano por extrapolación de la curva.

El BMP se suele expresar como el volumen de metano producido en condiciones estándar (0 °C, 1 atm) por unidad de residuo alimentado (kg SV o kg DQO). Debido a la complejidad de los residuos, no es fácil conocer la composición de los mismos, por lo que se utiliza la demanda química de oxígeno (DQO) o los sólidos volátiles (SV) para describir su concentración.

El potencial metanogénico teórico (TMP) se calcula a partir de la ecuación Buswell (ecuación 1), con los datos de composición elemental tomados por medición directa de C, H, N y S, y donde O se obtiene por diferencia.



Ecuación 1. Ecuación de Buswell

En el caso que se está tratando, se puede considerar que la cantidad de azufre que contiene la muestra es despreciable. Por tanto, la ecuación de potencial metanogénico teórico en condiciones estándar de temperatura y presión viene dada por la ecuación 2:

$$B_{0,Th} \left(L \text{ CH}_4 / g \text{ SV} \right) = \frac{\left(\frac{c}{2} + \frac{h}{8} - \frac{o}{4} - \frac{3n}{8} \right) \cdot 22,4}{12c + h + 16o + 14n}$$

Ecuación 2. Ecuación potencial metanogénico teórico

El TMP es el límite superior de producción de metano por residuo alimentado, donde éste no puede ser alcanzado en ningún caso debido a los siguientes factores [25]:

- Existen compuestos orgánicos que no son biodegradables en condiciones anaerobias.
- Existe materia orgánica inaccesible para los microorganismos implicados en la reacción debido a los fenómenos de adsorción.
- Pueden existir limitaciones de nutrientes o elementos traza que impidan la degradación.
- La presencia de compuestos inhibitorios lleva a resultados de potenciales inferiores a los que se obtendrían en condiciones óptimas.
- Parte del sustrato se utiliza en la síntesis de biomasa (5-10%).
- A un tiempo finito de ensayo, parte de la materia orgánica se pierde con el efluente, aproximadamente un 10 %.
- En aguas con nitratos y sulfatos los microorganismos desnitrificantes y sulfatoredutores están favorecidos frente a los metanógenos. La cantidad de materia orgánica disponible para la metanogénesis será inferior y, por lo tanto, la cantidad de metano producido será menor.

4.1.1.2. Condiciones seleccionadas para el ensayo de BMP

El cálculo del potencial metanogénico (BMP) se realiza mediante un ensayo de biodegradabilidad en discontinuo, que se ve influido en su resultado por las condiciones físicas, químicas y fisiológicas. De esta forma, los resultados del BMP permiten obtener una referencia del potencial biodegradable de la sustancia, y lo que es más importante, comparar diferentes residuos o la influencia de determinados tratamientos sobre la biodegradabilidad de los residuos.

A continuación, se describen los principales parámetros que influyen en los ensayos de BMP, y el valor o rango de trabajo seleccionado para cada uno de ellos.

4.1.1.2.1. Temperatura

La cinética del proceso de digestión anaerobia está afectada en gran medida por la temperatura. Para el ensayo de BMP realizado se ha elegido la operación en condiciones mesófilas (35 °C), siendo esta la más utilizada en la industria.

4.1.1.2.2. Inóculo

El inóculo tiene una clara influencia en la cinética de la digestión anaerobia y en los niveles de degradación obtenidos en este proceso. Además, es posible relacionar el grado de biodegradación y la actividad metanogénica específica, de forma que a mayor actividad metanogénica los resultados de biodegradación son mejores [26]. En este trabajo se ha elegido trabajar con un fango primario proveniente de la estación de tratamiento de aguas residuales de Valladolid, por disponibilidad y fiabilidad.

4.1.1.2.3. Relación sustrato/microorganismos (S_0/X_0)

Los resultados de biodegradabilidad se ven fuertemente influenciados por la relación sustrato/inóculo, donde al aumentar la relación S_0/X_0 se produce un aumento la velocidad específica de producción de biogás [26]. En este trabajo, se ha optado por elegir una relación sustrato/inóculo (S_0 / X_0) de 0,5 g SV/g SV para todos los ensayos realizados, ya que se trata del ratio óptimo para la digestión anaerobia de distintas microalgas [27].

4.1.1.2.4. Medio de ensayo

En el desarrollo de un ensayo de biodegradabilidad, el medio debe aportar a los microorganismos los elementos esenciales como nutrientes, vitaminas y elementos traza necesarios a su crecimiento, ya que estos compuestos favorecen la producción de biogás y mejoran los niveles de biodegradación obtenidos [26]. La carencia de alguno de estos componentes esenciales puede suponer una disminución considerable en la producción de metano, siendo un factor limitante en el crecimiento de los microorganismos, y, por ello, podría dar un resultado de biodegradabilidad erróneo.

4.1.1.2.5. Número de réplicas

La muestra de fango puede presentar alta heterogeneidad por lo que se debe distribuir el fango en cada ensayo de la forma más homogénea posible. Con el fin de minimizar estos efectos, debido a que no siempre es posible evitar la heterogeneidad de la muestra, y de obtener resultados fiables en el ensayo realizado, se debe transferir el fango de manera aleatoria entre todos los ensayos y con la mayor mezcla posible. Además, se realiza el ensayo por duplicado para minimizar los errores que se pudieran obtener.

4.1.1.2.6. Validación del ensayo

Para este tipo de experimentos es recomendable que se realicen ensayos de control con una sustancia referencia, de forma que se compruebe la actividad del inóculo empleado. En este caso, para los experimentos realizados se han utilizado ensayos de control con etanol como sustrato.

A su vez, para cuantificar la producción endógena de metano generado a partir únicamente del fango, se utilizan ensayos de control donde no se añade ningún sustrato (“blanco” del proceso).

4.1.1.3. Procedimiento en el ensayo de BMP

El procedimiento experimental del ensayo de biodegradabilidad se basa en los protocolos existentes (UNE-EN-ISO 11734 (1995)) [28], adaptando éstos a las condiciones deseadas.

Para iniciar el ensayo, primero se deben establecer los cálculos necesarios para obtener una relación sustrato/inóculo (S_0/X_0) igual a 0,5 g SV/g SV y determinar el volumen que se deja en el digestor para la producción de biogás.

En este experimento se han utilizado digestores, que son botellas de vidrio, con una capacidad de 0,120 litros y establecer un volumen final de fracción líquida de 0,70 litros. De esta forma, se consigue que un 42 % del volumen total del digestor sea para producción de biogás.

Una vez completados los cálculos, el fango se mezcla con las diferentes biomásas manteniendo la relación sustrato/inóculo establecida. A su vez, se añade carbonato de calcio para evitar que el pH se vea modificado durante el proceso de digestión anaerobia [28], y se adiciona agua hasta completar los 0,70 litros de fase líquida. Y finalmente, se ajusta el pH del medio a 7 aproximadamente, empleando HCl o NaOH en caso de que fuera necesario.

Para mantener las condiciones anaeróbicas del proceso, el oxígeno es retirado de los digestores mediante la purga con nitrógeno del espacio de cabeza de los mismos, y se cierran con sellos de caucho de butilo y cápsulas de aluminio con la ayuda de un crimper (figura 3).

Una vez preparados los digestores, éstos se colocan en una cámara caliente a la temperatura seleccionada para el ensayo (35 °C), como se puede observar en la figura 4. Una vez la muestra alcance la temperatura seleccionada (una hora aproximadamente), se despresurizan los digestores y se da por iniciado el ensayo.

El ensayo se da por finalizado cuando la variación de presión por día es inferior al 10 % de la producción total de biogás, o se ha alcanzado la producción de biogás teórica esperada.



Figura 3. Crimper



Figura 4. Montaje de digestores batch en incubadora

4.1.1.4. Metodología de cálculo producción metano

Para cuantificar la producción de metano es necesario medir de forma periódica la presión en el interior de los digestores anaerobios y, una vez finalizada esta tarea, igualar la presión del interior del digestor anaerobio con la presión atmosférica, de forma que se pueda hallar la producción de biogás por diferencia de presiones. El contenido en metano se analiza en un cromatógrafo de gases (explicación detallada en el punto 4.1.3). En el anexo III se desarrolla la metodología de cálculo de una forma detallada.

4.1.2. Métodos analíticos: caracterización de las biomásas residuales

Para poder desarrollar el ensayo de biodegradabilidad se deben realizar una serie de métodos analíticos que permitan la caracterización de las biomásas residuales, además de las biomásas frescas con las que posteriormente poder comparar los resultados. Los ensayos fueron realizados en el Instituto Madrileño de Estudios Avanzados de energía (IMDEA), a excepción de la determinación de proteínas, lípidos y la composición elemental de las biomásas, cuyos ensayos fueron efectuados en la URJC.

4.1.2.1. Contenido en humedad

Es la medida de la cantidad de agua que contiene la muestra de biomasa en el momento de ser extraída. Para determinar este parámetro se pesa la muestra cuando se acaba de extraer (m_1), se mantiene durante 24 horas en una estufa a una temperatura de 105°C y se vuelve a pesar (m_2). El porcentaje de humedad se calcula sustituyendo los valores en la ecuación 3:

$$\text{Porcentaje de Humedad (\%)} = \frac{m_1 - m_2}{m_2} \cdot 100$$

Ecuación 3. Contenido en humedad

Donde:

m_1 = masa de la muestra recién extraída.

m_2 = masa de la muestra después de estar en la estufa.

4.1.2.2. Concentración de sólidos

La naturaleza y contenido de los sólidos definen físicamente las diferentes biomásas. Los parámetros empleados para caracterizar las muestras son:

- Sólidos Totales (ST): Se determinan por desecación de la muestra a 105°C, hasta peso constante. El cálculo se realiza mediante la ecuación 4:

$$ST (\%) = \frac{m_2 - m_c}{m_1} \cdot 100$$

Ecuación 4. Contenido en sólidos totales

Donde:

m_c = peso del crisol (tara).

- Sólidos Volátiles (SV): Son aquellos que se volatilizan mediante calcinación en una mufla a $550\pm 50^{\circ}\text{C}$. Se determinan por diferencia de peso con los sólidos minerales, siguiendo el método 2540G del Standard Methods [29]. Se calculan sustituyendo los valores en la ecuación 5, que se muestra a continuación:

$$SV (\%) = \frac{m_2 - m_3}{m_1} \cdot 100$$

Ecuación 5. Contenido en sólidos volátiles

Donde:

m_3 = masa de la muestra después de estar en la mufla.

- Sólidos Minerales (SM) o cenizas: Son los sólidos que permanecen después de la calcinación de la muestra a $550\pm 50^{\circ}\text{C}$, hasta peso constante. Se determinan por pesada directa, a partir de la ecuación 6:

$$\text{Cenizas} (\%) = ST(\%) - SV(\%)$$

Ecuación 6. Contenido en cenizas

4.1.2.3. Demanda química de oxígeno (DQO)

Se define como la cantidad de oxígeno necesaria para oxidar completamente la materia orgánica y cualquier compuesto oxidable. Se trata de un parámetro de gran importancia que permite determinar el contenido total de materia orgánica, sin distinguir entre la materia asimilable por los microorganismos y la no asimilable. El procedimiento empleado corresponde a ISO 15705 y es análogo a EPA 410.4 y APHA 5220 D.

4.1.2.4. Composición química

Carbohidratos: La identificación cuantitativa de carbohidratos se realiza mediante espectrofotometría UV-Vis a partir del método fenol-sulfúrico [30].

Proteínas: Se considera que se deben determinar las proteínas totales como las proteínas solubles que se encuentran en las diferentes biomásas.

Proteínas totales: El cálculo se realiza mediante el método colorimétrico de Lowry, basado en dos reacciones consecutivas donde se genera un color azulado en la muestra. Es necesaria la medición de la absorbancia por espectrofotometría a una longitud de onda de 750 nm. Para obtener la concentración de proteínas se requiere de una curva patrón y a partir de esta, se halla el porcentaje de proteínas en la muestra (ecuación 7 a 9).

$$C = 784,59 \cdot A \cdot Dil$$

Ecuación 7. Recta patrón para cálculo de proteínas

Donde:

A = Absorbancia

Dil = dilución

$$\text{Proteínas (\%)} = \frac{C}{x} \cdot V_{\text{resuspensión}} \cdot 100$$

Ecuación 8. Contenido en proteínas

Además, estos resultados son comparados con el cálculo teórico de las proteínas.

$$\text{Proteínas (\%)} = 6,25 \cdot N(\%)$$

Ecuación 9. Contenido en proteínas teórico

Donde:

N (%) = cantidad de nitrógeno obtenido en análisis elemental.

Proteínas solubles: Se calculan a partir del método colorimétrico de Bradford que consiste en la formación de un compuesto de adsorción de coloración azul entre los residuos de aminoácidos básicos de las proteínas y el colorante azul Coomassie. La lectura se realiza en un espectrofotómetro a una absorbancia de 595 nm. Requiere de una curva de calibrado que se realiza de forma experimental.

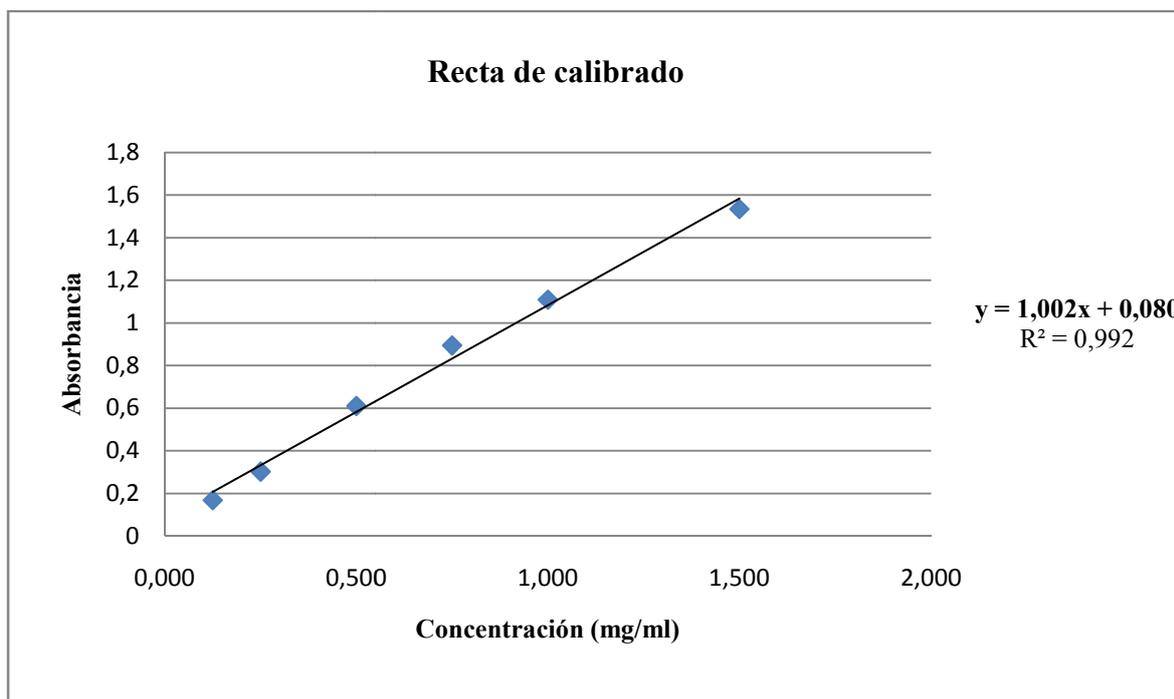


Figura 5 Recta de calibrado para cálculo de proteínas solubles.

Lípidos: El cálculo del porcentaje de lípidos se determina mediante el análisis de los extractos mediante cromatografía en capa fina.

4.1.2.5. *Análisis elemental*

Se trata de una técnica que proporciona el contenido total de carbono, hidrógeno, nitrógeno y azufre, además de oxígeno, presente en un amplio rango de muestras de naturaleza orgánica e inorgánica tanto sólidas como líquidas. La técnica consiste en la completa e instantánea oxidación de la muestra mediante una combustión con oxígeno puro en un rango de temperatura de 950 a 1100°C.

4.1.2.6. *Biodegradabilidad*

Se trata de la propiedad intrínseca de una sustancia que hace referencia a la tendencia que tiene ésta en ser biológicamente degradada. Este valor se expresa en forma de porcentaje de degradación de la muestra inicial.

4.1.3. *Análisis del contenido en metano de la producción de biogás*

Para analizar la composición de biogás, compuesto de metano y dióxido de carbono, se ha utilizado un cromatógrafo de gases (figura 6). Este método consiste en la separación de los compuestos de un gas en función de la conductividad térmica en una corriente de arrastre de un gas inerte, en este caso nitrógeno. Para llevar a cabo la separación, se inyecta una pequeña cantidad de biogás (1 mL) a través de una aguja, mostrada en la figura 7, en el puerto de inyección del equipo desde donde es arrastrado por la corriente de nitrógeno a elevada temperatura hasta la columna cromatográfica, lugar donde se produce la separación. Los compuestos salen de la columna y alcanzan el sistema de detección (TCD thermal conductivity detector) que envía una señal al ordenador, que proporciona el cromatograma.



Figura 6. Cromatógrafo de gases



Figura 7. Jeringuilla de inyección de biogás

4.2. FASE II: Modelo cinético teórico para el proceso de digestión anaerobia

En esta etapa del trabajo, se pretende determinar qué modelo cinético se adecua en mayor medida a los resultados obtenidos en la parte experimental (fase I del presente trabajo). Para ello, se estudian dos modelos cinéticos más comunes y que pueden determinarse con los datos experimentales del trabajo: el modelo cinético de primer orden y el modelo cinético de Monod.

4.2.1. Modelo cinético de primer orden

Los resultados de las pruebas de BMP, correctamente obtenidos y de buena calidad, se pueden usar para obtener más información sobre el sustrato estudiado, como es el caso de la velocidad de hidrólisis, a condición de que la hidrólisis sea la reacción limitante del proceso de conversión anaerobia. De hecho, para poder calcular la constante de hidrólisis, k_h (d^{-1}), de un modelo de primer orden se utiliza la primera parte (primeros días) de la curva experimental de la producción de metano frente al tiempo.

Por otra parte, este modelo cinético considera los microorganismos como catalizadores de la reacción y representa un modelo de transferencia de materia global para una reacción catalizada. La velocidad de reacción viene determinada por la ecuación 10:

$$r = k_h \cdot S$$

Ecuación 10. Velocidad de reacción de primer orden

Donde:

r = velocidad de reacción ($mg/(L \cdot d)$)

k_h = constante cinética de primer orden (d^{-1})

S = concentración de sustrato biodegradable (mg/L)

Para el cálculo de la concentración de sustrato se puede utilizar una medida indirecta basada en la producción de biogás (ecuación 11):

$$\frac{B_0 - B}{B_0} = \frac{S}{S_0}$$

Ecuación 11. Concentración de sustrato en función de la producción de biogás

Donde:

B_0 = Producción máxima teórica de metano ($mL/g SV$)

B = Producción acumulada de metano por sólidos volátiles ($mL CH_4/g SV$)

S_0 = masa de sólidos volátiles de sustrato inicial ($g SV$)

S = masa de sólidos volátiles de sustrato biodegradable ($g SV$)

Como estamos en un reactor discontinuo:

$$\frac{dS}{dt} = -k_h \cdot S \xrightarrow{\text{integrando}} \ln S = -k_h \cdot t + \ln S_0 \xrightarrow{\text{integrando}} \frac{S}{S_0} = e^{-k_h \cdot t}$$

Igualando se obtiene la ecuación 12:

$$\frac{B_0 - B}{B_0} = e^{-k_h \cdot t}$$

Ecuación 12. Variación de la producción de metano en función del modelo cinético de primer orden

De esta forma, la variación en la producción acumulada de metano a largo plazo se puede expresar mediante la ecuación 13:

$$B(t) = B_0 \cdot (1 - e^{-k_h \cdot t})$$

Ecuación 13. Producción de metano en función del tiempo

Donde:

B(t) = Producción de metano en función del tiempo (mL CH₄/g SV)

B₀ = Producción máxima teórica de metano (mL/g SV)

k_h = constante cinética de primer orden (d⁻¹)

t = tiempo (d⁻¹)

Para el cálculo de la constante cinética se han utilizado los valores experimentales de los primeros 4 días, mientras que para el cálculo de la producción máxima teórica de metano se ha extrapolado en el gráfico.

4.2.2. Modelo cinético de Monod

Monod describe el modelo cinético (anexo IV) como un crecimiento catalítico de los microorganismos representado a partir de la ecuación 14:

$$\frac{dx}{dt} = \mu \cdot x$$

Ecuación 14. Crecimiento celular

La expresión matemática (ecuación 15), conocida como ecuación de Monod, permite relacionar la tasa de crecimiento celular (μ) con la concentración de sustrato (S):

$$\frac{1}{x} \frac{dx}{dt} = \mu = \mu_{max} \cdot \frac{S}{K_S + S}$$

Ecuación 15. Ecuación de Monod

4.2.2.1. Obtención de los parámetros cinéticos μ_{max} y K_S

A partir de los datos obtenidos en el anterior modelo cinético y de los datos experimentales obtenidos en laboratorio es posible realizar una simulación en discontinuo para obtener los parámetros cinéticos μ_{max} y K_S con ayuda del simulador SuperPro Designer®. Con los valores obtenidos en el simulador se realiza una optimización hasta obtener los valores reales de estos dos parámetros.

4.2.2.2. Cálculo teórico de producción de metano

Una vez obtenidos estos parámetros cinéticos, y con la ayuda de la ecuación de Monod, se realiza la simulación en el software SuperPro Designer® del proceso de digestión anaerobia en discontinuo para determinar si el modelo cinético es el apropiado.

4.3. FASE III: Escalado del proceso a nivel industrial

Este proyecto está basado fundamentalmente en la experimentación. A escala laboratorio se ha estudiado el comportamiento del proceso de digestión anaerobia. A partir del mismo, también se ha intentado obtener unos rangos de operación óptimos y unas condiciones de trabajo adecuadas para aumentar la productividad del producto deseado.

Una vez obtenidos los parámetros del modelo cinético de Monod, y se ha determinado que dicho modelo es adecuado para el proceso de producción de biogás, se desea llevar a cabo el mismo proceso en un biorreactor tipo tanque agitado en continuo a escala industrial (anexo V).

Por tanto, este apartado trata de desarrollar el proceso de digestión anaerobia en un reactor continuo a nivel industrial dentro de la biorrefinería para producción de biodiésel a partir del método de ácidos grasos libres, teniendo en cuenta los datos obtenidos en la fase experimental, y mediante la búsqueda de información sobre experimentos previos, tomando como referencia los resultados de estas investigaciones.

Debe quedar claro que el objetivo de esta fase del proyecto no es el diseño del biorreactor, sino la escala del proceso a nivel industrial para determinar la viabilidad del mismo.

4.3.1. Digestor de mezcla completa CSTR

El reactor CSTR es el tipo de digestor más utilizado, tanto a nivel de planta piloto como industrial, utilizándose tanto en el tratamiento de residuos líquidos de procedencia ganadera, industrial y urbana (figura 8).

Se caracterizan por disponer de un sistema de carga al reactor que puede ser continua o periódica, dependiendo del tipo de instalación en el que esté operando. En instalaciones de pequeño tamaño la carga se realiza de forma diaria, mientras que en instalaciones de mayor tamaño este proceso se realiza de forma continua.

En este tipo de reactor es necesaria la aplicación de agitación mecánica, hidráulica o neumática, para la homogeneización de la mezcla. Por otra parte, la eficiencia del tratamiento en un CSTR mejora con la aplicación de calor al contenido del digestor con un sistema de control de temperatura adecuado [31]. Para la utilización de este tipo de reactor en un rango mesófilo (35°-37°C), es necesario dotar al reactor con un sistema de calefacción que permita mantener la temperatura en el digestor.

Otro parámetro que caracteriza al CSTR es que no posee recirculación de lodos ni hay retención de biomasa suspendida, lo que supone que el tiempo de retención de sólidos (TRS) sea igual al tiempo de residencia hidráulica (TRH), siendo éstos altos (15-30 días). El TRH mínimo para un CSTR anaerobio en condiciones mesófilas es de 10 días [32], mientras que el tiempo de arranque del reactor oscila entre 30 y 90 días.

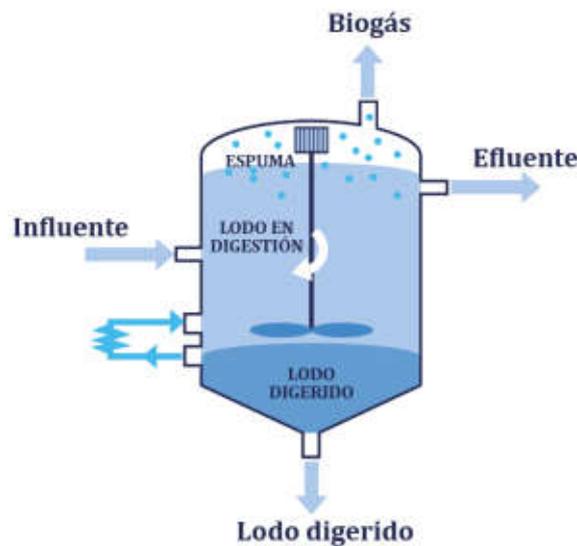


Figura 8. Esquema de un digestor CSTR

Las principales ventajas de la utilización del reactor de forma continua son:

- Producción continua, estable y sin variaciones considerables en la composición de biogás.
- Sencillo de construir y mantener.
- Adaptación a diferentes cargas de alimentación al reactor (tanto pequeñas como grandes).

A su vez, posee varias desventajas, entre las que destacan:

- Mayor coste, derivado de los sistemas de calentamiento y agitación.
- El influente no se aprovecha totalmente.

4.3.2. Simulación del proceso con el software SuperPro Designer®

Una vez se han estudiado y optimizado los parámetros cinéticos de la reacción de digestión anaerobia y, a su vez, se ha obtenido de forma experimental que la mejor biomasa residual para este proceso es la cianobacteria *Spirulina platensis*, procedente del método indirecto de producción de biodiésel a partir de la fracción lipídica previamente extraída en forma de ácidos grasos libres, se procede a escalar el proceso a nivel industrial mediante el simulador SuperPro Designer®.

5. RESULTADOS

5.1. FASE I: Parte experimental

En la primera etapa del proyecto, se obtienen los resultados que permiten caracterizar de una forma apropiada las biomásas residuales, así como determinar qué biomasa residual es permite un mayor aprovechamiento energético.

5.1.1. Caracterización de las biomásas residuales

En la tabla 2 se representa la composición de las distintas biomásas estudiadas, así como el inóculo empleado para el proceso de digestión anaerobia, que permite obtener su caracterización. En dicha tabla se pueden observar una serie de características que se pasan a detallar.

En primer lugar, en la tabla 2 se observa un dato relevante en la composición de las diferentes biomásas. Se encuentra un menor porcentaje de sólidos volátiles en aquellas muestras que han sido sometidas al proceso de obtención de biodiésel mediante MI-AGL, lo que supone un menor potencial de producción de biogás, es decir, para una misma cantidad de biomasa residual introducida como alimentación, existiría un menor cantidad que pudiera ser degradada por las diferentes bacterias que actúan en la reacción.

Tabla 2. Composición de las diferentes biomásas e inóculo

		Humedad (%)	ST ⁴ (%)	SV ⁵ (%)	Cenizas (%)
<i>N. gaudiana</i>	Muestra fresca	7,14	92,86	82,60	10,26
	MD ¹	4,09	95,91	88,19	7,72
	MI-L ²	3,34	96,66	88,70	7,96
	MI-AGL ³	3,42	96,58	83,27	13,31
<i>S. platensis</i>	Muestra fresca	7,12	92,88	87,14	5,73
	MD ¹	5,28	94,72	90,30	4,43
	MI-L ²	7,45	92,55	86,20	6,35
	MI-AGL ³	8,74	91,26	79,25	12,01
<i>I. galbana</i>	Muestra fresca	8,61	91,39	77,59	13,79
	MD ¹	5,68	94,32	78,12	16,20
	MI-L ²	5,54	94,46	79,16	15,31
	MI-AGL ³	6,73	93,27	72,36	20,91
Fango (Inóculo)		98,17	1,83	0,92	0,91

¹MD: Método directo de producción de biodiésel, sin etapa de extracción previa de lípidos

²MI-L: Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída

³MI-AGL: Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída en forma de ácidos grasos libres

⁴ST: Sólidos totales de la biomasa

⁵SV: Sólidos volátiles de la biomasa

Este hecho se confirma con el dato de demanda química de oxígeno (DQO) de las distintas biomazas, que se puede ver en la tabla 3, donde también se puede observar que las DQO (g/L) inferiores vienen dadas en aquellas muestras que proceden del proceso de producción de biodiésel por MI-AGL.

Otros datos que se contemplan en la tabla 2, es que la humedad presente en todas las biomazas estudiadas no supera el 10 %, siendo bastante homogénea en todas las muestras. Mientras que el porcentaje de cenizas más alto es dado por aquellas muestras procedentes del proceso de producción de biodiésel mediante MI-AGL.

Por otra parte, el inóculo presenta un porcentaje de sólidos volátiles muy bajo, por lo que se puede determinar que la producción endógena de biogás será muy limitada (tabla 2).

Tabla 3. DQO de las biomazas

		DQO ⁴ (g/L)	SV ⁵ (g/L)	ratio DQO/SV
<i>N. gaditana</i>	Muestra fresca	1230	825,97	1,49
	MD ¹	1227	881,91	1,39
	MI-L ²	1179	887,04	1,33
	MI-AGL ³	761	832,70	0,91
<i>S. platensis</i>	Muestra fresca	1228	871,44	1,41
	MD ¹	1128	902,95	1,25
	MI-L ²	1047	862,01	1,21
	MI-AGL ³	855	792,50	1,08
<i>I. galbana</i>	Muestra fresca	1233	775,93	1,59
	MD ¹	826	781,18	1,06
	MI-L ²	761	791,55	0,96
	MI-AGL ³	624	723,58	0,86

¹MD: Método directo de producción de biodiésel, sin etapa de extracción previa de lípidos

²MI-L: Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída

³MI-AGL: Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída en forma de ácidos grasos libres

⁴DQO: Demanda Química de Oxígeno

⁵SV: Sólidos volátiles de la biomasa

La composición química de las de las biomazas residuales y de las biomazas frescas está representada en la tabla 4, donde las proteínas han sido determinadas a partir del método colorimétrico de Lowry. En esta tabla se observa un alto porcentaje en proteínas en las tres microalgas frescas, siendo este porcentaje considerablemente mayor en las biomazas residuales de las dos microalgas estudiadas (*N. gaditana* e *I. galbana*). Por otra parte, la cianobacteria *S. platensis* presenta unos valores elevados de proteínas en todos los casos estudiados (superiores a las dos microalgas), siendo ligeramente superiores en aquellos casos que la biomasa ha sufrido el proceso de obtención de biodiésel, aunque estos pueden ser despreciables frente a la biomasa fresca. Por tanto, se puede considerar que las dos

microalgas estudiadas cambian considerablemente su composición en función del proceso de transformación al que es sometida, mientras que en el caso de la cianobacteria *S. platensis* mantiene su composición sufriendo ligeros cambios que pueden ser despreciables.

Al analizar la composición química de las biomásas, si se calcula el porcentaje de lípidos por diferencia, se obtiene una fracción de lípidos excesivamente alta en aquellas biomásas en las cuales los lípidos han sido extraídos previamente. Esto podría ser debido a un fallo en los métodos de análisis en los que se ha procedido a determinar las proteínas, o a la presencia de compuestos polares que no han sido determinados en la caracterización de las biomásas. Por este motivo, se realizó posteriormente un análisis de los extractos mediante cromatografía en capa fina, donde los resultados muestran que la cantidad de lípidos en las biomásas residuales es ínfima, donde sólo se observan algunos compuestos polares. Por tanto, se puede determinar, que no hay lípidos en las biomásas residuales estudiadas (tabla 4).

Tabla 4. Composición química de las biomásas en función de proteínas calculadas con método Lowry

		Humedad (%)	Carbohidratos (%)	Proteínas (%)	Proteínas solubles (%)	Lípidos (%)	Cenizas (%)
<i>N. gaditana</i>	Muestra fresca	7,14	13,72	46,28	3,68	n.d. ⁴	11,05
	MD ¹	4,09	15,47	61,02	6,07	n.d. ⁴	8,05
	MI-L ²	3,34	13,94	60,11	1,96	n.d. ⁴	8,23
	MI-AGL ³	3,42	14,22	63,78	3,23	n.d. ⁴	13,78
<i>S. platensis</i>	Muestra fresca	7,12	13,98	70,65	7,14	n.d. ⁴	6,17
	MD ¹	5,28	7,75	73,27	2,70	n.d. ⁴	4,67
	MI-L ²	7,45	10,94	76,79	4,11	n.d. ⁴	6,86
	MI-AGL ³	8,74	12,88	72,50	2,73	n.d. ⁴	13,16
<i>I. galbana</i>	Muestra fresca	8,61	17,39	38,25	5,21	n.d. ⁴	15,09
	MD ¹	5,68	8,28	51,44	0,82	n.d. ⁴	17,18
	MI-L ²	5,54	9,47	56,10	3,11	n.d. ⁴	16,20
	MI-AGL ³	6,73	11,62	58,86	3,47	n.d. ⁴	22,42

¹MD: Método directo de producción de biodiésel, sin etapa de extracción previa de lípidos

²MI-L: Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída

³MI-AGL: Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída en forma de ácidos grasos libres

⁴n.d.: no detectados

Para garantizar que las proteínas se han determinado de forma correcta, éstas se han obtenido de dos formas diferentes, de forma experimental a partir del método de Lowry, y de forma teórica. Comparando ambos métodos, se determina que los resultados obtenidos en ambos casos son muy similares, como se observa en la tabla 5, por lo que se considera que son datos obtenidos de forma experimental son aceptables.

Tabla 5. Comparación del cálculo de proteínas

		Proteínas calculadas mediante método de Lowry (%)	Proteínas calculadas de forma teórica (%)
<i>N. gaditana</i>	Muestra fresca	46,28	43,32
	MD ¹	61,02	60,08
	MI-L ²	60,11	58,58
	MI-AGL ³	63,78	61,62
<i>S. platensis</i>	Muestra fresca	70,65	68,88
	MD ¹	73,27	69,48
	MI-L ²	76,79	77,78
	MI-AGL ³	72,50	73,84
<i>I. galbana</i>	Muestra fresca	38,25	42,52
	MD ¹	51,44	51,75
	MI-L ²	56,10	49,57
	MI-AGL ³	58,86	53,33

¹MD: Método directo de producción de biodiésel, sin etapa de extracción previa de lípidos

²MI-L: Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída

³MI-AGL: Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída en forma de ácidos grasos libres

También se realizó un análisis elemental de todas las muestras que se han estudiado (tabla 6):

Tabla 6. Análisis elemental de las muestras

		N (%)	error (%)	C (%)	error (%)	S (%)	error (%)	H (%)	error (%)	O (%)
<i>N. gaditana</i>	Muestra fresca	6,93	0,01	46,96	0,11	0,75	0,06	7,35	0,03	38,01
	MD ¹	9,61	0,04	46,23	0,03	0,79	0,18	7,15	0,07	36,22
	MI-L ²	9,37	0,09	46,48	0,01	0,69	0,04	7,16	0,04	36,29
	MI-AGL ³	9,86	0,03	43,96	0,11	0,95	0,15	6,61	0,13	38,62
<i>S. platensis</i>	Muestra fresca	11,02	0,06	46,39	0,28	0,90	0,20	7,25	0,12	34,44
	MD ¹	11,12	0,05	41,89	0,13	4,05	0,05	6,53	0,07	36,41
	MI-L ²	12,44	0,03	44,72	0,08	0,70	0,04	6,81	0,09	35,32
	MI-AGL ³	11,81	0,09	42,78	0,20	1,51	0,52	6,59	0,08	37,31
<i>I. galbana</i>	Muestra fresca	6,80	0,07	44,20	0,22	1,20	0,21	6,73	0,12	41,06
	MD ¹	8,28	0,08	37,27	0,07	5,85	0,16	5,72	0,04	42,89
	MI-L ²	7,93	0,04	37,24	0,19	6,29	0,23	5,62	0,04	42,91
	MI-AGL ³	8,53	0,03	37,82	0,13	1,30	0,11	5,75	0,08	46,60

¹MD: Método directo de producción de biodiésel, sin etapa de extracción previa de lípidos

²MI-L: Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída

³MI-AGL: Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída en forma de ácidos grasos libres

Los resultados obtenidos en el análisis elemental, observado en la tabla 6, muestran que la cantidad de azufre existente en las biomásas es despreciable. A su vez, el porcentaje de nitrógeno presente en las muestras también es relativamente pequeño, aunque éste se ve incrementado en la cianobacteria *Spirulina platensis*, que prácticamente dobla el porcentaje con respecto a las dos microalgas, *N. gaditana* e *I. galbana*.

5.1.2. Resultados BMP: Producción de biogás y metano

En este apartado se muestran los resultados obtenidos en el ensayo de digestión anaerobia en discontinuo (batch) desarrollado a lo largo de 37 días.

5.1.2.1. Resultados de biodegradabilidad

Una vez realizado el experimento de digestión anaerobia, consistente en un estudio de la biodegradabilidad de las distintas biomásas examinadas, se pueden determinar una serie de características del residuo, entre las que para el presente trabajo destacan dos aspectos: el porcentaje de biodegradabilidad de la biomasa, y la variación que sufre la biodegradabilidad de un residuo ante un pre-tratamiento. Los resultados obtenidos de biodegradabilidad se observan en la tabla 7.

Tabla 7. Biodegradabilidad en reactor discontinuo de digestión anaerobia

		Biodegradabilidad (%)
<i>N. gaditana</i>	Blanco	4,24
	Muestra fresca	26,11
	MD ¹	29,26
	MI-L ²	30,28
<i>S. platensis</i>	MI-AGL ³	31,58
	Muestra fresca	31,27
	MD ¹	24,95
	MI-L ²	30,25
<i>I. galbana</i>	MI-AGL ³	34,35
	Muestra fresca	29,35
	MD ¹	23,88
	MI-L ²	23,61
	MI-AGL ³	33,44

¹MD: Método directo de producción de biodiésel, sin etapa de extracción previa de lípidos

²MI-L: Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída

³MI-AGL: Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída en forma de ácidos grasos libres

El dato más relevante observado (tabla 7) es que la biodegradabilidad más alta se obtiene siempre en la microalga o cianobacteria procedente del método indirecto de producción de biodiésel a partir de la fracción lipídica previamente extraída en forma de ácidos grasos (AGL). Este hecho puede ser debido

a que en el pretratamiento que ha sufrido la biomasa, considerando como tal la extracción de ácidos grasos libres, provoca una mayor rotura en la pared celular de la microalga, favoreciendo de esta forma la biodegradación de la biomasa. De esta forma, estos datos permiten evaluar la influencia que un pretratamiento de lisis tiene en el proceso de digestión anaerobia, comparando las cantidades de metano producidas por el residuo tanto fresco como el sometido al proceso de tratamiento de hidrólisis.

Por otra parte, se advierte que la cianobacteria presenta, exceptuando aquella procedente del proceso MD de producción de biodiésel, una mayor biodegradación frente a las microalgas estudiadas (*N. gaditana* e *I. galbana*) con el mismo tipo de pretratamiento. La explicación a este resultado es que las cianobacterias no tienen una pared celular tan robusta como las microalgas, lo cual las convierte en un sustrato más fácilmente biodegradable que las microalgas verdes, como las estudiadas en este trabajo [33].

Por tanto, se puede concluir que los ensayos de biodegradabilidad son una metodología clave para determinar la influencia de la lisis celular en el potencial metanogénico de las distintas biombras residuales en distintas condiciones de operación.

5.1.2.2. Análisis BMP y TMP

Los valores obtenidos a partir del experimento de BMP de las diferentes muestras se comparan con el potencial teórico de metano (TMP) calculado. Los resultados vienen reflejados en la tabla 8.

Tabla 8. Producción teórica máxima de metano (TMP) y producción experimental de metano (BMP)

		$B_{0,Th}$ (mL CH ₄ /g SV)	BMP _{EXP} (mL CH ₄ /g SV)
<i>N. gaditana</i>	Muestra fresca	576	320
	MD ¹	521	337
	MI-L ²	527	372
	MI-AGL ³	527	381
<i>S. platensis</i>	Muestra fresca	507	403
	MD ¹	434	309
	MI-L ²	469	396
	MI-AGL ³	502	427
<i>I. galbana</i>	Muestra fresca	561	318
	MD ¹	478	242
	MI-L ²	470	236
	MI-AGL ³	496	362

¹MD: Método directo de producción de biodiésel, sin etapa de extracción previa de lípidos

²MI-L: Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída

³MI-AGL: Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída en forma de ácidos grasos libres

Se observa que el valor experimental obtenido es menor al valor de TMP en todos los casos. Esto se debe a que el valor del potencial teórico de metano (TMP) es el límite superior de producción de metano por residuo alimentado y nunca puede ser superado por la producción real [25]. Es decir, el TMP es el valor ideal de producción de metano para una biomasa dada, y no puede ser igualado por la producción experimental debido a diversos factores. El primero de ellos consiste en que la biomasa posee compuestos orgánicos que no son biodegradables en condiciones anaerobias, y por tanto no llegará en ningún momento a una degradación total de la muestra. Una segunda razón es que es posible que haya materia orgánica que no esté accesible a los microorganismos que se encargan de realizar la digestión anaerobia. Además, es posible que exista limitación de nutrientes o incluso que haya compuestos inhibitorios que lleve a una menor producción de metano de la que se obtendría en condiciones óptimas. Por otra parte, el ensayo se realiza en un tiempo establecido, mientras que el TMP se considera a tiempo infinito, por lo que la producción se puede ver ligeramente reducida.

En la tabla 8 también se puede observar que la mayor producción de metano se produce con la cianobacteria *S. platensis* procedente del método indirecto de producción de biodiésel a partir de la fracción lipídica previamente extraída en forma de ácidos grasos (MI-AGL).

En las figuras 9, 10 y 11 se representan la producción neta acumulada de metano en función del tiempo de la microalga *N. gaditana*, la cianobacteria *S. platensis* y la microalga *I. galbana*, respectivamente. Además, en estos gráficos se puede analizar el metano producido dependiendo de las etapas previas que ha sufrido cada biomasa en la producción de biodiésel.

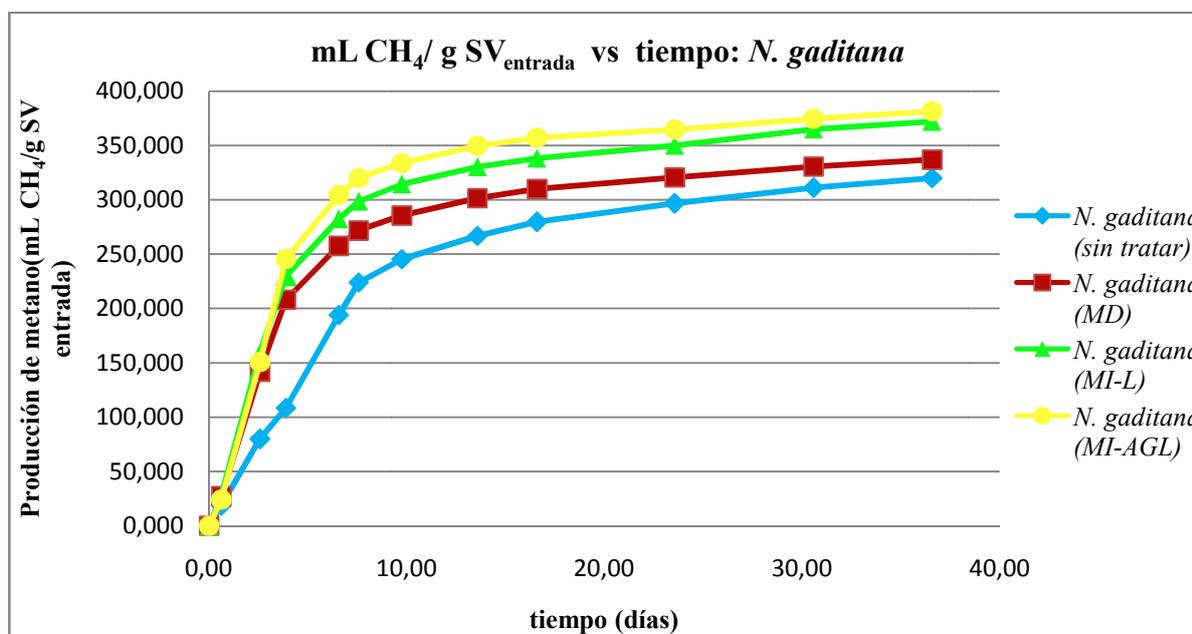


Figura 9. Producción neta acumulada de metano a partir de *N. gaditana*.
 (MD: Método directo de producción de biodiésel, sin etapa de extracción previa de lípidos; MI-L: Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída; MI-AGL: Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída en forma de ácidos grasos libres)

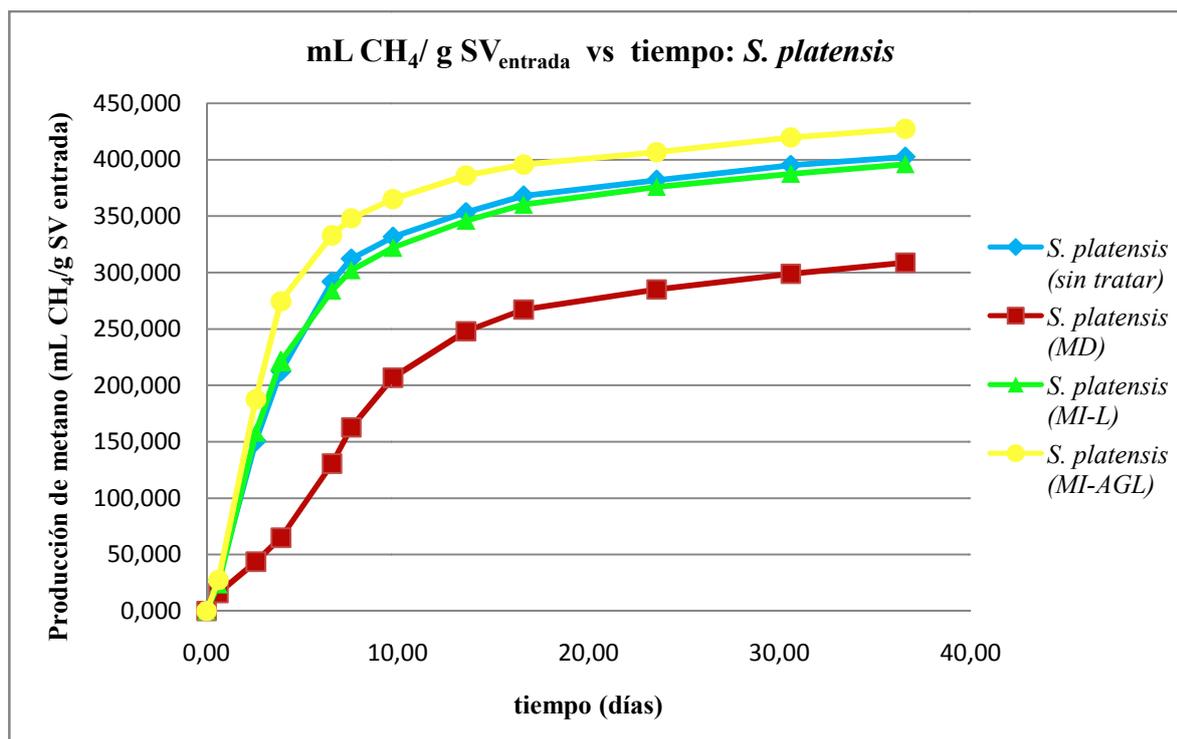


Figura 10. Producción neta acumulada de metano a partir de *S. platensis*.
 (MD: Método directo de producción de biodiésel, sin etapa de extracción previa de lípidos; MI-L: Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída; MI-AGL: Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída en forma de ácidos grasos libres)

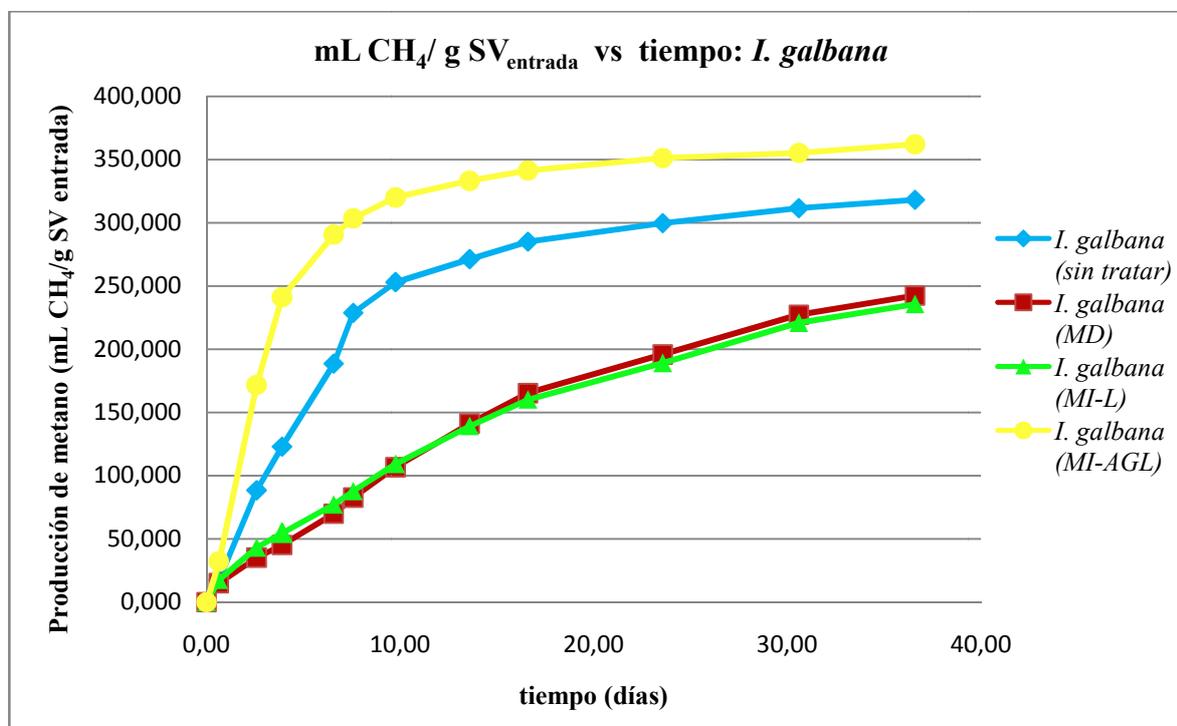


Figura 11. Producción neta acumulada de metano a partir de *I. galbana*.
 (MD: Método directo de producción de biodiésel, sin etapa de extracción previa de lípidos; MI-L: Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída; MI-AGL: Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída en forma de ácidos grasos libres)

Por otra parte, en las figuras 9, 10 y 11, se puede observar que la producción de metano de las diferentes biomazas ha llegado a una fase estacionaria, es decir, a su máxima producción.

A su vez, se determina que la mayor producción neta acumulada de metano se debe a la digestión anaerobia desarrollada a partir de biomasa residual procedente del proceso de producción de biodiésel por el método indirecto a partir de la fracción lipídica previamente extraída en forma de ácidos grasos libres (MI-AGL). Por tanto, se puede afirmar que el mejor proceso previo para las biomazas que se van a introducir como sustrato en el proceso de digestión anaerobia es el MI-AGL. Por ello, se realiza el gráfico de las diferentes biomazas procedentes del proceso MI-AGL, figura 12, para determinar que biomasa produce una mayor cantidad de metano. De esta forma, si se muestra la producción de metano de las distintas microalgas procedentes del proceso de producción de biodiésel por MI-AGL, se observa que la mayor producción de metano viene dada por la cianobacteria *S. platensis*.

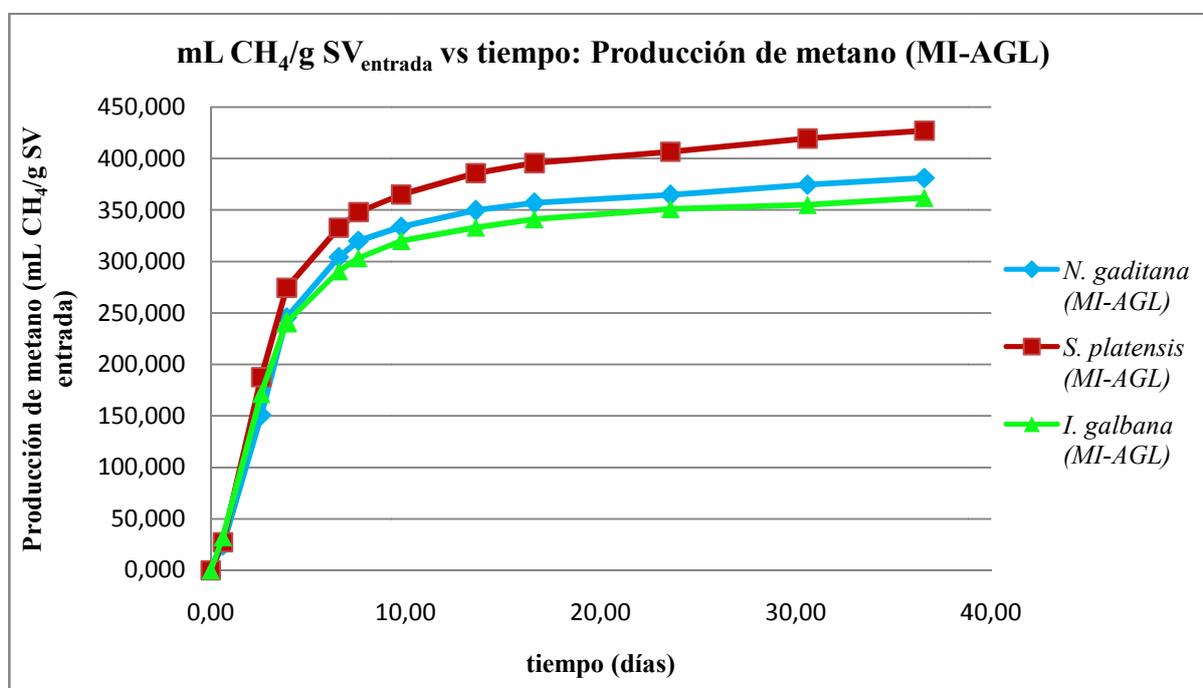


Figura 12. Producción neta acumulada de metano mediante biomazas residuales procedentes de MI-AGL. (MI-AGL: Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída en forma de ácidos grasos libres)

Por todo lo explicado, se puede concluir que el mejor sustrato para la digestión anaerobia es la cianobacteria *S. platensis* que ha sido extraída del proceso de producción de biodiésel realizado a partir del proceso MI-AGL.

5.2. FASE II: Modelos cinéticos para el proceso de digestión anaerobia

A partir de los resultados obtenidos en la segunda fase del trabajo fin de máster, se determina el modelo cinético más apropiado para las biomazas que se han estudiado.

5.2.1. Modelo cinético de primer orden

El proceso de digestión anaerobia, como ya se ha explicado anteriormente, se encuentra dividido en cuatro etapas: fase de hidrólisis, fase acidogénica, fase acetogénica y, finalmente, fase metanogénica. Por tanto, se debe tener en cuenta que alguna de estas cuatro etapas puede ser la etapa limitante, siendo en la gran mayoría de los casos la fase de hidrólisis o la fase metanogénica.

Por tanto, una vez realizado el experimento de BMP, con los resultados correctamente obtenidos y de buena calidad, se puede verificar si los datos experimentales se adecuan al modelo cinético de primer orden. La condición que debe cumplirse es que la fase de hidrólisis sea la reacción limitante del proceso de degradación anaerobia. Por tanto, se considera que la velocidad de hidrólisis es la velocidad de reacción del proceso.

Una vez se han determinado los valores del modelo cinético de primer orden, que pueden observarse en la tabla 9, éstos muestran la constante cinética de velocidad de hidrólisis, obtenida para los primeros días de ensayo de BMP.

Tabla 9. Constante cinética y producción de metano por modelo cinético de primer orden

		Constante cinética, k_h (d^{-1})	B_0 (mL CH_4/g SV)
<i>N. gadihana</i>	Muestra fresca	0,377	322,247
	MD ¹	0,289	338,284
	MI-L ²	0,294	373,780
	MI-AGL ³	0,405	382,535
<i>S. platensis</i>	Muestra fresca	0,375	404,622
	MD ¹	0,346	311,241
	MI-L ²	0,391	398,083
	MI-AGL ³	0,395	428,981
<i>I. galbana</i>	Muestra fresca	0,378	319,907
	MD ¹	0,250	247,764
	MI-L ²	0,237	240,815
	MI-AGL ³	0,349	363,068

¹MD: Método directo de producción de biodiésel, sin etapa de extracción previa de lípidos

²MI-L: Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída

³MI-AGL: Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída en forma de ácidos grasos libres

Se observa que la velocidad de degradación es mayor en las muestras que proceden del proceso de producción de biodiésel a partir de MI-AGL, como ocurría en los datos experimentales. Además, es relevante que la producción de metano mediante este modelo cinético es muy similar al obtenido de manera experimental.

Por otra parte, con los datos obtenidos se pueden realizar los gráficos para el modelo cinético de primer orden (anexo VI) y, a su vez, compararlos con los valores experimentales. De esta forma, se observa que la velocidad de producción de metano teórica en los primeros días es superior a la obtenida de forma experimental, estabilizando la producción de metano en los diez primeros días, mientras que en el BMP realizado se tardó 37 días en concluir el experimento. Además, analizando las biomásas cuya velocidad de hidrólisis es más baja, como es el caso de las biomásas *I. galbana* procedentes de la producción de biodiésel por MD o MI-L, o cuya velocidad de producción de metano no se reduce drásticamente a partir de la primera semana de ensayo, se puede ver como éstas no verifican el modelo cinético de primer orden.

Finalmente, se advierte que este modelo cinético se ajusta mejor a la producción de metano obtenida a partir de las biomásas procedentes del proceso de producción de biodiésel a partir de la fracción lipídica previamente extraída en forma de ácidos grasos libres (MI-AGL). Sin embargo, a pesar de esto, la producción de metano de las diferentes biomásas llega a su máxima producción en diez días, por lo que no se puede considerar como un modelo válido para las biomásas estudiadas.

En la figura 13 se muestra la producción de metano acumulada en el proceso de digestión anaerobia, obtenida para el mejor sustrato estudiado, la cianobacteria *Spirulina. platensis* extraída del proceso de producción de biodiésel mediante MI-AGL.

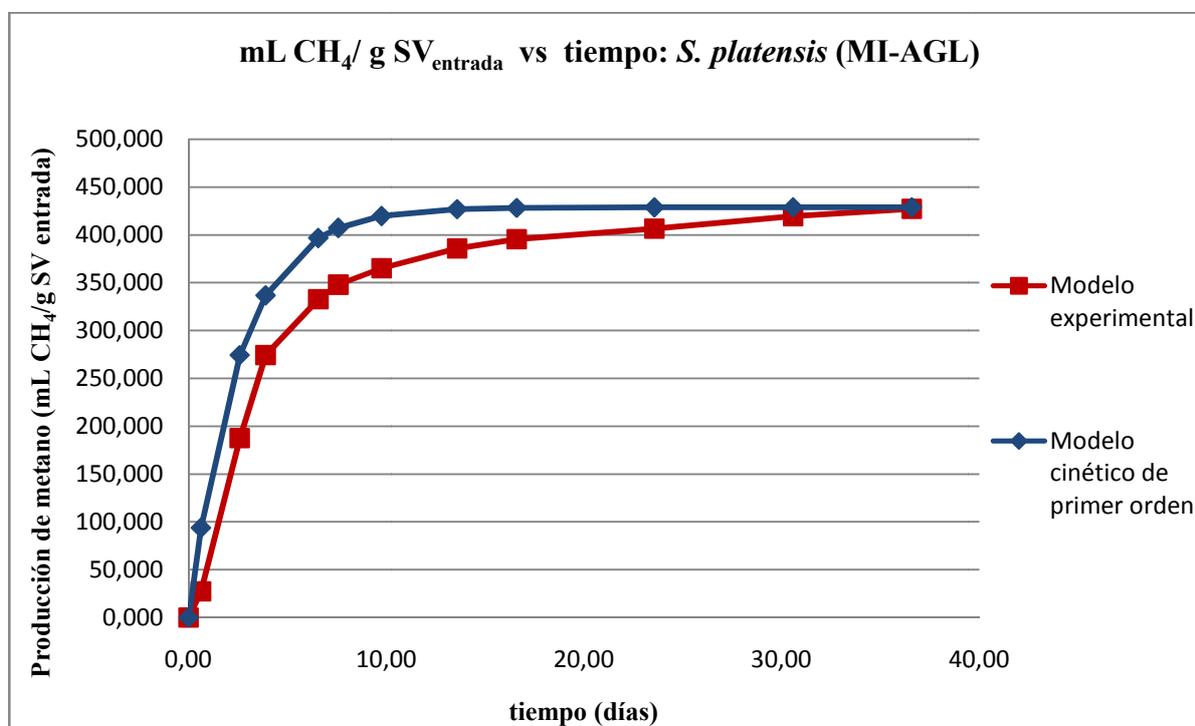


Figura 13. Producción de metano: BMP vs Modelo cinético de primer orden.
(MI-AGL: Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída en forma de ácidos grasos libres)

Por tanto, puede concluir que la reacción no es totalmente dependiente de la fase de hidrólisis del proceso. Además, se puede confirmar que este modelo cinético no se ajusta correctamente al modelo experimental realizado y, por ello, es necesario recurrir a otro modelo cinético.

5.2.2. Modelo cinético de Monod

A partir de los parámetros cinéticos calculados, se obtienen distintas gráficas con la producción teórica de metano siguiendo el modelo cinético de Monod. Para determinar si el modelo cinético es el apropiado, se comparan los resultados obtenidos por este método con aquellos obtenidos de forma experimental, observando la superposición de las líneas de tendencia.

5.2.2.1. Obtención de los parámetros cinéticos μ_{max} y K_s

A partir de los datos obtenidos en el modelo cinético de primer orden y de los datos experimentales obtenidos en laboratorio es posible realizar una simulación en discontinuo para obtener los parámetros cinéticos μ_{max} y K_s con ayuda del simulador SuperPro Designer®. Con los valores obtenidos en el simulador se realiza una optimización hasta obtener los valores reales de estos dos parámetros.

A continuación se muestra el gráfico obtenido para el cálculo de los dos parámetros del modelo cinético de Monod (figura 14), para la cianobacteria *Spirulina platensis* procedente del proceso MI-AGL, ya que éste ha sido el de mayor producción de metano en los experimentos realizados.

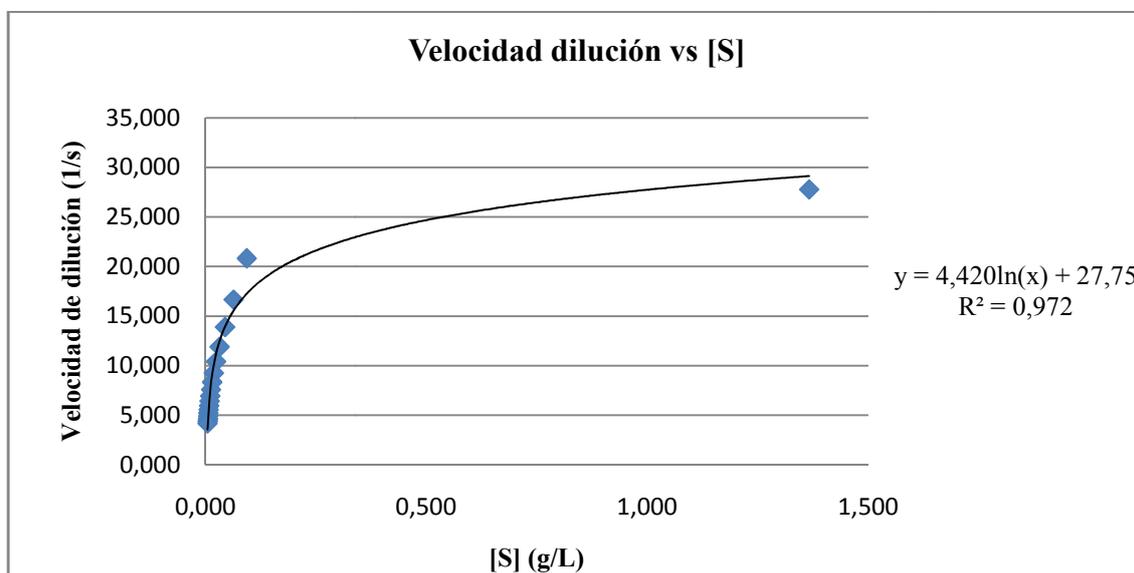


Figura 14. Velocidad de dilución en función del sustrato

Obteniendo como resultado los datos que aparecen en la tabla 10:

Tabla 10. Parámetros cinéticos de la ecuación de Monod

μ_{max} (1/h)	K_s (mg/L)
0,0096	93,01

5.2.2.2. Cálculo teórico de producción de metano

Una vez obtenidos los parámetros cinéticos μ_{\max} y K_s y con la ayuda de la ecuación de Monod, se realiza la simulación en el software SuperPro Designer® del proceso de digestión anaerobia en discontinuo para determinar si el modelo cinético es el apropiado, comparando estos resultados con aquellos obtenidos de forma experimental.

En los gráficos obtenidos a partir de esta metodología se observa, para las distintas biomásas estudiadas, la superposición prácticamente total de la producción teórica de metano con respecto a la producción obtenida de forma experimental. Así mismo, se observa un mejor ajuste de este modelo cinético con respecto al modelo cinético de primer orden. Los gráficos de las otras biomásas estudiadas se pueden observar en el anexo VII del presente trabajo.

A continuación, se muestra la producción de metano obtenido para el mejor sustrato para la digestión anaerobia, la cianobacteria *Spirulina platensis* extraída del proceso MI-AGL de producción de biodiésel (figura 15).

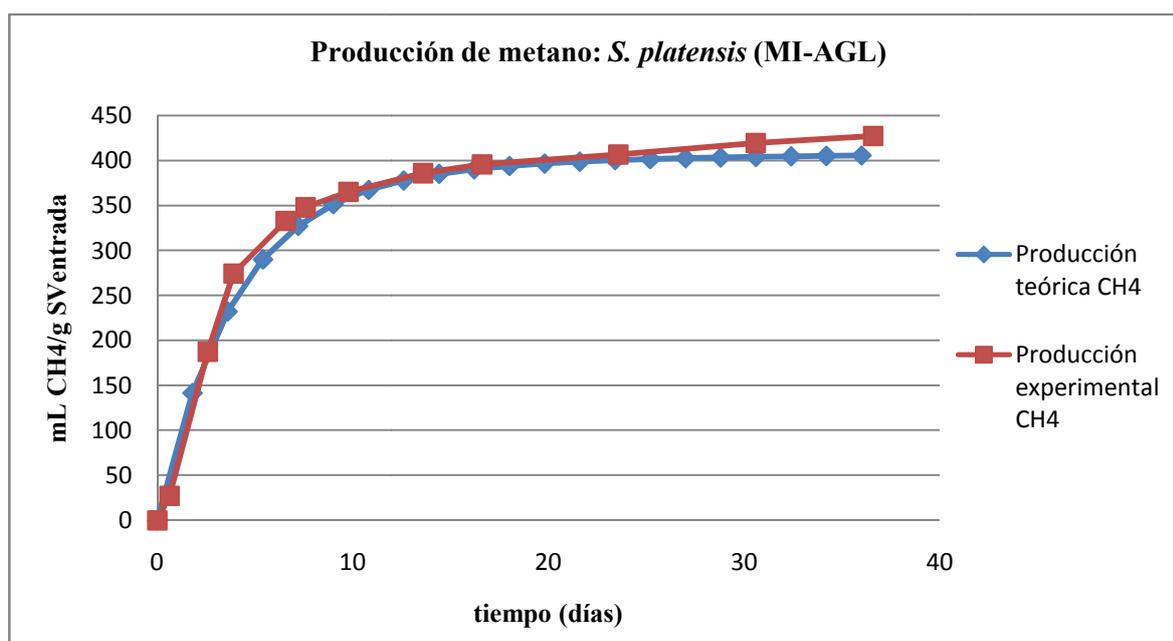


Figura 15. Comparación de producción de metano de forma experimental y por modelo cinético de Monod. (MI-AGL: Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída en forma de ácidos grasos libres)

Por tanto, se puede determinar que el modelo cinético de Monod verifica los datos experimentales obtenidos, mejorando sustancialmente al modelo cinético de primer orden en aquellos casos donde la velocidad de reacción es inferior, o cuya producción de metano no se ve reducida en gran medida en la primera semana de reacción.

Por todos estos motivos, se puede concluir que este modelo es adecuado para un posterior estudio del proceso de digestión anaerobio en continuo.

5.3. FASE III: Digestor CSTR a escala industrial

5.3.1. Simulación del proceso con el software SuperPro Designer®

Una vez se ha estudiado y optimizado los parámetros cinéticos de la reacción de digestión anaerobia y, a su vez, se ha obtenido de forma experimental que la mejor biomasa residual para este proceso es la cianobacteria *Spirulina platensis*, procedente del proceso de producción de biodiésel MI-AGL, se procede a escalar el proceso a nivel industrial.

Para ello, se toma como referencia la planta industrial de AlgaEnergy, situada en Cádiz, que procesa 100 t/año de biomasa. Por otro lado, la simulación del proceso ha sido llevada a cabo mediante el software SuperPro Designer®.

Para fijar las bases de la simulación, en primer lugar se fija el factor de servicio, que determina las horas en que la planta estará operativa a lo largo del año. Suponiendo un tiempo de operación de 7920 horas/año, el factor de servicio se calcula según la ecuación 16:

$$\text{Factor de servicio} = \frac{\text{Horas de operación}}{\text{año}} = \frac{7920(\text{h})}{8760(\text{h})} = 0,90$$

Ecuación 16. Factor de servicio

De esta forma, se puede obtener la capacidad de operación horaria, que será la base para el diseño y que es de 0,44 kg/h.

Como se ha detallado en el estudio experimental de las diferentes biomásas residuales, la digestión anaerobia se realiza en condiciones mesófilas, mientras que los parámetros de operación que se fijan en el digestor se detallan en la tabla 11:

Tabla 11. Parámetros del proceso de digestión anaerobia en continuo introducidos en el simulador

Parámetros del proceso de digestión anaerobia en continuo	
Temperatura (°C)	35
Tiempo de retención hidráulico, THR (días)	15
μ_{\max} (1/h)	0,0096
K_s (mg/L)	93,01

El proceso de operación es en continuo, donde al software (SuperPro Designer®) se le definen el flujo de materiales en la corriente de entrada, la temperatura de operación, el tiempo de retención hidráulico, la potencia específica de agitación, el agente de transferencia de calor, y el modelo cinético. El software entrega como resultado el flujo de producto y de subproductos en las corrientes de salida. En la tabla 12 se resumen los resultados obtenidos.

Tabla 12. Corriente de salida digester anaerobio en continuo

Corriente de salida del digester anaerobio	
Caudal másico de metano (kg/h)	0,095
Caudal volumétrico de metano (L/h)	144,82
Porcentaje de metano (%)	71,21
Caudal volumétrico de biogás (L/h)	203,37
Caudal volumétrico de biogás por ST _{S. platensis} (m ³ /t ST)	460,19

5.3.2. Comparación de la producción anual de *Spirulina platensis* en un CSTR frente a otros residuos agroindustriales

El biogás es producido en la industria a partir de diversos residuos agroindustriales mediante digestión anaerobia, entre los que destacan los mostrados en la tabla 13, donde se observa la producción anual de cada uno de ellos.

Tabla 13. Producción potencial de biogás a partir de distinto residuos

Residuo	Potencial de biogás (m ³ /t ST)	Riqueza en METANO (%)
<i>Spirulina platensis</i> (MI-AGL)	460	71.21
Residuos urbanos	400-700	60-65
Lodos EDAR	380-400	65-75
Purín de cerdo	250-350	65-70
Lodos lácteos	950-1100	75
Lodos papelera	180-210	55
Papel prensa	80-100	50
Paja de trigo	200-250	65

Comparando la producción anual de biogás de los diferentes residuos agroindustriales especificados, con la producción de biogás generada mediante la biomasa residual de *Spirulina platensis* procedente del proceso de producción de biodiésel mediante MI-AGL, que es la especie que ha sido seleccionada en el trabajo debido a su mayor rendimiento en la producción de biogás, se puede observar como el valor obtenido en el reactor anaerobio (CSTR) se encuentra dentro de los márgenes de producción anual de otros residuos, incluso mejorando el potencial de generación de biogás de la gran mayoría de los residuos.

Por tanto, se puede determinar que la viabilidad del proceso de digestión anaerobia para la cianobacteria *Spirulina platensis* sería óptima.

5.3.3. Propuesta de biorrefinería

Una vez realizada la caracterización de las biomásas residuales y del estudio experimental de la producción de metano a partir de las mismas, así como el estudio técnico que determina la viabilidad del proceso, se realiza una propuesta de mejora en la biorrefinería para el aprovechamiento de la biomasa residual, como a su vez, la utilización del digestato obtenido en la digestión anaerobia para la producción de compost y fertilizantes. De esta forma, se conseguiría incrementar la viabilidad de la biorrefinería, mejorando su rentabilidad, a la vez que se consigue la reducción de emisiones de gases de efecto invernadero, y se cierra el ciclo de los nutrientes

Se considera que la estrategia más idónea para la gestión del digestato es la separación sólido-líquido del subproducto, donde la fracción sólida se utiliza para la preparación de abonos de alto valor añadido mediante compostaje, mientras que la fracción líquida del digestato se utiliza para la producción de fertilizantes. La valorización del digestato mediante la gestión independiente de la fracción sólida y líquida del digestato consigue mejorar la redistribución de los constituyentes del subproducto, y, por lo tanto, mejora la capacidad de gestión de las dos fracciones del digestato. De este modo se favorece el uso de diferentes líneas de tratamiento, transporte y aplicación al suelo para cada una de las dos fases obtenidas [34].

En la propuesta, se considera una producción de compost para su posterior uso como abonos, mientras que de la fracción líquida del digestato se obtiene sulfato amónico y urea, dos importantes fertilizantes utilizados mundialmente.

En el anexo VIII se puede ver el diagrama de bloques de la biorrefinería seleccionada.

6. CONCLUSIONES

El presente proyecto se divide en tres fases, la primera realizada de forma experimental, una segunda parte teórica y, finalmente, una tercera parte de escalado del proceso a nivel industrial, basadas estas dos últimas partes en los resultados experimentales.

La fase experimental, parte más importante del trabajo, ha permitido determinar que:

- La producción de metano por digestión anaerobia oscila notablemente según haya sido tratada la biomasa que se va a utilizar como sustrato, donde la producción es mayor cuando la biomasa residual procede del método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída en forma de ácidos grasos libres (MI-AGL). Esto se debe a los tratamientos que sufren las biomásas en los diferentes procesos de producción de biodiésel, de forma que en aquellos donde se produzca una mayor rotura en la pared celular de la microalga y/o cianobacteria, se favorecerá la mayor biodegradabilidad de la misma, ya que permite acceder a una mayor cantidad de materia orgánica a los microorganismos que, de otra forma, sería inaccesible.
- La cianobacteria *Spirulina platensis* consigue una mayor producción de metano que las otras dos microalgas estudiadas (*N. gaditana*, *I. galbana*), como consecuencia de tener una pared celular menos robusta que éstas. Por tanto, *Spirulina platensis* se convierte en un sustrato más fácilmente biodegradable que las microalgas verdes.

En la parte teórica del trabajo se concluye que:

- La digestión anaerobia para este proceso no depende exclusivamente de la fase de hidrólisis, por lo que el modelo cinético de primer orden no ajusta de forma adecuada a los resultados experimentales.
- El modelo cinético de Monod es adecuado para la descripción del proceso de digestión anaerobia de las biomásas estudiadas, siendo aún mejor el ajuste para los procesos realizados con biomásas residuales procedentes del método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída en forma de ácidos grasos libres (MI-AGL), ya que en todas las biomásas estudiadas que proceden del proceso de biodiésel por MI-AGL, en comparación con los otros procesos estudiados, se favorece una producción exponencial de metano en los primeros días del proceso, debido a la accesibilidad de los microorganismos a materia orgánica que puedan transformar en metano, corroborándose por la mayor biodegradabilidad de las muestras en estos casos.
- A partir de la parte de escalado del reactor biológico, operando en régimen continuo, se concluye que la producción de biogás a partir de la biomasa residual *Spirulina platensis*, procedente del método seleccionado para la producción de biodiésel (MI-AGL), es viable a

escala industrial, ya que se encuentra dentro de los márgenes comerciales actuales, e incluso mejora el potencial de producción anual de biogás de otros residuos agroindustriales utilizados en la actualidad.

Recomendaciones:

En este trabajo se ha propuesto una biorrefinería, por lo que sería conveniente realizar un estudio técnico-económico de la misma.

Por otra parte, en la actualidad existen diversos tipos de biorreactores, por lo que podría ser de gran ayuda una comparación de los diferentes tipos de reactores de tecnología avanzados, eligiendo el reactor que sea más beneficioso y, realizando el diseño del mismo, previa optimización del tiempo de retención hidráulico.

7. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Abraham, E.R., Ramachandran, S. and Ramalingam, V., 2007. Biogas: Can it be an important source of energy? *Environmental Science and Pollution Research* 14 (1), 67-71.
- [2] Shafiee, S. and Topal, E., 2009. When will fossil fuel reserves be diminished? *Energy Policy*, 37, 181-189.
- [3] RCEP, Royal Commission on environmental pollution, 2004. Biomass as a renewable energy source. Published by the Royal Commission on Environmental Pollution. London SW1P 3JS.
- [4] Goldthau, A. and Sovacool, B. K., 2012. The uniqueness of the energy security, justice, and governance problem. *Energy Policy*, 41, 232-240.
- [5] Meehl, G. A., Stocker, T. F., Collins, W. D., Friedlingstein, P., Gaye, A. T., Gregory, J. M., Kitoh, A., Knutti, R., Murphy, J. M., Noda, A., Raper, S. C. B., Watterson, I. G., Weaver, A. J. and Zhao, Z. C., 2007. Global Climate Projections. In: *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*.
- [6] IEA, 2016. *World Energy Outlook 2016* [Online]. Paris: International Energy Agency.
- [7] Brennan, L. O., 2010. Biofuels from microalgae-A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14, 557-577.
- [8] Demirbaş, A. 2001. Biomass resource facilities and biomass conversion processing for fuels and chemicals. *Energy Conversion and Management*, 42, 1357-1378.
- [9] Chum H., Faaij, A., Moreira, J., Berndes, G., Dhamija, P., Dong, H., Gabrielle, B., 2011. Bioenergy. (eds.) *IPCC Special Report on Renewable Energy Sources and Climate Change Mitigation*. Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA: Cambridge University Press.

- [10] Milledge, J. J., 2010a. The challenge of algal fuel: economic processing of the entire algal biomass. *Condensed Matter -Materials Engineering Newsletter*, 4-6.
- [11] Upham, P., Thornley, P., Tomei, J. and Boucher, P., 2009. Substitutable biodiesel feedstocks for the UK: a review of sustainability issues with reference to the UK RTFO. *Journal of Cleaner Production*, 17, Supplement 1, S37-S45.
- [12] Havlík, P., Schneider, U. A., Schmid, E., Böttcher, H., Fritz, S., 2011. Global land-use implications of first and second generation biofuel targets. *Energy Policy*, 39, 5690-5702.
- [13] FAO, 2008. *The state of food and agriculture 2008*. New York: Food and Agriculture Organization.
- [14] Zhu, L., 2015 Biorefinery as a promising approach to promote microalgae industry: an innovative framework. *Renewable Sustainable Energy Rev.*; 41, 1376–84].
- [15] [Chisti, Y., 2007. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*, 25, 294-306.]
- [16] Bennion, E. P., Ginosar, D. M., Moses J., Agblevor F., Quinn, J. C., 2015. Lifecycle assessment of microalgae to biofuel: Comparison of thermochemical processing pathways. *Applied Energy*, 154, 1062–1071
- [17] Kosinkova, J., Doshi, A., Maire, J., Ristovski, Z., Brown, R., Rainey, T. J., 2015. Measuring the regional availability of biomass for biofuels and the potential for microalgae. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 49, 1271–1285.
- [18] Singh, B., Guldhe, A., Rawat, I., 2014. Towards a sustainable approach for development of biodiesel from plant and microalgae. *Renewable Sustainable Energy Rev*, 29, 216–45
- [19] Collet, P., Hélias, A., Lardon, L., Ras, M., Goy, R.A. and Steyer, J. P., 2011. Lifecycle assessment of microalgae culture coupled to biogas production. *Bioresource Technology*, 102, 207-214.
- [20] Zamalloa, C., Vulsteke, E., Albrecht, J. and Verstraete, W., 2011. The techno-economic potential of renewable energy through the anaerobic digestion of microalgae. *Bioresource Technology*, 102, 1149-1158.
- [21] Chen, Y., Cheng, J. J. and Creamer, K. S., 2008. Inhibition of anaerobic digestion process: A review. *Bioresource Technology*, 99, 4044-4064.
- [22] Vavilin, V. A., Rytov, S. V. and Lokshina, L. Y., 1996. A description of hydrolysis kinetics in anaerobic degradation of particulate organic matter. *Bioresource Technology*, 56, 229-237.
- [23] Vavilin, V. A., Rytov, S. V. and Lokshina, L. Y., 1997. A balance between hydrolysis and methanogenesis during the anaerobic digestion of organic matter. *Microbiology*, 66, 712-717.
- [24] Markou, G., Angelidaki, I. and Georgakakis, D., 2012. Microalgal carbohydrates: an overview of the factors influencing carbohydrates production, and of main bioconversion technologies for production of biofuels. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 96, 631-645.

- [25] Angelidaki, I. and Sanders, W., 2004. Assessment of the anaerobic biodegradability of macropollutants. *Re/Views in Environmental Science & Bio/Technology*, 3, 117-129.
- [26] Buitrón, G., 2002. Some factors that influence the biodegradability test results. Workshop on harmonization of anaerobic biodegradation, activity and inhibition assays.
- [27] González Fernández, C., García-Encina, P. A., 2009. Impact of substrate to inoculum ratio in anaerobic digestion of swine slurry. *Biomass and bioenergy*, 33, 1065–1069.
- [28] Angelidaki, I., Alves, M., Bolzonella, D., Borzacconi, L., Campos, J.L., Guwy, A.J., Kalyuzhnyi, S., 2009. Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays. *Water Sci. Technol.* 59 (5), 927-934.
- [29] APHA, American Public Health Association, American Water Works Association y Water Pollution Control Federation, 1992. Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales. 1ª Edición. Madrid España. ISBN: 9788479780319.
- [30] Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. and Smith, F., 1956. Calorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28: 350- 356.
- [31] Abbasi, T., Tauseef, S.M. and Abbasi, S.A., 2012. *Biogas Energy*. XIII, 169 p. ISBN: 978-1-4614-1039-3.
- [32] Rittmann, B. E., & McCarty, P. L. (2001). *Environmental biotechnology: Principles and applications (International ed.)*. Singapore: McGraw Hill.
- [33] Mendez, L., Mahdy A., Ballesteros, M., González-Fernández, C., 2015. *Chlorellavulgaris vs cyanobacterial biomasses: Comparison in terms of biomass productivity and biogas yield. Energy Conversion and Management*
- [34] Bernal, P., Albuquerque, J.A., Bustamante, M.A. y Clemente, R., 2011. *Guía de utilización agrícola de los materiales digeridos por biometanización*. Ministerio de Ciencia e Innovación. Disponible en : www.probiogas.es
- [35] Gerardi, M. H., 2003. *The Microbiology of Anaerobic Digesters*, New Jersey, John Wiley & Sons.
- [36] Chernicharo, C. A. D. L., 2007. *Anaerobic Reactors*, IWA Publishing.
- [37] Demirel, B. and Scherer, P., 2008. The roles of acetotrophic and hydrogenotrophic methanogens during anaerobic conversion of biomass to methane: a review. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 7, 173-190.
- [38] Zayed, G. and Winter, J., 2000. Inhibition of methane production from whey by heavy metals - Protective effect of sulfide. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 53, 726-731.
- [39] Koster, I. W. and Lettinga, G., 1988. Anaerobic digestion at extreme ammonia concentrations. *Biological Wastes*, 25, 51-59.
- [40] Mara, D. and Horan, N. J., 2003. *Handbook of water and wastewater microbiology*, Academic press.

8. ANEXOS

8.1. Anexo I: Fases de la digestión anaerobia

A continuación se describen las fases de la digestión anaerobia para una mayor comprensión del proceso que es estudiado en el presente trabajo fin de máster.

8.1.1. Fase de hidrólisis

La hidrólisis es la primera etapa del proceso de degradación anaerobia de sustratos orgánicos complejos. En esta fase se produce la hidrólisis, es decir, la rotura de estas moléculas complejas en monómeros de cadena corta [35]. De esta forma, la hidrólisis proporciona sustratos orgánicos para las siguientes etapas del proceso anaerobio, ya que los microorganismos únicamente pueden utilizar materia orgánica soluble que pueda atravesar su pared celular.

Por tanto, el proceso de hidrólisis se produce fuera de la célula por el uso de enzimas extracelulares producidas por microorganismos hidrolíticos [36]. Como las bacterias acidogénicas y acetogénicas son incapaces de utilizar los sustratos orgánicos complejos directamente y carecen de las enzimas extracelulares necesarias para desglose dicho material en sus monómeros constituyentes, principalmente aminoácidos, azúcares y ácidos grasos, la etapa de hidrólisis es crítica [22] [23] [37]

8.1.2. Fase acidogénica

Durante esta etapa se produce la fermentación de las moléculas orgánicas solubles en compuestos que pueden ser utilizados directamente por las bacterias metanogénicas (acético, fórmico e hidrógeno), y compuestos orgánicos más reducidos (ácido propionico, ácido valérico, ácido láctico, etanol,...) que son degradados posteriormente por las bacterias acetogénicas [36] para la producción de biogás.

La cinética del proceso es relativamente rápida, por lo que esta etapa es considerada como la más rápida del proceso de digestión anaerobia. Por otra parte, la acidogénesis es la etapa menos susceptible a sufrir la inhibición del proceso por metales pesados [38] o tener altas concentraciones de amoníaco [39].

8.1.3. Fase acetogénica

En la tercera etapa, conocida como acetogénesis, los productos intermedios formados en la acidogénesis son transformadas por las bacterias acetogénicas en hidrógeno, dióxido de carbono y ácido acético (figura 1). Las moléculas orgánicas de pequeño tamaño, especialmente los ácidos grasos volátiles (AGV), se transforman en acético.

Estas bacterias tienen un crecimiento más lento que las bacterias acidogénicas, viven en estrecha colaboración con las bacterias metanogénicas, y sólo pueden sobrevivir en simbiosis con el género que consume hidrógeno.

8.1.4. Fase metanogénica

La metanogénesis es la etapa final en el proceso de digestión anaerobia mediante el cual los productos obtenidos de la fermentación, ácido acético, hidrógeno y dióxido de carbono, son metabolizados por las bacterias metanogénicas en ausencia de oxígeno para producir metano. Sin metanógenos la descomposición de la materia orgánica en condiciones anaeróbicas no se produciría, ya que la acumulación de los productos de fermentación incrementaría la acidez del medio.

Esta etapa es considerada, junto con la fase de hidrólisis, el paso más lento en el proceso de digestión anaerobia, debido a la baja tasa de crecimiento de los metanógenos, su baja tolerancia al estrés ambiental, la facilidad con la que se inhiben y la especificidad de cada sustrato a los diferentes grupos de metanógenos [21] [35] [40]. Se distinguen dos grupos principales de microorganismos, los que degradan el ácido acético (bacterias metanogénicas acetoclásticas) y los que consumen hidrógeno (bacterias metanogénicas hidrogenotróficas), donde la vía principal de formación de metano, alrededor de un 70%, procede de las bacterias metanogénicas acetoclásticas [35].

8.2. Anexo II: Métodos de producción de biodiésel

Las biomásas estudiadas son un subproducto del proceso de producción de biodiésel, donde éste es obtenido de formas diferentes. En este trabajo se van a estudiar los tres métodos que se exponen a continuación:

8.2.1. Método directo de producción de biodiésel, sin etapa de extracción previa de lípidos

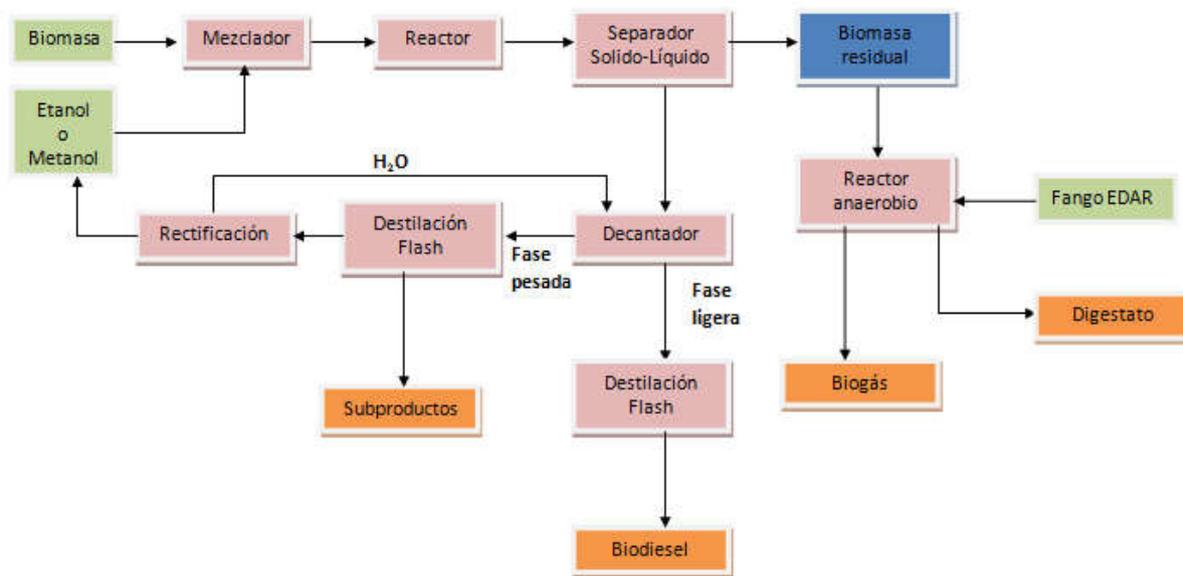


Figura 16. Producción de biodiésel a partir del proceso MD.
 (MD: Método directo de producción de biodiésel, sin etapa de extracción previa de lípidos)

8.2.2. Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída

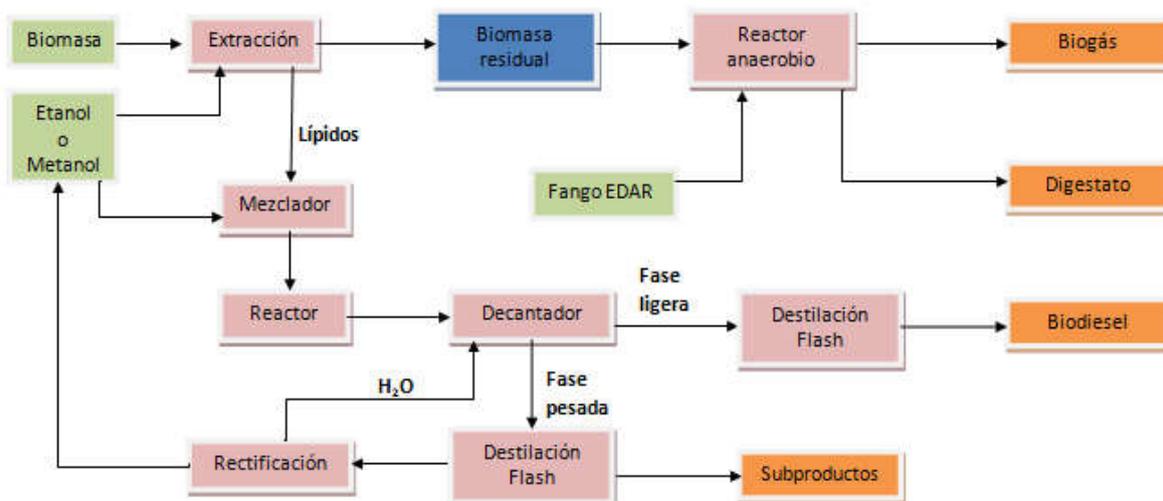


Figura 17. Producción de biodiésel a partir del proceso MI-L.
 (MI-L: Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída)

8.2.3. Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída en forma de ácidos grasos libres

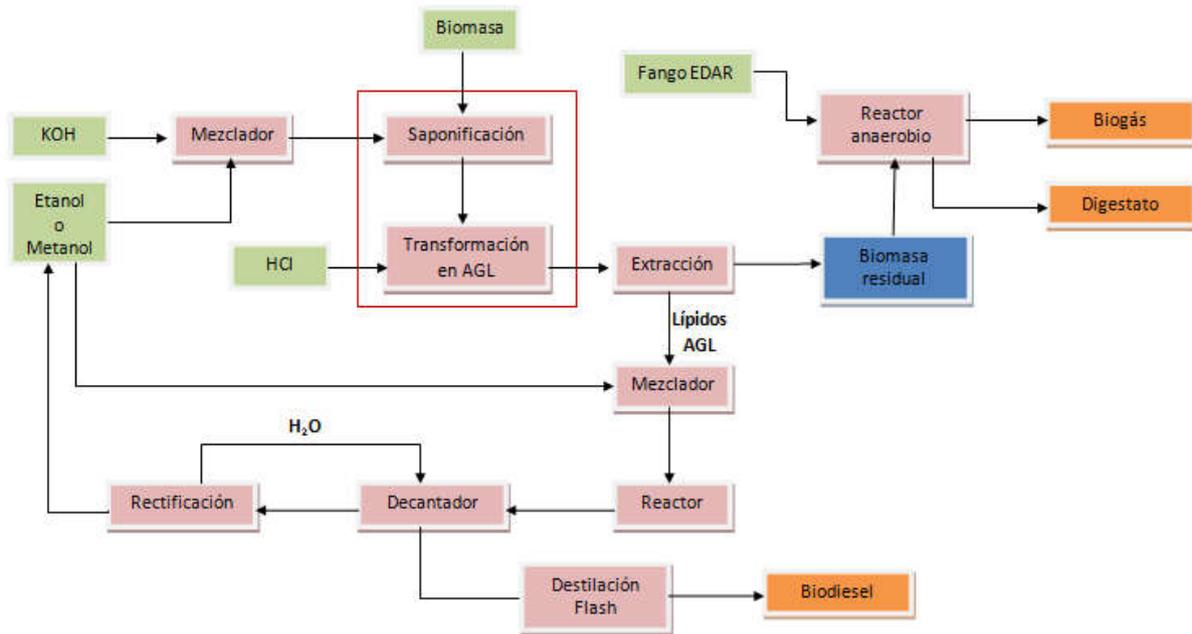


Figura 18. Producción de biodiésel a partir del proceso MI-AGL.
 (MI-AGL: Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída en forma de ácidos grasos libres)

8.3. Anexo III: Cálculo de la producción de metano

En el presente anexo se desarrolla la metodología de cálculo de la producción de metano de una forma detallada:

1. Cálculo de la presión acumulada en el interior de los digestores anaerobios (ecuación 17):

$$\Delta P(\text{bar}) = P_i - P_{i-1}$$

Ecuación 17. Diferencia de presión

Donde:

P_i = Presión obtenida con el manómetro

P_{i-1} = Presión atmosférica referida a la obtenida en la anterior medición

Corrección de la presión (ecuación 18):

$$\Delta P_{\text{corregida}}(\text{bar}) = \Delta P(\text{bar}) * \frac{(V_g + V_m)}{V_g}$$

Ecuación 18. Corrección de la presión

Donde:

V_g = Volumen gas

V_m = Volumen medidor (manómetro)

Presión total acumulada (ecuación 19):

$$\sum_{i=1}^n \Delta P(\text{bar}) = \Delta P_i - \Delta P_{i-1}$$

Ecuación 19. Presión total acumulada

Donde:

ΔP_i = Presión corregida

ΔP_{i-1} = Presión corregida medida anterior

2. Cálculo de los moles de biogás presentes en los digestores anaerobios a partir de la ecuación de gases ideales (ecuación 20):

$$n(\text{mol}) = \frac{\sum_{i=1}^n \Delta P \cdot V_h}{R \cdot T}$$

Ecuación 20. Ecuación de gases ideales

Donde:

$\sum_{i=1}^n \Delta P$ = Presión acumulada en el digestor anaerobio (bar)

V_h = Volumen disponible: $V_g + V_m$ (L)

R = Constante de los gases ideales ($0,083 \text{ bar} \cdot \text{L} / \text{mol} \cdot \text{K}$)

T = Temperatura (K).

3. Cálculo del volumen de biogás generado a partir de la ecuación de gases ideales en condiciones estándar (ecuación 21):

$$V_{biogas}(mL) = \frac{n \cdot R \cdot T}{P}$$

Ecuación 21. Ecuación de gases ideales para cálculo del volumen de biogás

Donde:

n= Número de moles de biogás (mol)

R = Constante de los gases ideales ($82 \text{ atm} \cdot \text{mL} / \text{mol} \cdot \text{K}$)

T = Temperatura en STP (273,15 K)

P= Presión en STP (1 atm)

4. Cálculo del volumen de metano en cada muestra (ecuación 22):

$$V_{CH_4}(mL) = x_{CH_4} \cdot V_{biogas}(mL)$$

Ecuación 22. Volumen de metano

Donde:

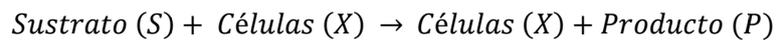
V_{biogas} = Volumen biogás acumulado (mL)

x_{metano} = fracción de metano en la composición del biogás.

5. Representación de la producción neta acumulada de metano en función del tiempo para cada muestra estudiada

8.4. Anexo IV: Modelo cinético de Monod

El crecimiento celular es un fenómeno muy complejo, pero que se puede estudiar de una forma relativamente sencilla mediante la ecuación de Monod. Con este modelo cinético se obtiene, a menudo, una buena descripción global del proceso. La ecuación 23 describe el crecimiento celular en función de la disponibilidad de un sustrato limitante y se puede expresar de la siguiente manera:



$$r_x = \frac{dx}{dt} = \mu = \mu_{max} \cdot \frac{S \cdot X}{K_S + S}$$

Ecuación 23. Velocidad de crecimiento celular

Donde r_x la velocidad de crecimiento de la células, μ_{max} la velocidad específica máxima de crecimiento y K_S la constante de Monod.

La ecuación en función de la velocidad específica de crecimiento se define en la ecuación 24:

$$\mu = \frac{\mu_{max} \cdot S}{K_S + S}$$

Ecuación 24. Velocidad específica de crecimiento celular

Donde μ_{max} es el máximo valor que puede alcanzar la velocidad de crecimiento cuando la concentración de sustrato es mucho mayor que la constante K_S , y las concentraciones del resto de nutrientes no han cambiado de forma considerable, donde K_S es el valor de la concentración del nutriente limitante cuando la velocidad específica de crecimiento es la mitad de la máxima. Para valores de sustrato inferiores a K_S , la velocidad de crecimiento depende de una forma lineal del sustrato, mientras que para valores superiores del mismo con respecto a K_S , la velocidad de crecimiento se hace independiente del sustrato.

El modelo cinético de Monod sólo describe los periodos de crecimiento exponencial y a la fase estacionaria del proceso.

Entre los grandes inconvenientes que presenta el uso de la ecuación de Monod, se encuentra la correcta determinación del valor de K_S , ya que este es normalmente muy pequeño y no es fácil de definir.

8.5. Anexo V: Quimiostato

El reactor utilizado en el presente proyecto es un reactor tanque agitado, comúnmente llamado quimiostato, que opera en continuo y en estado estacionario, es decir, donde el volumen total contenido en el reactor es constante. El quimiostato está formado por un sistema de agitación que homogeniza la mezcla, tanto en concentración de biomasa, nutrientes y producto como en los parámetros físicos como la temperatura y el pH.

La principal ventaja de operar en continuo es la retirada de producto y el suministro de sustrato fresco al reactor, de forma que se mejoran las condiciones en el interior del reactor aumentando la producción del producto deseado.

Las ecuaciones que definen a este reactor son las específicas de reactores de mezcla perfecta operando en continuo. La cinética considerada es la de Monod, tal y como se ha comprobado a partir de las simulaciones con el software SuperPro Designer®, sabiendo que se está haciendo una aproximación. También se considerará régimen estacionario.

Se debe tener en cuenta que la alimentación al reactor de una baja concentración de sustrato limitante o un aumento considerable de una sustancia tóxica en el mismo, provoca que el crecimiento de las células pase de ser exponencial a estacionario.

En cambio, si se produce un aporte de sustrato al reactor que hace que la concentración de sustrato sea constante, esto causará un estado de equilibrio, en el cual, la concentración de biomasa también será constante, consiguiendo de esta forma llegar al régimen estacionario en el reactor.

La ecuación de balance de materia (ecuación 25), donde el término de acumulación es nulo, se observa a continuación:

$$V \cdot r_x + Q \cdot (X_e - X) = 0$$

Ecuación 25. Balance de materia para un quimiostato

Si se parte de que las concentraciones de producto e inóculo son nulas en el caudal de entrada de alimentación de sustrato fresco (alimentación estéril), se pueden escribir las siguientes ecuaciones (de la ecuación 26 a 29):

$$X = Y_X \cdot \left[S_e - \frac{D \cdot K_S}{\mu_{max} - D} \right]$$

Ecuación 26. Inóculo para un quimiostato

$$S = \frac{D \cdot K_S}{\mu_{max} - D}$$

Ecuación 27. Sustrato para un quimiostato

$$P = \frac{Y_P \cdot \mu \cdot X}{D}$$

Ecuación 28. Producto para un quimiostato

$$D = \frac{Q}{V}$$

Ecuación 29. Velocidad de dilución para un quimiostato

Donde las concentraciones de biomasa (X), sustrato (S) y producto (P) son las variables que definen el estado del proceso. Por otra parte, la velocidad de dilución (D) y el sustrato de entrada (S_e) son variables que se fijan, mientras que la velocidad máxima de crecimiento (μ_{max}), la constante de Monod (K_S), y los rendimientos de biomasa ($Y_{X/S}$) y producto ($Y_{P/S}$) con respecto al sustrato, son parámetros cinéticos y estequiométricos característicos del proceso.

Como se opera sin recirculación se puede dar un problema que hay que tener en cuenta. El lavado del reactor. Éste se da cuando la velocidad de dilución se iguala a la velocidad específica de crecimiento de las células ($D = \mu_{max}$). Cuando estos dos parámetros se igualan, implica que el flujo de biomasa hacia el exterior es mayor que flujo aportado por el crecimiento celular de forma que la concentración de biomasa en el reactor disminuye de forma drástica y, por tanto, la concentración de microorganismos sería ínfima. La concentración del producto también sería muy pequeña ya que la velocidad de dilución es máxima.

Operar cerca de las condiciones de lavado es beneficioso ya que la productividad se hace máxima, pero, a su vez, es arriesgado ya que cualquier cambio en las variables del proceso (temperatura, concentración de entrada de sustrato, caudales...) puede conllevar al lavado del reactor.

Para que no se produzca el lavado del reactor, la velocidad de dilución debe ser menor que la velocidad máxima de crecimiento (μ_{max}), para que el reactor no entre en inestabilidad (ecuación 30):

$$D_{crítica} = \mu_{max} \cdot \frac{S_e}{K_S - S_e}$$

Ecuación 30. Velocidad crítica de dilución

El valor de la velocidad de dilución que maximiza la productividad, sin entrar en inestabilidad, se observa en la ecuación 31:

$$D_{max} = \mu_{max} \cdot \left[1 - \left(\frac{S_e}{K_S - S_e} \right)^{0,5} \right]$$

Ecuación 31. Velocidad de dilución para la máxima productividad del quimiostato

8.6. Anexo VI: Gráficos del modelo cinético de primer orden

8.6.1. Nannochlorosis gaditana

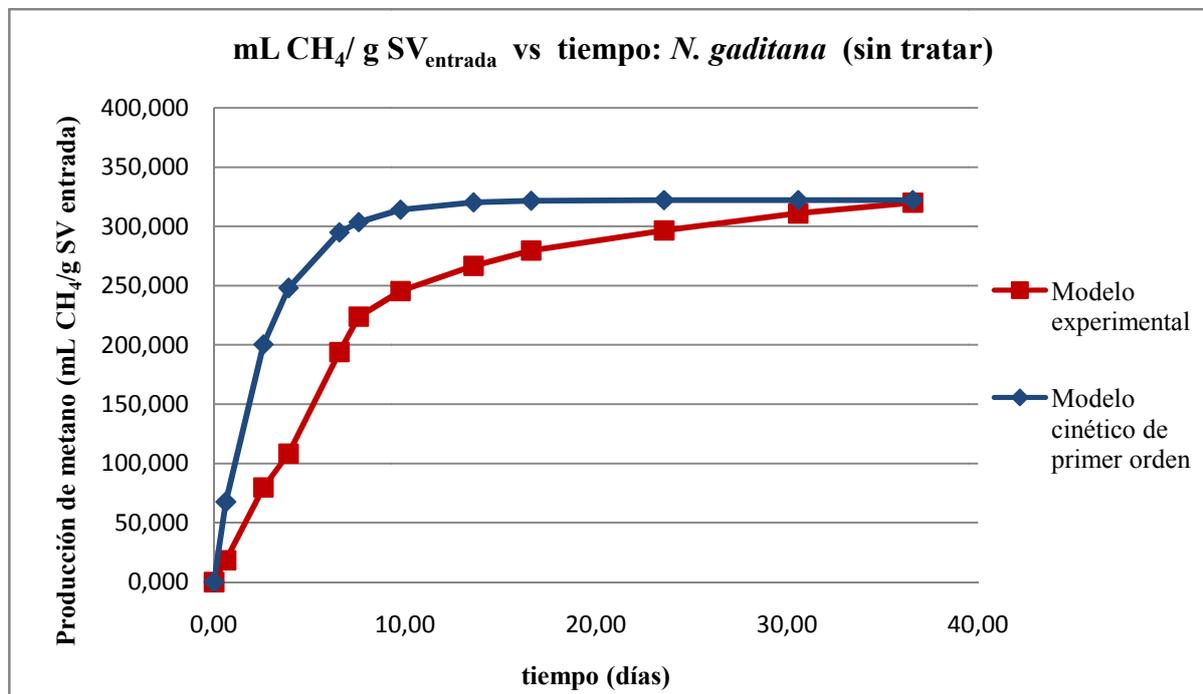


Figura 19. Producción de metano de *N. gaditana* sin tratar para modelo cinético de primer orden.

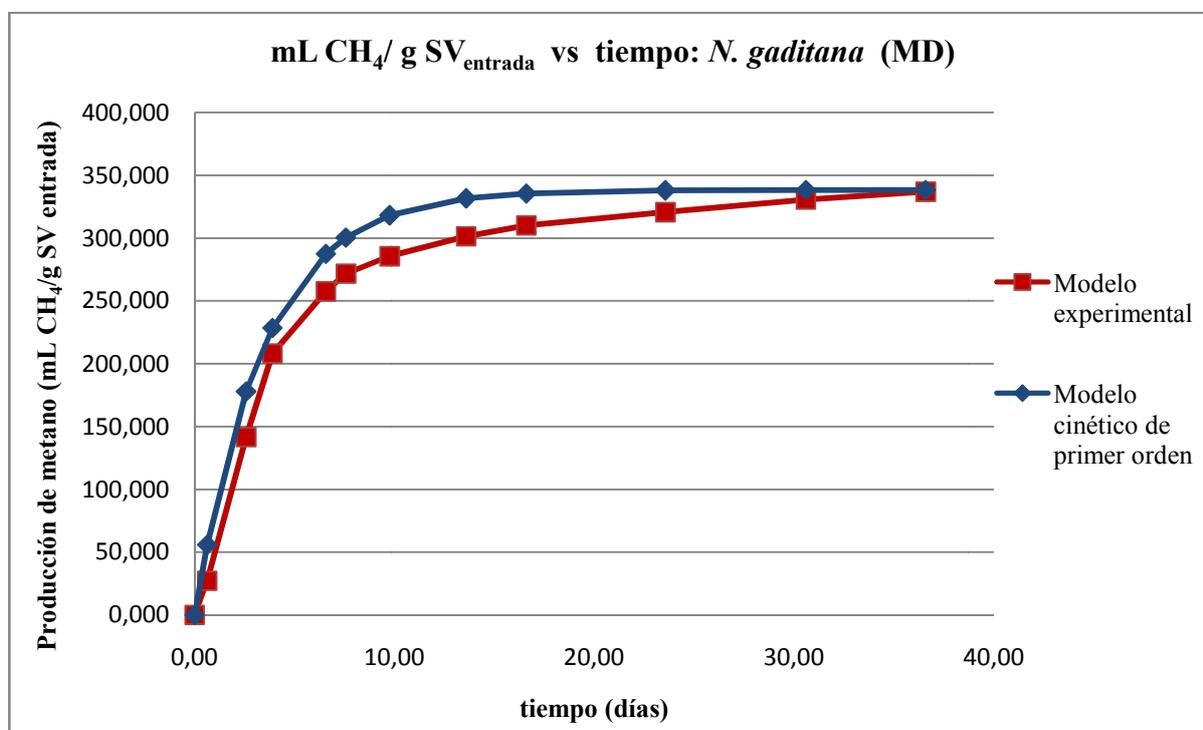


Figura 20. Producción de metano de *N. gaditana* por MD para modelo cinético de primer orden. (MD: Método directo de producción de biodiésel, sin etapa de extracción previa de lípidos)

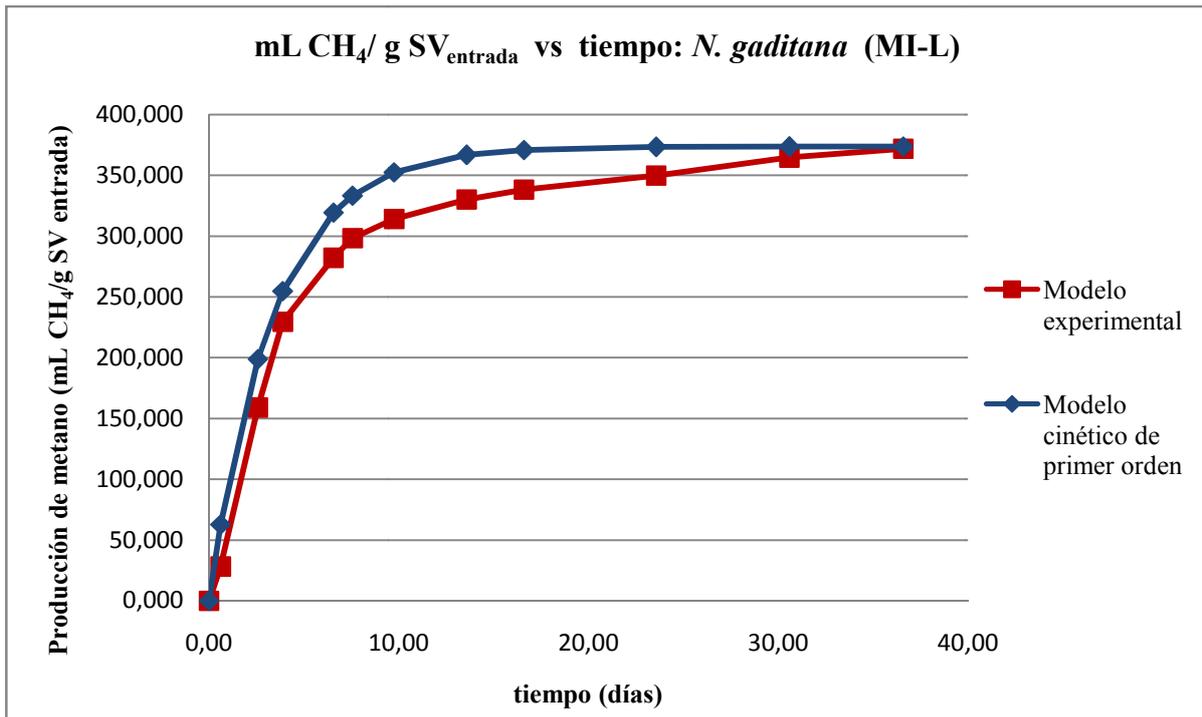


Figura 21. Producción de metano de *N. gaditana* por MI-L para modelo cinético de primer orden.
 (MI-L: Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída)

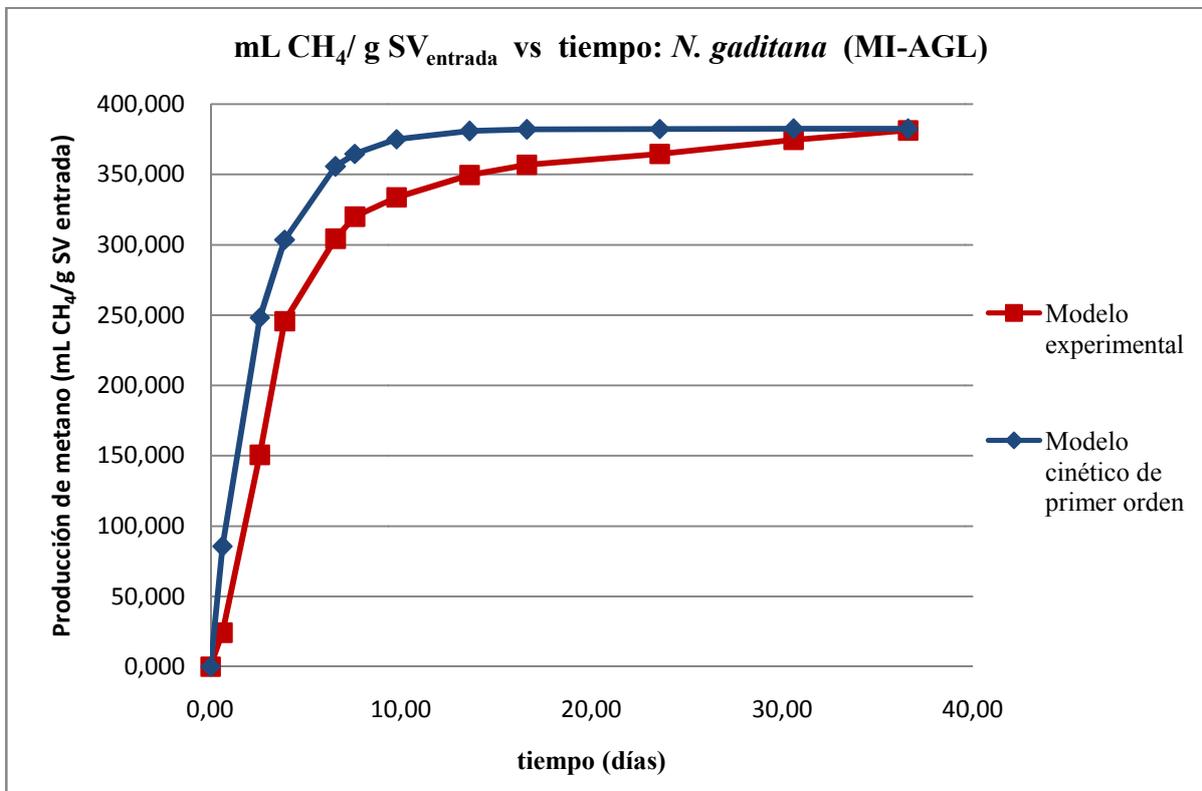


Figura 22. Producción de metano de *N. gaditana* por MI-AGL para modelo cinético de primer orden.
 (MI-AGL: Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída en forma de ácidos grasos libres)

8.6.2. *Spirulina platensis*

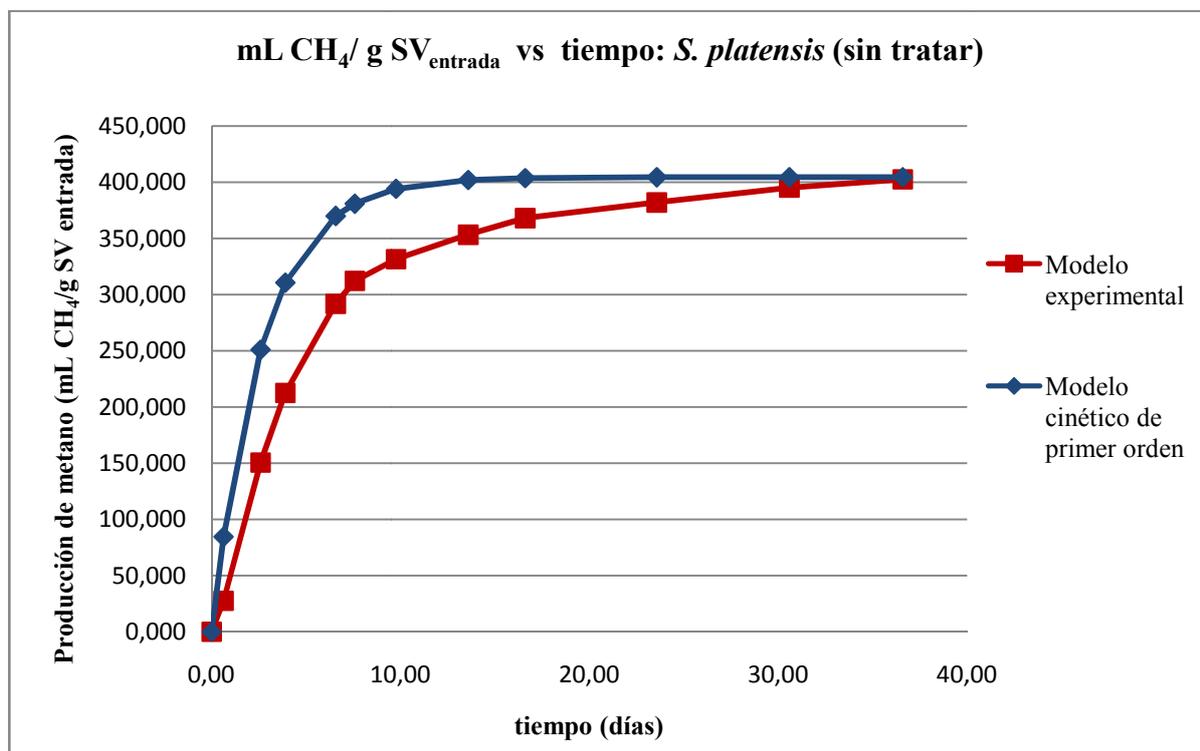


Figura 23. Producción de metano de *S. platensis* sin tratar para modelo cinético de primer orden.

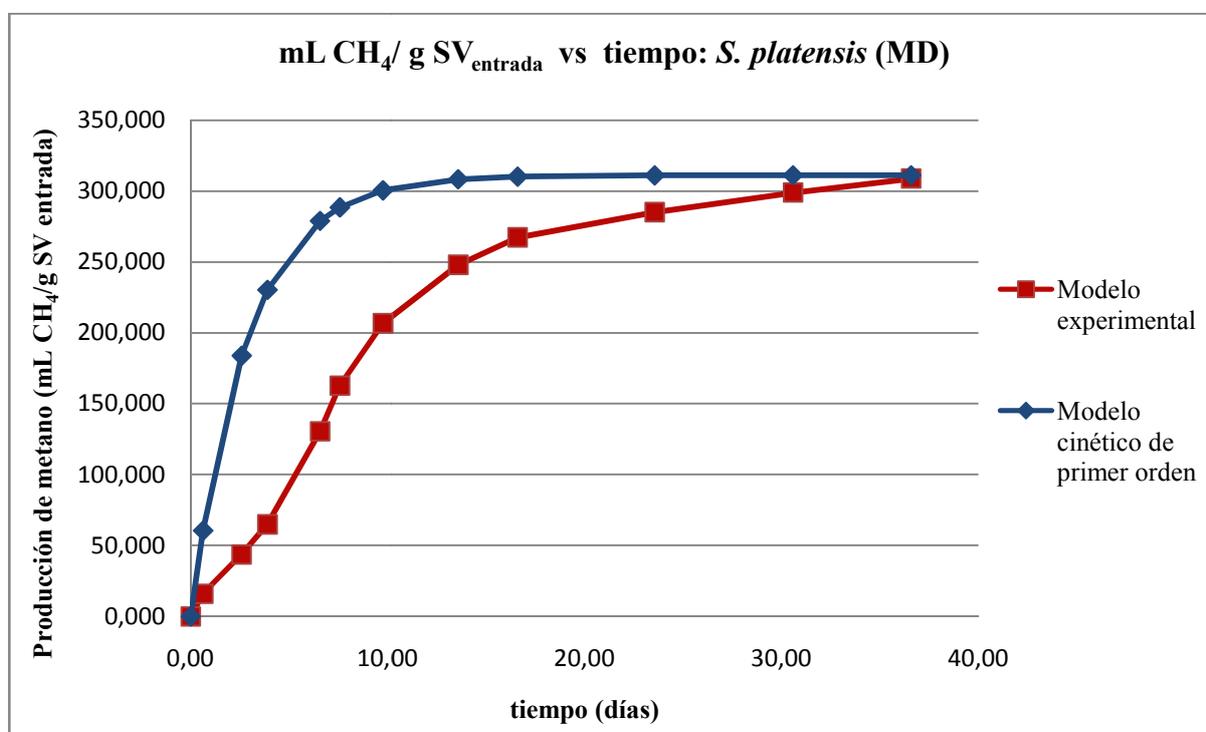


Figura 24. Producción de metano de *S. platensis* por MD para modelo cinético de primer orden. (MD: Método directo de producción de biodiésel, sin etapa de extracción previa de lípidos)

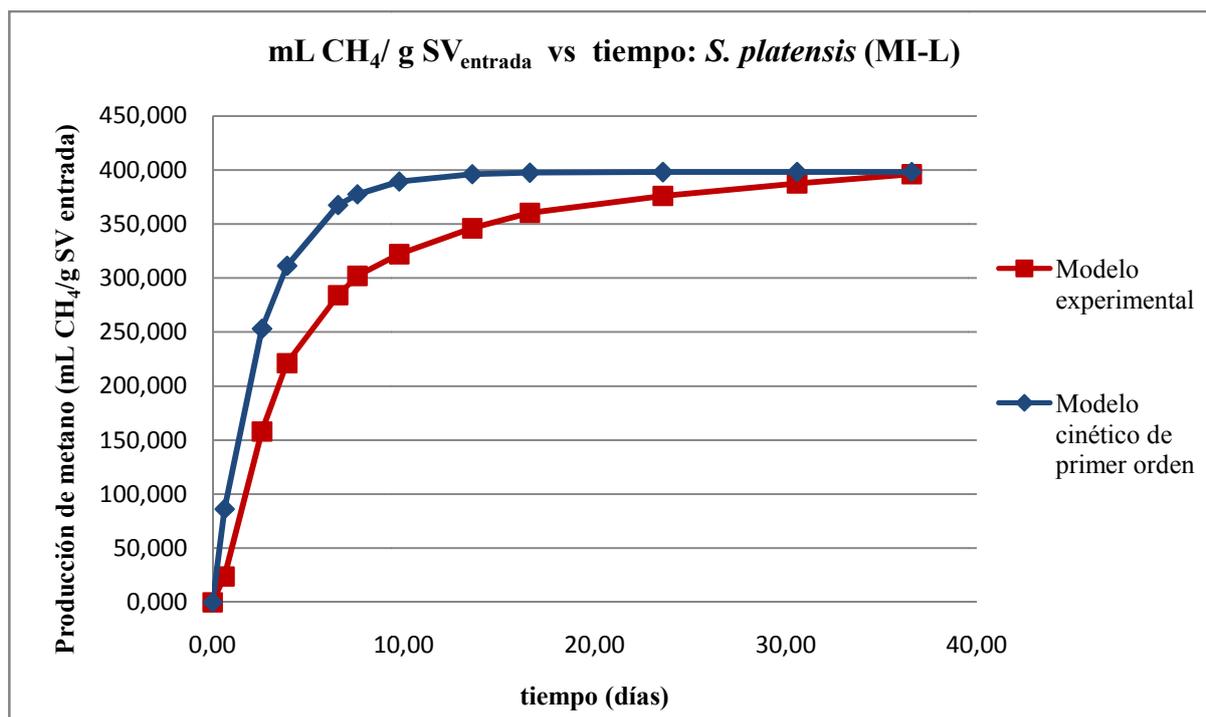


Figura 25. Producción de metano de *S. platensis* por MI-L para modelo cinético de primer orden.
(MI-L: Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída)

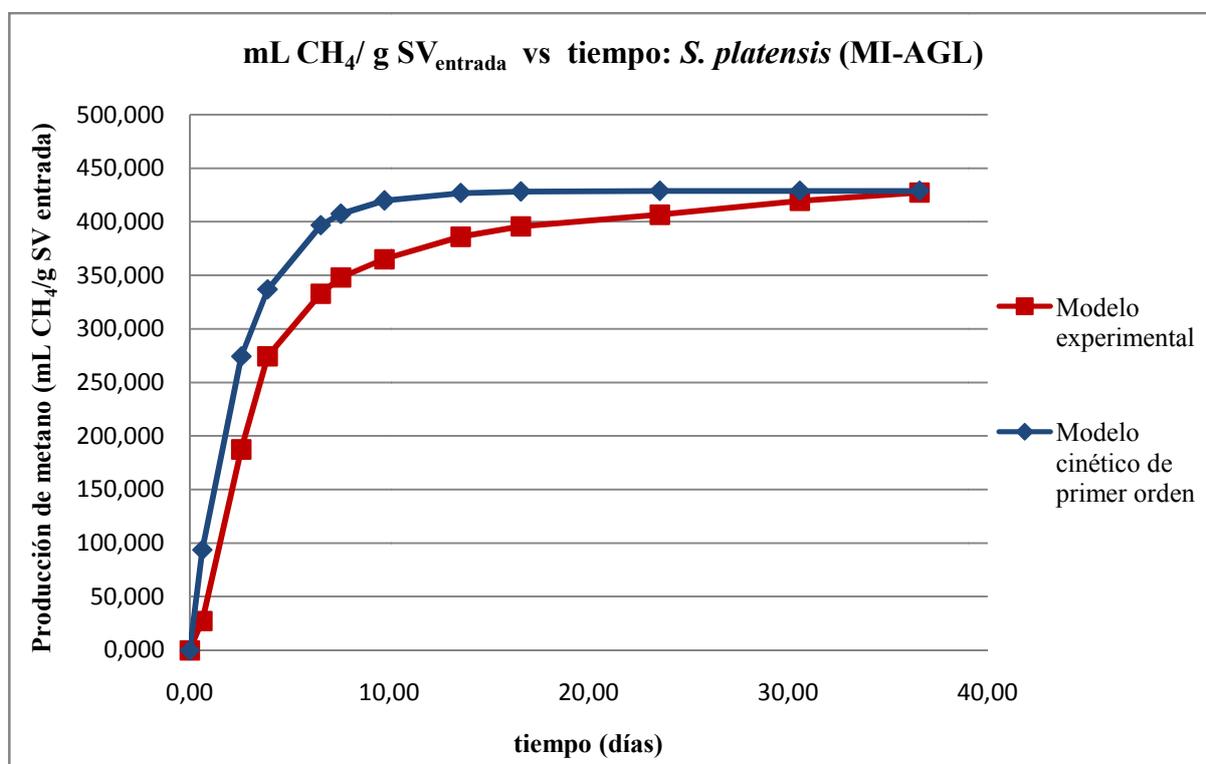


Figura 26. Producción de metano de *S. platensis* por MI-AGL para modelo cinético de primer orden.
(MI-AGL: Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída en forma de ácidos grasos libres)

8.6.3. *Isochrysis galbana*

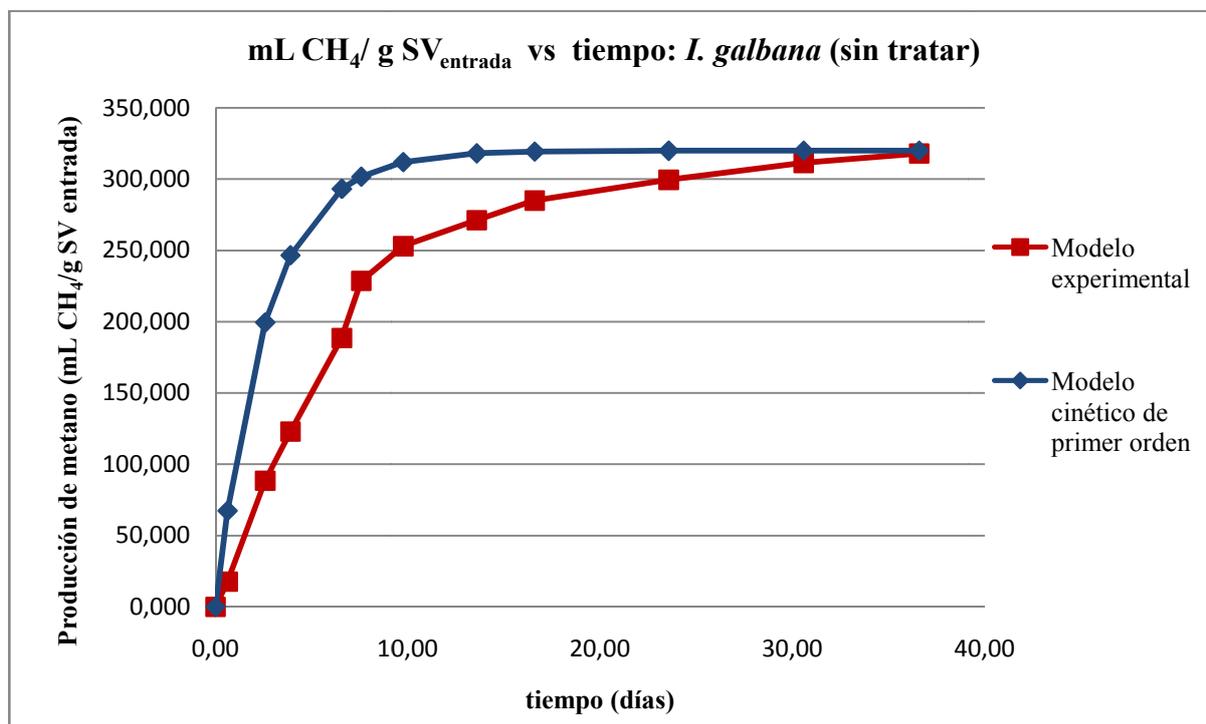


Figura 27. Producción de metano de *I. galbana* sin tratar para modelo cinético de primer orden

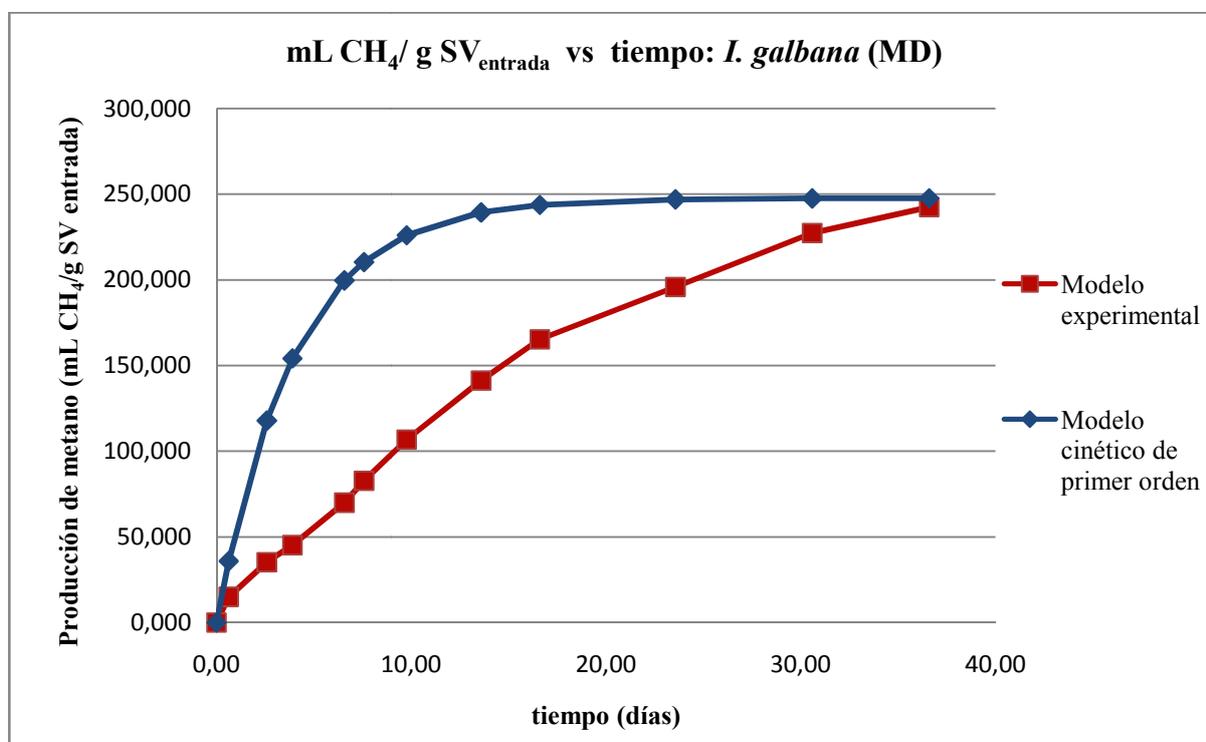


Figura 28. Producción de metano de *I. galbana* por MD para modelo cinético de primer orden. (MD: Método directo de producción de biodiésel, sin etapa de extracción previa de lípidos)

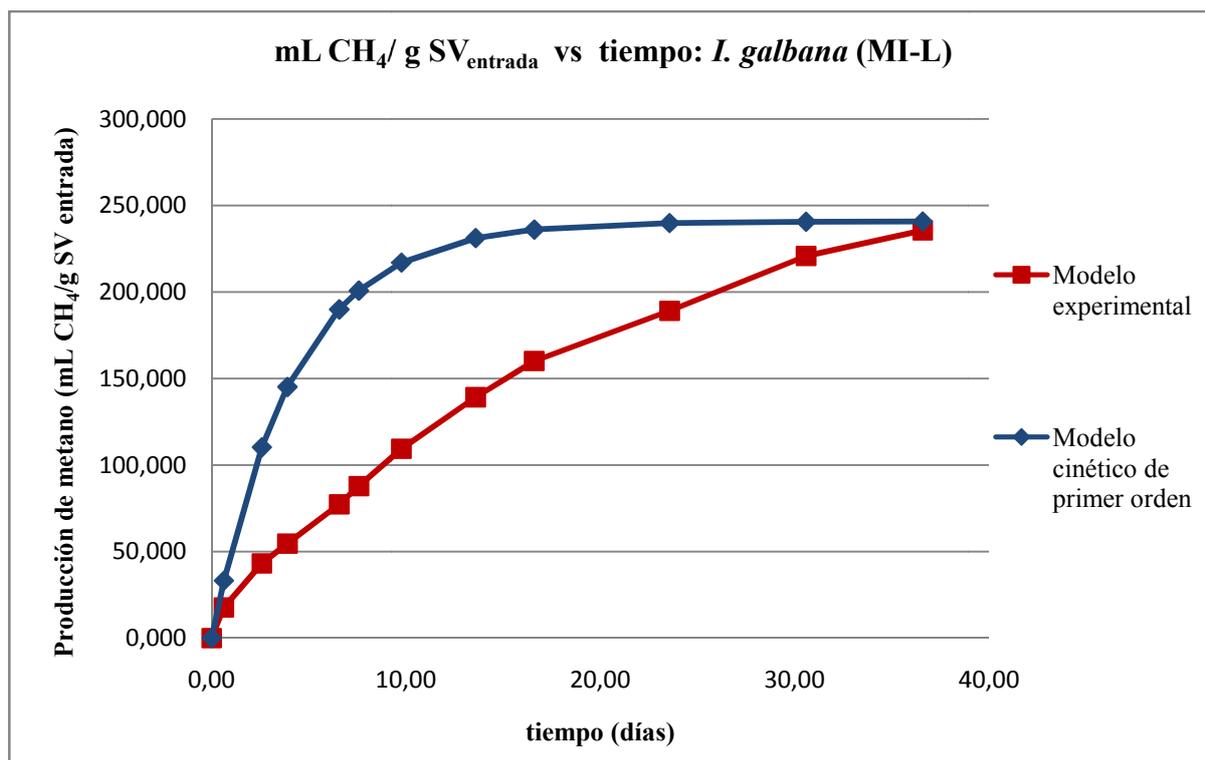


Figura 29. Producción de metano de *I. galbana* por MI-L para modelo cinético de primer orden. (MI-L: Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída)

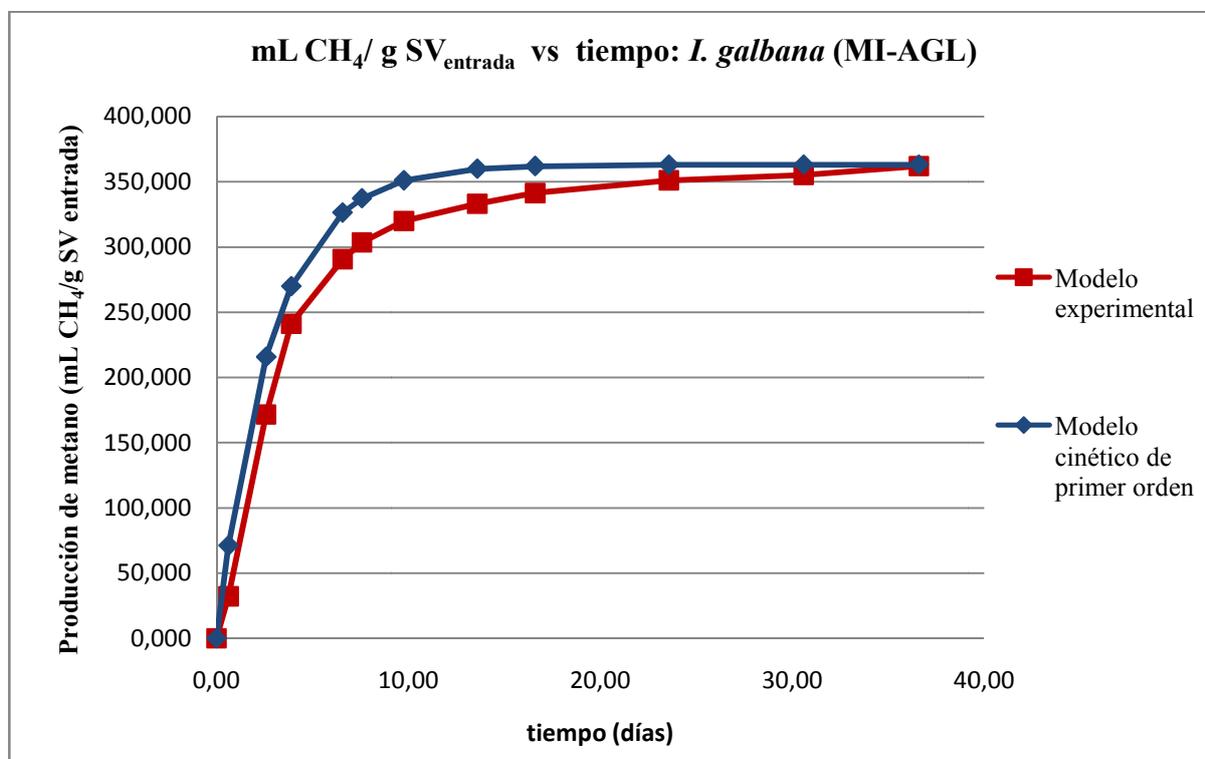


Figura 30. Producción de metano de *I. galbana* por MI-AGL para modelo cinético de primer orden. (MI-AGL: Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída en forma de ácidos grasos libres)

8.7. Anexo VII: Gráficos del modelo cinético de Monod

8.7.1. Nannochlorosis gaditana

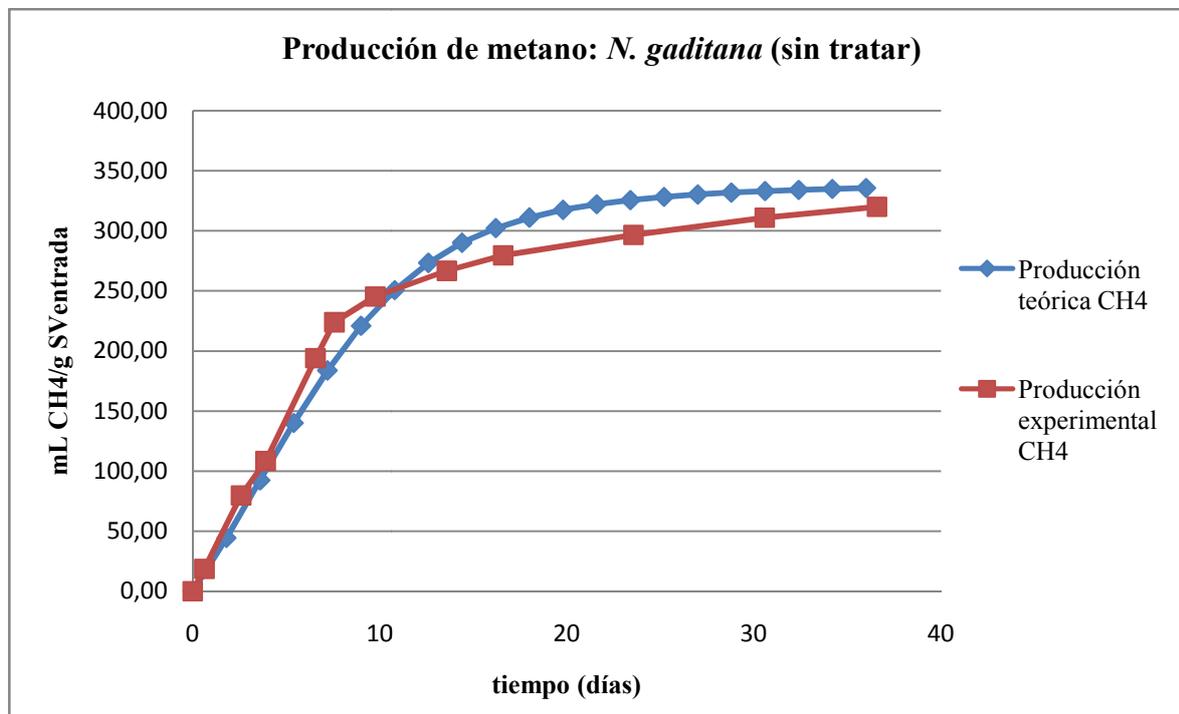


Figura 31. Producción de metano de *N. gaditana* sin tratar para modelo cinético de Monod

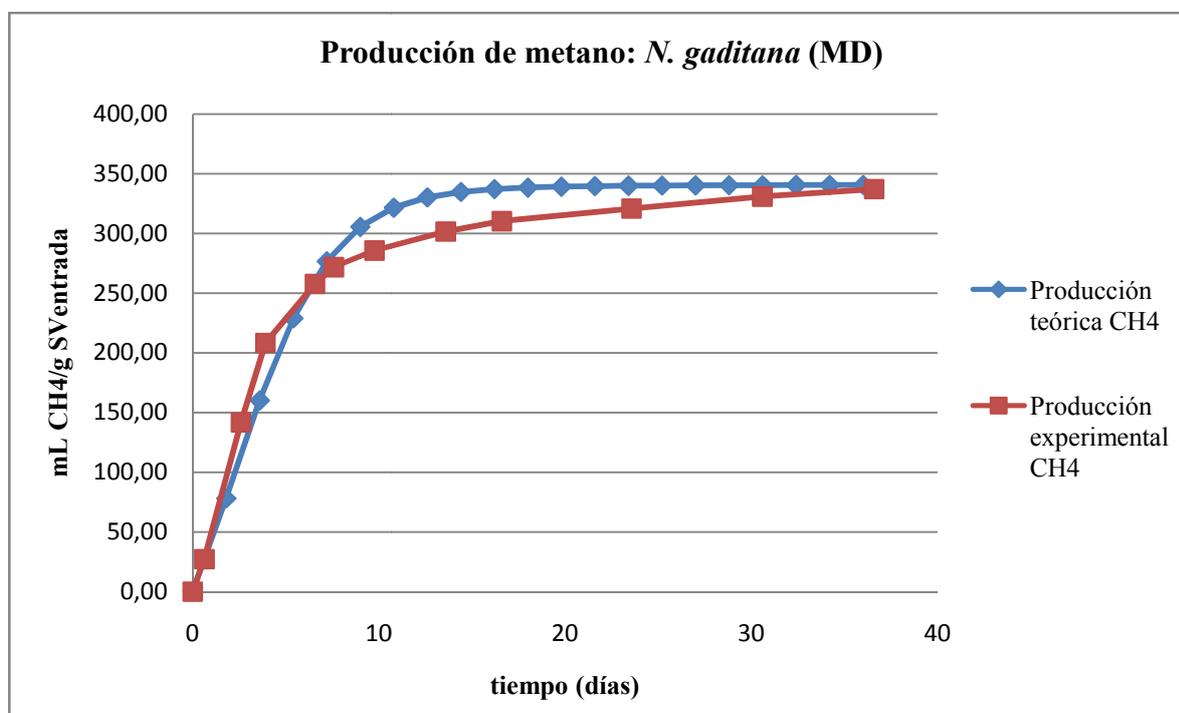


Figura 32. Producción de metano de *N. gaditana* por MD para modelo cinético de Monod. (MD: Método directo de producción de biodiésel, sin etapa de extracción previa de lípidos)

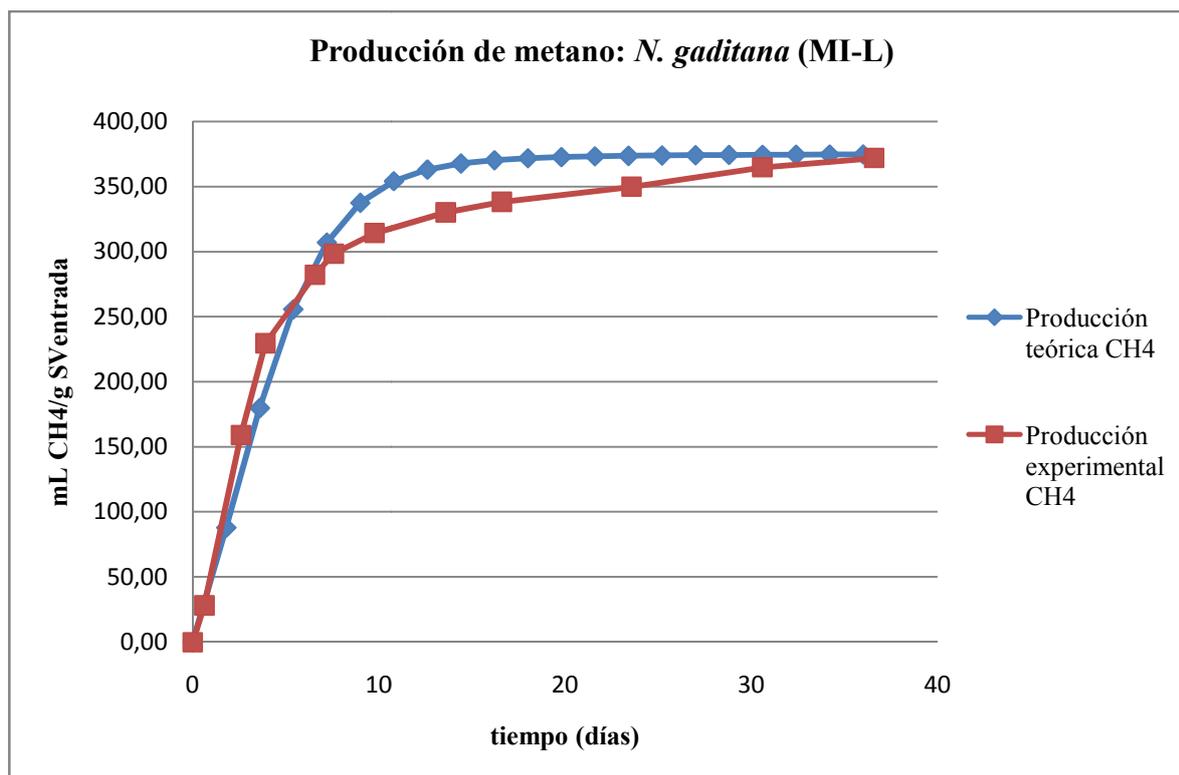


Figura 33. Producción de metano de *N. gaditana* por MI-L para modelo cinético de Monod. (MI-L: Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída)

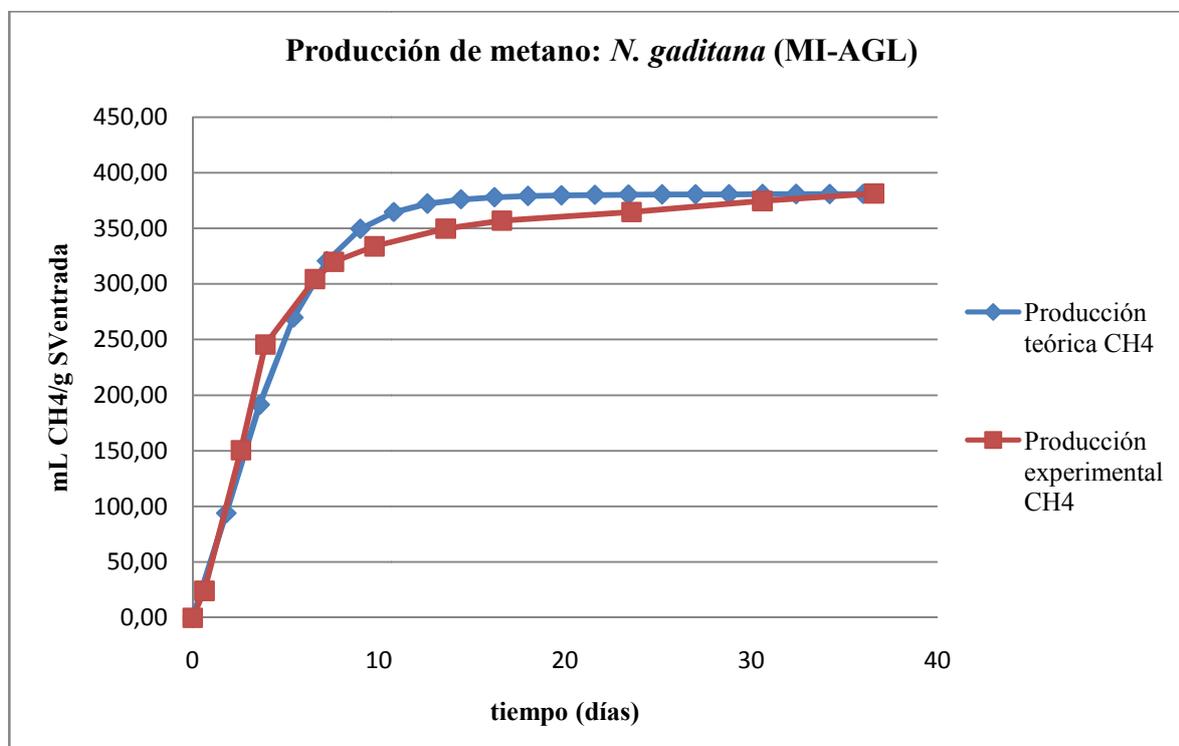


Figura 34. Producción de metano de *N. gaditana* por MI-AGL para modelo cinético de Monod. (MI-AGL: Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída en forma de ácidos grasos libres)

8.7.2. *Spirulina platensis*

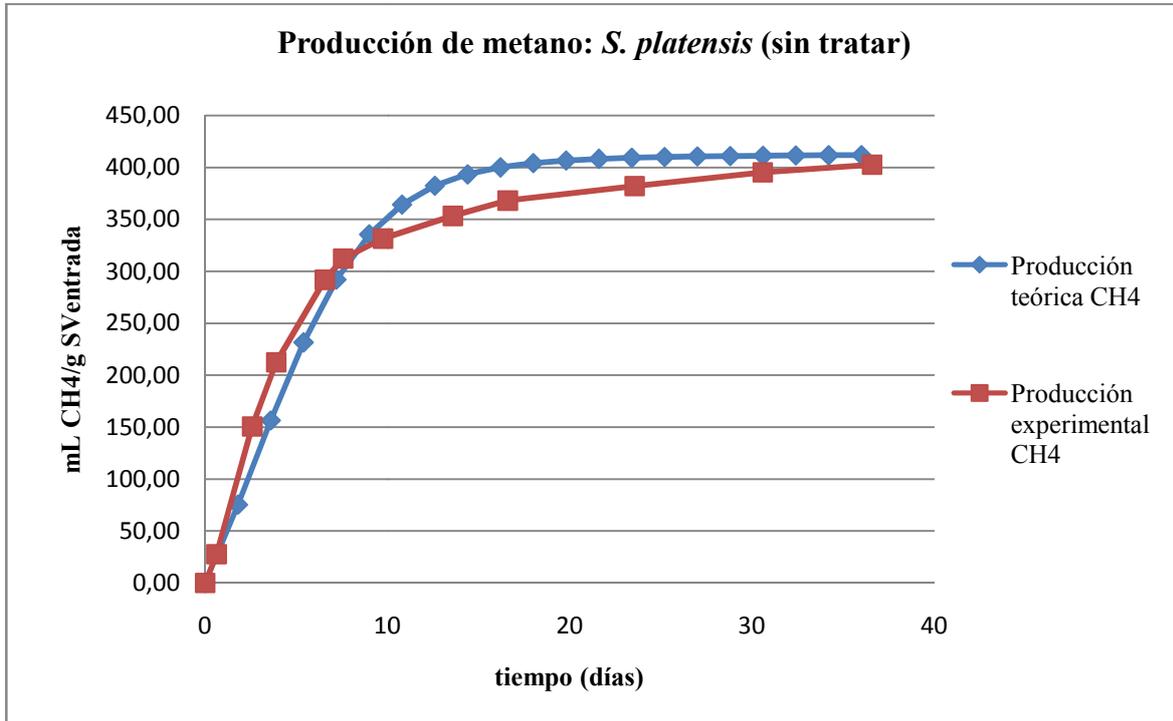


Figura 35. Producción de metano de *S. platensis* sin tratar para modelo cinético de Monod

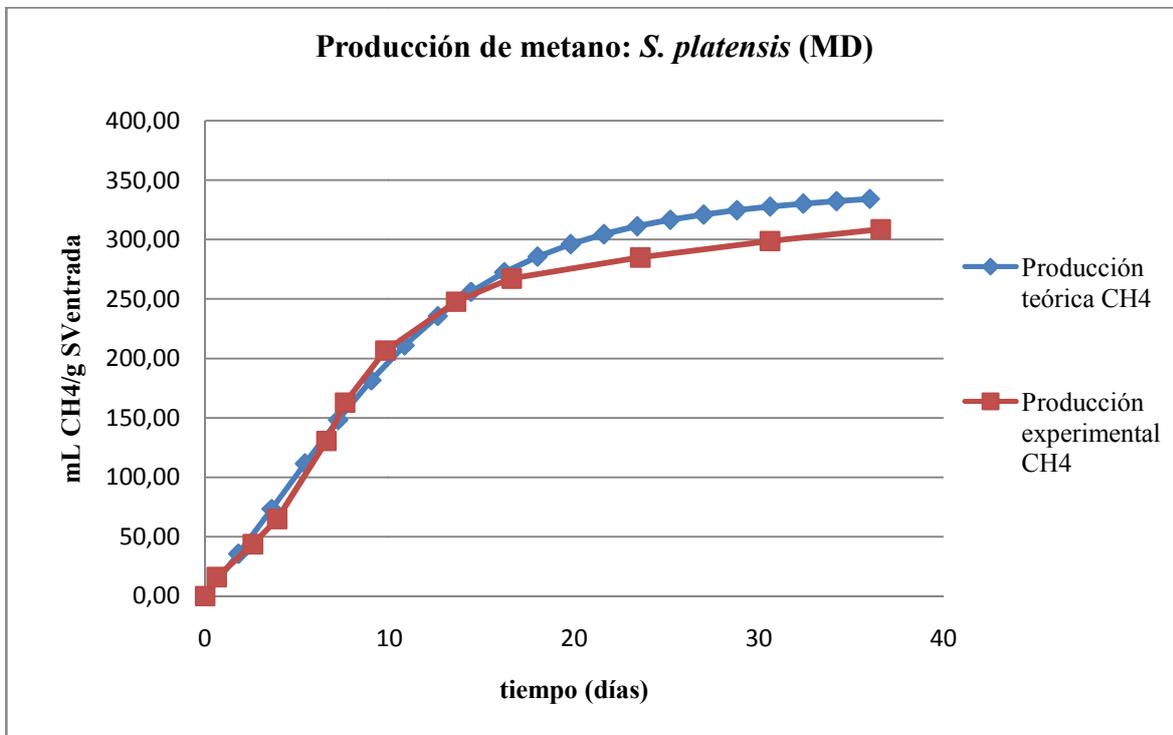


Figura 36. Producción de metano de *S. platensis* por MD para modelo cinético de Monod. (MD: Método directo de producción de biodiésel, sin etapa de extracción previa de lípidos)

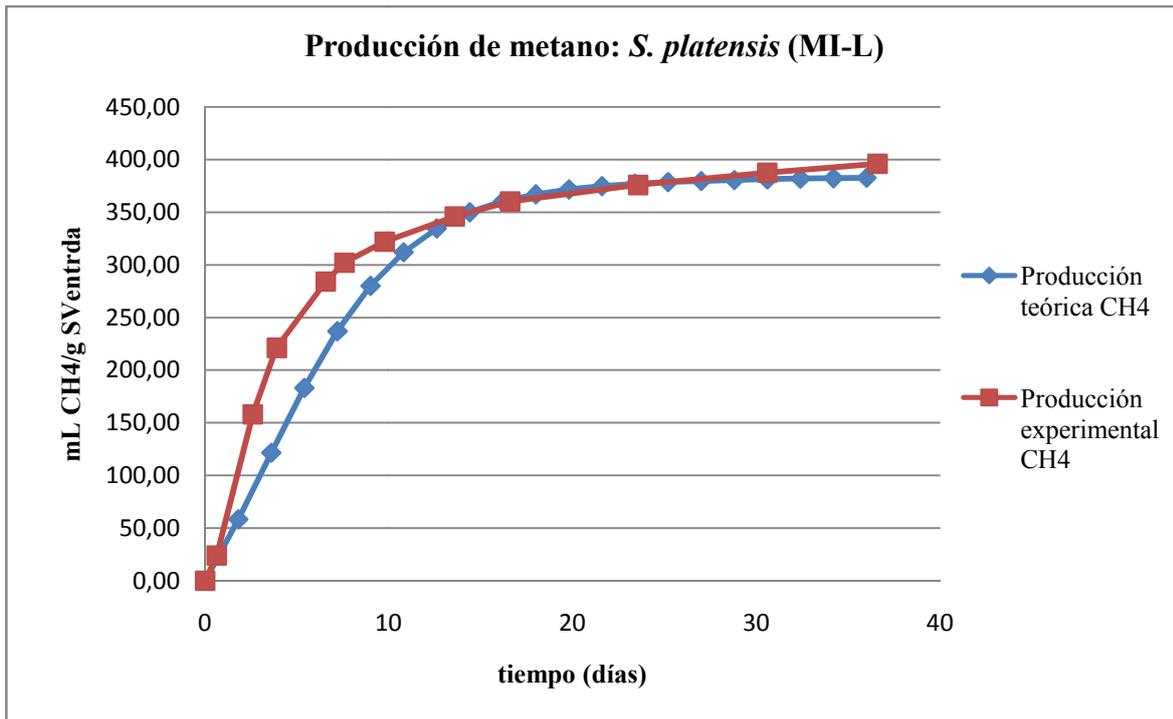


Figura 37. Producción de metano de *S. platensis* por MI-L para modelo cinético de Monod.
 (MI-L: Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída)

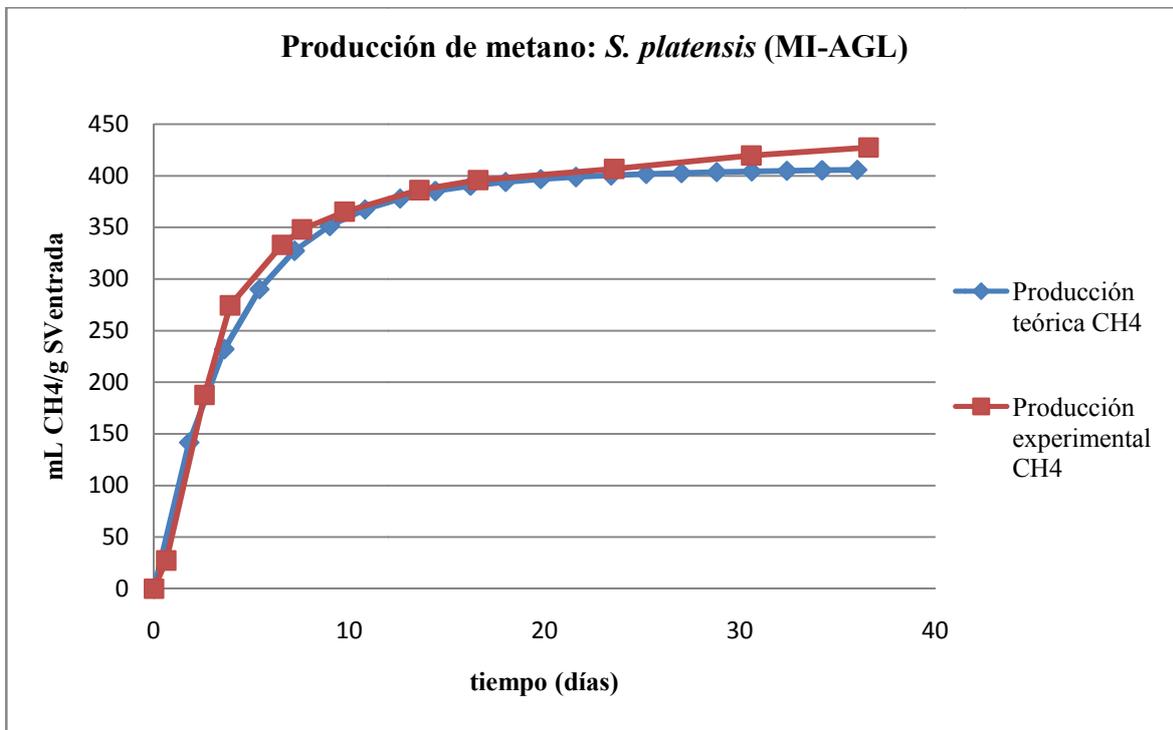


Figura 38. Producción de metano de *S. platensis* por MI-AGL para modelo cinético de Monod.
 (MI-AGL: Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída en forma de ácidos grasos libres)

8.7.3. *Isochrysis galbana*

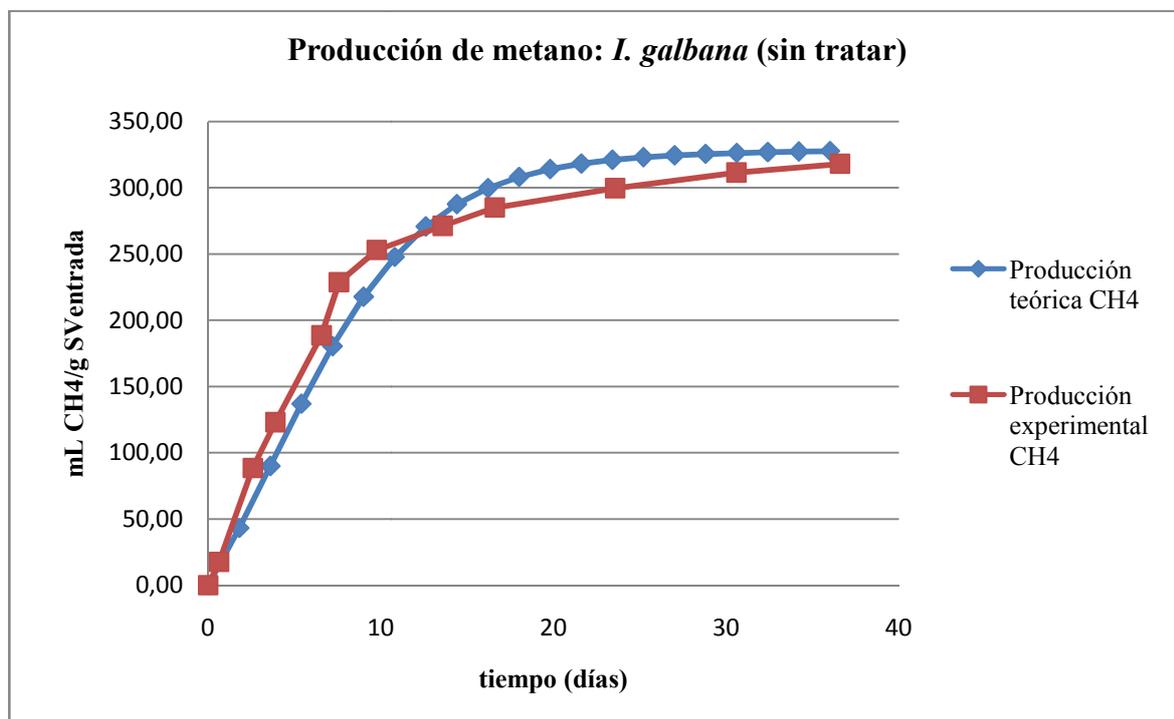


Figura 39. Producción de metano de *I. galbana* sin tratar para modelo cinético de Monod

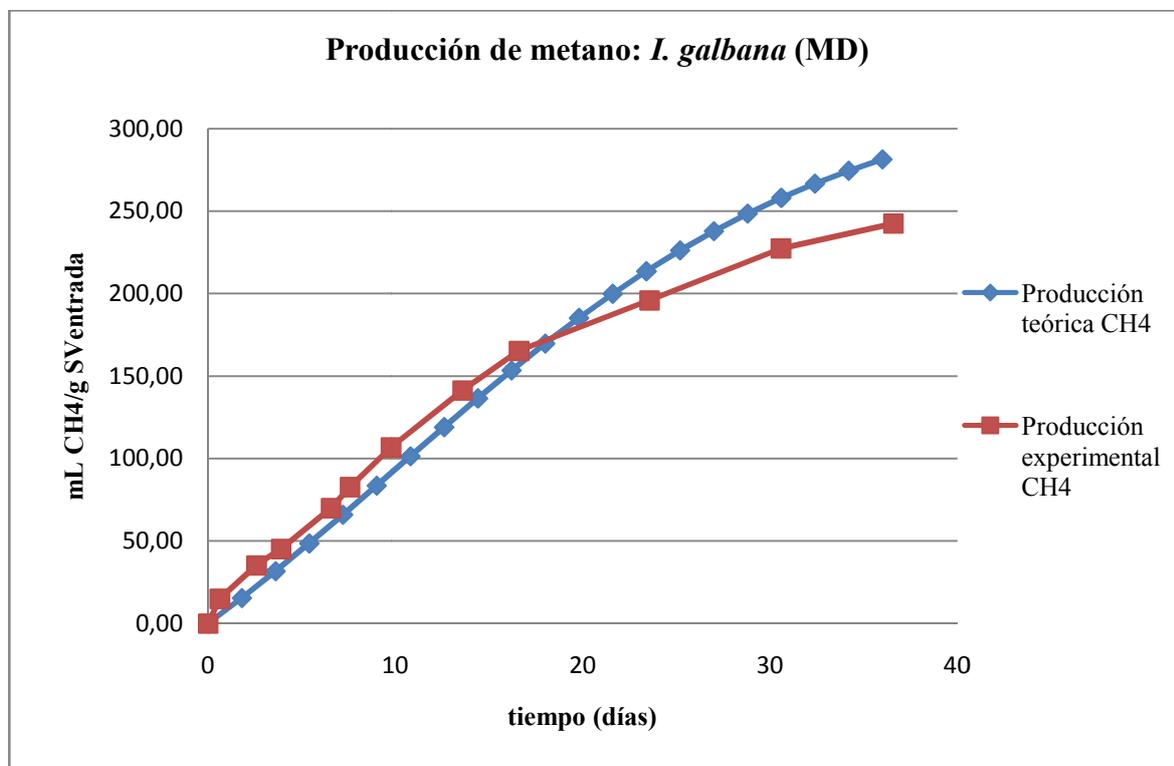


Figura 40. Producción de metano de *I. galbana* por MD para modelo cinético de Monod. (MD: Método directo de producción de biodiésel, sin etapa de extracción previa de lípidos)

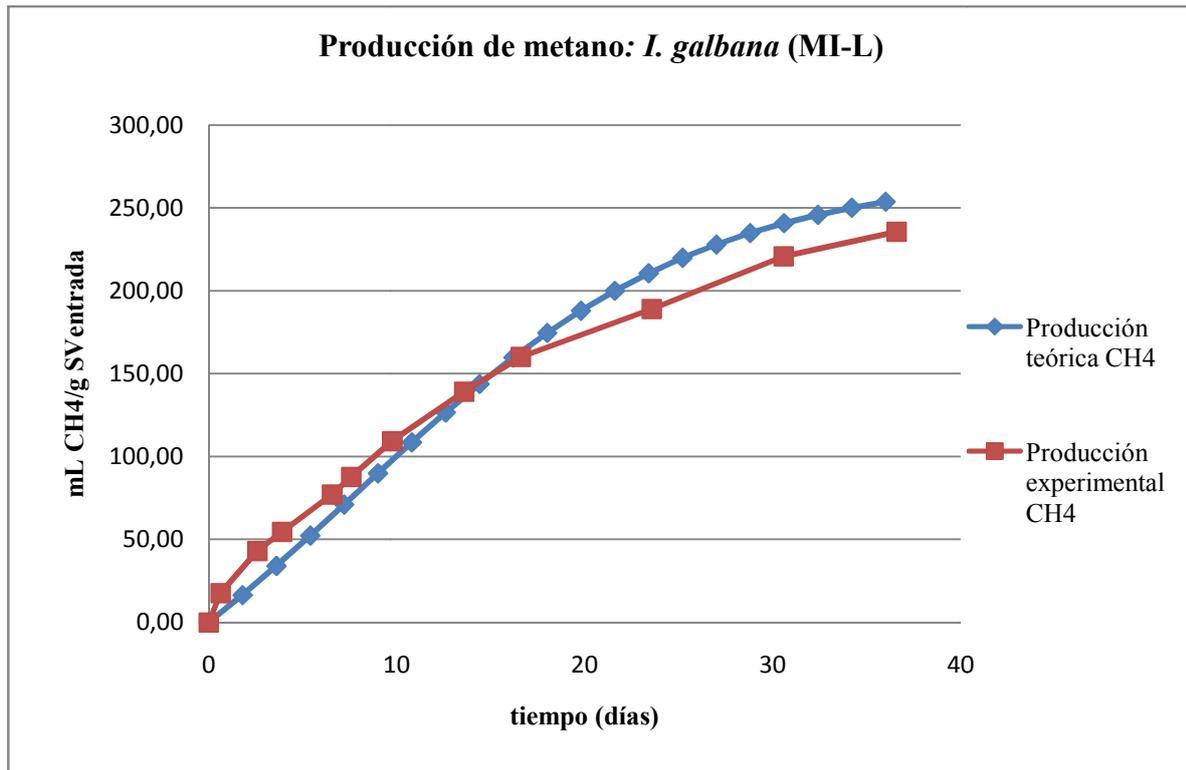


Figura 41. Producción de metano de *I. galbana* por MI-L para modelo cinético de Monod.
 (MI-L: Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída)

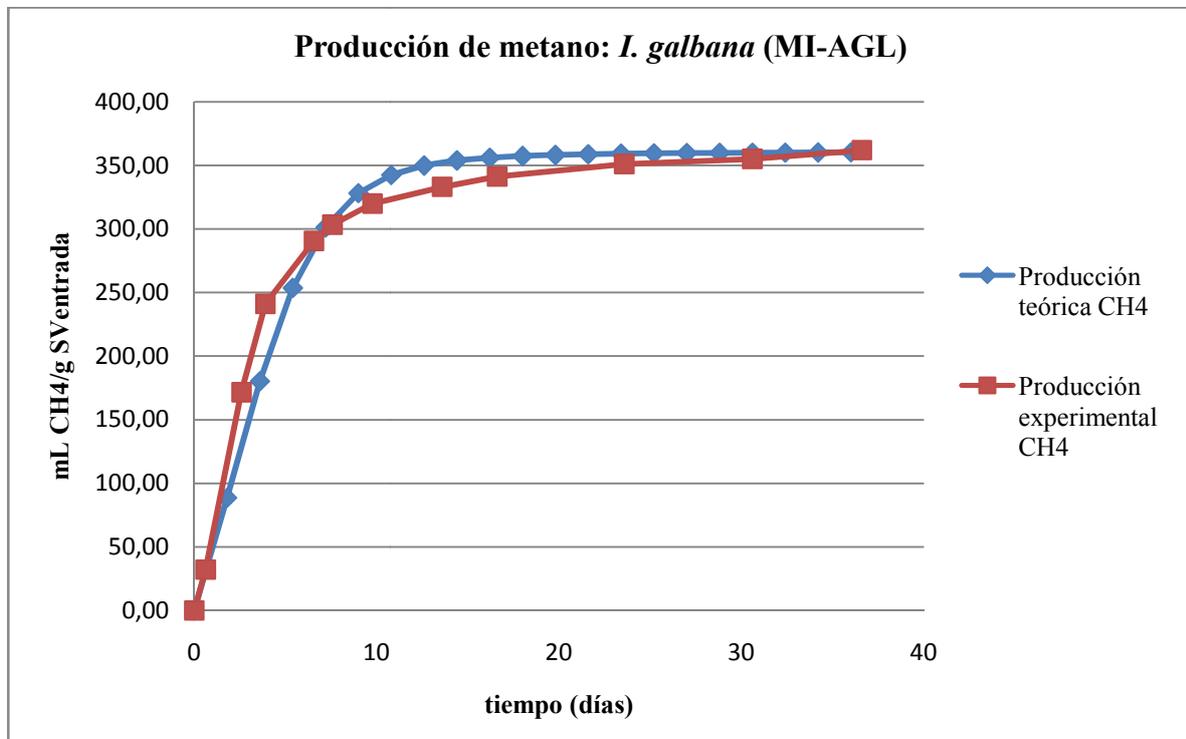


Figura 42 Producción de metano de *I. galbana* por MI-AGL para modelo cinético de Monod.
 (MI-AGL: Método indirecto de producción de biodiésel, a partir de la fracción lipídica previamente extraída en forma de ácidos grasos libres)

