



Centro Universitario de la Defensa en la Escuela Naval Militar

TRABAJO FIN DE GRADO

*Evaluación de un biorreactor para la eliminación de compuestos
farmacéuticos y nutrientes en aguas residuales*

Grado en Ingeniería Mecánica

ALUMNO: Emilio Togores de Vicente

DIRECTORES: Lorena González Gil
Rosa Devesa Rey

CURSO ACADÉMICO: 2021-2022

Universida_{de}Vigo



Centro Universitario de la Defensa en la Escuela Naval Militar

TRABAJO FIN DE GRADO

*Evaluación de un biorreactor para la eliminación de compuestos
farmacéuticos y nutrientes en aguas residuales*

Grado en Ingeniería Mecánica
Intensificación en Tecnología Naval
Cuerpo General

UniversidadeVigo

RESUMEN

Entre las principales líneas de investigación de la depuración de aguas se encuentran la eliminación de nutrientes (N y P), responsables de la eutrofización, y los contaminantes emergentes, más concretamente los compuestos farmacéuticos y de cuidado personal. Estos últimos son un tema de preocupación en la actualidad, al no ser contemplados en el tratamiento de aguas residuales convencional. Se evidencia, por tanto, la necesidad de implantar nuevos procesos de tratamiento capaces de satisfacer los, cada vez más exigentes, niveles de calidad del agua.

Para resolver dicha problemática, este proyecto presenta el montaje y evaluación de un biorreactor para la eliminación de microcontaminantes emergentes y nutrientes en aguas residuales mediante el uso de las microalgas. Para conseguirlo, en primer lugar, se favorece el crecimiento de biomasa compuesta principalmente por microalgas en suspensión, pero también por bacterias heterotróficas. Posteriormente, haciendo uso de esta biomasa, se ponen en marcha 4 reactores con diferentes características operacionales, que permitirán estudiar la capacidad de eliminar diferentes tipos de contaminantes, como son el nitrógeno, fósforo y el ibuprofeno, y los mecanismos y microorganismos responsables de dichas eliminaciones. Por último, tras la fase experimental, se evalúan y se concluye la eficacia de los biorreactores de microalgas para eliminar dichos contaminantes.

PALABRAS CLAVE

Microalgas, biorreactor, nutrientes, ibuprofeno, aguas residuales

AGRADECIMIENTOS

Con el presente Trabajo de Fin de Grado finaliza mi período de formación en la Escuela Naval Militar tras 5 años con sus altos y sus bajos. Ha sido una etapa de una intensidad que jamás imaginé posible cuando la comencé. Es por ello por lo que me gustaría agradecer a todas aquellas personas que han formado parte de ella, y en especial a aquellas que han hecho posible la realización de este trabajo.

Me gustaría agradecer en primer lugar a mis tutoras de TFG, a la Dra. Rosa Devesa Rey y en especial a la Dra. Lorena González Gil, por haberse involucrado en el grado en el que lo han hecho con sus sabios consejos, demostrando su apoyo y paciencia y sobre todo su permanente disponibilidad para ayudarme a seguir adelante si alguna vez no encontraba la manera de hacerlo.

A todos mis compañeros de la promoción 422-152 me gustaría agradecerles las innumerables experiencias vividas y la segunda familia de la que me han hecho partícipe desde el primer día. En especial me gustaría agradecer a mis compañeros de camareta y a Las Plantas (mis amigos más cercanos) los ánimos, apoyo y compañía recibidos, compartiendo conmigo día tras día las dificultades encontradas y brindándome en muchas ocasiones una muy necesitada desconexión.

Como no podía ser de otra manera, me gustaría finalmente agradecer a mis familiares y amigos más cercanos los ánimos y apoyo recibidos de manera incondicional durante el desarrollo de este trabajo. A mis padres y mis hermanas por brindarme esas fuerzas para salir adelante cuando más imposible parecía. De la misma manera, me gustaría agradecerle a mi novia María su incondicional apoyo y compañía, su envidiable optimismo y su capacidad de contagiarme esas ganas en los momentos más difíciles.

A todos, muchas gracias. Sin vosotros este trabajo no habría sido posible.

CONTENIDO

Contenido	1
Índice de Figuras	5
Índice de Tablas.....	9
Índice de Ecuaciones	11
1 Introducción y objetivos	13
1.1 Introducción	13
1.2 Antecedentes	14
1.3 Justificación.....	15
1.4 Objetivos	16
1.5 Estructura	16
2 Estado del arte	17
2.1 Las aguas residuales	17
2.1.1 Origen y tipos.....	17
2.1.2 Consecuencias de una depuración deficiente.....	18
2.1.3 Procesos de depuración convencional	20
2.2 Microcontaminantes emergentes.....	23
2.2.1 Compuestos farmacéuticos y de cuidado personal (CFCPs)	23
2.2.2 El ibuprofeno.....	24
2.2.3 Mecanismos de eliminación de CFCPs en EDAR	25
2.2.4 Nuevas tecnologías de eliminación de CFCPs.....	26
2.3 Depuración de aguas mediante microalgas.....	27
2.3.1 Ventajas y desventajas	27
2.3.2 Parámetros a controlar para un óptimo crecimiento.....	28
2.3.3 Eliminación de N.....	30
2.3.4 Eliminación de P	30
2.3.5 Eliminación de CFCPs.....	31
2.3.6 Biorreactores de células en suspensión.....	32
2.3.7 Biorreactores de células inmovilizadas	33
3 Desarrollo del TFG.....	35
3.1 Cultivo de las microalgas.....	35
3.1.1 Puesta en marcha del reactor principal	35
3.1.2 Operación del reactor principal	38
3.1.3 Preparación de agua residual sintética.....	38

3.2 Depuración de aguas mediante biorreactores: diseño experimental.....	41
3.3 Técnicas analíticas.....	43
3.3.1 Medición de la turbidez	43
3.3.2 Medición de sólidos en suspensión	44
3.3.3 Medición de las clorofilas.....	45
3.3.4 Medición del pH.....	47
3.3.5 Medición del ibuprofeno.....	48
3.3.6 Medición del nitrógeno.....	52
3.3.7 Medición del fósforo	54
3.3.8 Medición de la demanda química de oxígeno.....	55
3.3.9 Medición de bacterias.....	57
3.3.10 Medición de la fitotoxicidad	58
4 Resultados	61
4.1 Cultivo de microalgas en el reactor principal	61
4.1.1 Evolución del pH.....	61
4.1.2 Evolución de la turbidez	62
4.1.3 Evolución de los sólidos en suspensión.....	63
4.2 Depuración de aguas mediante biorreactores: fase experimental	64
4.2.1 Evolución del pH.....	65
4.2.2 Evolución de la turbidez	66
4.2.3 Evolución de los sólidos en suspensión.....	67
4.2.4 Evolución de las clorofilas.....	70
4.2.5 Evolución de las bacterias.....	72
4.2.6 Evolución de la demanda química de oxígeno.....	77
4.2.7 Evolución del ibuprofeno.....	80
4.2.8 Evolución del nitrógeno.....	82
4.2.9 Evolución del fósforo	85
4.2.10 Evolución de la fitotoxicidad	88
5 Conclusiones y líneas futuras.....	91
5.1 Conclusiones	91
5.1.1 Cultivo de algas en el reactor principal	91
5.1.2 Depuración de aguas mediante biorreactores: fase experimental	91
5.1.3 Conclusión final	92
5.1.4 Evaluación de los objetivos	93
5.2 Líneas futuras	93
6 Bibliografía	95

Anexo I: Medición del N	103
Anexo II: Aireador EHEIM air100.....	105
Anexo III: Kit LED carcasa rígida ICA.....	107
Anexo IV: Cálculos de sólidos en suspensión	108
Anexo V: Datos de los parámetros.....	111

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1 Distribución del agua en la Tierra (elaboración propia).....	14
Figura 1-2 Algas en la orilla de la playa de Villananitos, Mar Menor, Murcia [8].....	15
Figura 2-1 Efluente de agua residual industrial [13].....	18
Figura 2-2 Peces muertos flotando en el río Litani, Líbano [15].....	19
Figura 2-3 Degradación del suelo [17].....	20
Figura 2-4 Esquema depuradora convencional aguas residuales [25].....	22
Figura 2-5 Origen, transporte y destino de los CFCs (elaboración propia).....	24
Figura 2-6 Estructura Ibuprofeno [29].....	25
Figura 2-7 Métodos eliminación de microcontaminantes mediante el uso de microalgas [67].....	31
Figura 2-8 Tipos de biorreactores cerrados (adaptado de [70]).....	32
Figura 2-9 Tanque de canalización esquematizado (adaptado de [73]).....	33
Figura 2-10 Tanque de canalización [74].....	33
Figura 2-11 Montaje experimental de célula de combustible microbiana de biofilm de algas [78].....	34
Figura 3-1 Fitoplancton Vivo 250 mL [80] y Abono para plantas Versol 500 mL [81].....	35
Figura 3-2 Vaso Fitoplancton y agua destilada (4,5L).....	36
Figura 3-3 Aireador EHEIM air100 [82].....	36
Figura 3-4 Reactor con aireador y luz artificial.....	37
Figura 3-5 Temporizador de la luz artificial.....	37
Figura 3-6 Disoluciones contaminantes.....	40
Figura 3-7 Ibuprofeno DEF 600mg.....	41
Figura 3-8 Reactores en funcionamiento.....	43
Figura 3-9 Turbidímetro Portátil XS TN3024 [89].....	44
Figura 3-10 Montaje de filtración al vacío.....	45
Figura 3-11 Desecador.....	45
Figura 3-12 Matraces para la clorofila en la estufa.....	46
Figura 3-13 Tubos preparados para ser centrifugados.....	46
Figura 3-14 Centrifugador.....	47
Figura 3-15 pHmetro EdgePH (HANNA) [93].....	48
Figura 3-16 Recta IBP a 220 nm (0-1000 mg/L).....	49
Figura 3-17 Recta IBP a 264 nm (0-1000 mg/L).....	49
Figura 3-18 Recta IBP a 220 nm (0-50mg/L).....	50
Figura 3-19 Espectro de absorción: muestra del reactor PEQUEÑO (sin IBP).....	50
Figura 3-20 Espectro de absorción: muestra cultivo concentración 25 mg/L de IBP.....	51
Figura 3-21 Espectro de absorción: muestra cultivo concentración 20 mg/L de IBP.....	51

Figura 3-22 Kit medición de nitrógeno HI93767B-50 (HANNA).....	52
Figura 3-23 Muestras preparadas para recta de regresión de N	53
Figura 3-24 Espectrómetro XLS+ (PerkinElmer) con muestra preparada	53
Figura 3-25 Recta de calibrado del nitrógeno total	54
Figura 3-26 Recta de calibrado del PO_4^{3-}	55
Figura 3-27 Montaje para la medición de la DQO	56
Figura 3-28 Autoclave	57
Figura 3-29 Placas de Petri en proceso de solidificación	57
Figura 3-30 Semillas de Césped Universal Multiusos BATTLE [96]	58
Figura 3-31 Ejemplo de placa de Petri empleada para la fitotoxicidad.....	58
Figura 4-1 Evolución gráfica del pH (RP).....	62
Figura 4-2 Evolución gráfica de la turbidez (RP)	63
Figura 4-3 Evolución gráfica de los SST y SSV (RP).....	64
Figura 4-4 Evolución gráfica del pH (FE)	65
Figura 4-5 Evolución gráfica de la turbidez (FE)	67
Figura 4-6 Reactor abiótico con crecimiento de compuesto desconocido	67
Figura 4-7 Evolución gráfica de los SSV (FE)	69
Figura 4-8 Evolución gráfica de las clorofilas <i>a</i> (FE)	70
Figura 4-9 Evolución gráfica de las clorofilas <i>b</i> (FE)	72
Figura 4-20 Bacterias reactor TODO T=0 disolución 1:10	72
Figura 4-21 Bacterias reactor TODO T=0 disolución 1:100	73
Figura 4-22 Bacterias reactor TODO T=0 disolución 1:1000	73
Figura 4-23 Bacterias reactor OSCURO T=0 disolución 1:1000	74
Figura 4-24 Bacterias reactor MUERTAS T=0 disolución 1:1000.....	74
Figura 4-25 Bacterias reactor ABIÓTICO T=0 disolución 1:1	75
Figura 4-26 Bacterias reactor TODO T=3 disolución 1:1000	75
Figura 4-27 Bacterias reactor TODO T=9 disolución 1:10000	76
Figura 4-28 Bacterias reactor OSCURO T=9 disolución 1:10000	76
Figura 4-29 Bacterias reactor MUERTAS T=9 disolución 1:10000.....	77
Figura 4-30 Bacterias reactor ABIÓTICO T=9 disolución 1:10000.....	77
Figura 4-18 Evolución gráfica de la DQO (FE).....	78
Figura 4-19 Evolución gráfica del porcentaje de eliminación de la DQO (FE).....	79
Figura 4-23 Evolución gráfica de la concentración de IBP (FE).....	80
Figura 4-24 Evolución gráfica del porcentaje de eliminación de IBP (FE).....	82
Figura 4-12 Evolución gráfica de la concentración de N (FE)	83
Figura 4-13 Evolución gráfica del porcentaje de eliminación de N, Fase 1 (FE).....	84

Figura 4-14 Evolución gráfica del porcentaje de eliminación de N, Fase 2 (FE).....	85
Figura 4-15 Evolución gráfica de la concentración de P (FE).....	86
Figura 4-16 Evolución gráfica del porcentaje de eliminación de P, Fase 1 (FE).....	87
Figura 4-30 Evolución gráfica del porcentaje de eliminación de P, Fase 2 (FE).....	87
Figura 4-31 Fitotoxicidad reactor TODO T=0.....	88
Figura 4-32 Fitotoxicidad reactor PEQUEÑO T=0	89
Figura 4-33 Fitotoxicidad reactor TODO T=9.....	90
Figura A1-0-1 Medición N (Parte 1)	103
Figura A1-0-2 Medición N (Parte 2)	103
Figura A1-0-3 Medición N (Parte 3)	104
Figura A1-0-4 Medición N (Parte 4)	104
Figura A2-0-1 Aireador EHEIM air100 [82].....	105
Figura A3-0-1 Luz LED carcasa rígida ICA [100]	107

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2-1 Ventajas y desventajas del uso de microalgas (elaboración propia)	28
Tabla 2-2 Ventajas y desventajas sistemas de cultivo (adaptado de [62])	34
Tabla 3-1 Disolución micronutrientes	39
Tabla 3-2 Disolución macronutrientes.....	39
Tabla 3-3 Disolución de fuente de carbono	40
Tabla 3-4 Composición reactores.....	42
Tabla 3-5 Valores recta regresión IBP.....	48
Tabla 3-6 Valores recta de regresión del N	53
Tabla 3-7 Valores de la recta de regresión de PO_4^{3-}	54
Tabla 4-1 Valores del pH (RP).....	61
Tabla 4-2 Valores de la turbidez (RP)	62
Tabla 4-3 Valores de las concentraciones de SS (RP).....	63
Tabla 4-4 Valores de pH (FE).....	65
Tabla 4-5 Valores de turbidez (FE)	66
Tabla 4-6 Valores de las concentraciones de SS (FE).....	68
Tabla 4-7 Valores de las clorofilas <i>a</i> (FE).....	70
Tabla 4-8 Valores de clorofilas para los reactores MUERTAS y ABIÓTICO (FE).....	71
Tabla 4-9 Valores de la DQO (FE).....	78
Tabla 4-10 Valores porcentaje de eliminación de la DQO (FE).....	79
Tabla 4-11 Valores de la concentración de IBP (FE).....	80
Tabla 4-12 Valores porcentaje de eliminación de IBP (FE).....	81
Tabla 4-13 Valores de la concentración de N (FE)	83
Tabla 4-14 Valores porcentaje de eliminación de N, Fase 1 (FE)	84
Tabla 4-15 Valores porcentajes de eliminación de N, Fase 2 (FE).....	84
Tabla 4-16 Valores de la concentración de P (FE).....	86
Tabla 4-17 Valores porcentajes de eliminación de P, Fase 1 (FE).....	86
Tabla 4-18 Valores porcentajes de eliminación de P, Fase 2 (FE).....	87
Tabla A4-0-1 Valores del filtro de los SS (RP)	108
Tabla A4-0-2 Valores de los SS en gramos (RP).....	108
Tabla A4-0-3 Valores del filtro de los SS (FE).....	109
Tabla A4-0-4 Valores de los SS en gramos (FE).....	110
Tabla A5-0-1 Valores de la absorbancia del IBP (FE).....	111
Tabla A5-0-2 Valores de la absorbancia del nitrógeno (FE)	111
Tabla A5-0-3 Valores de la absorbancia del fósforo (FE).....	112

Tabla A5-0-4 Valores de cantidad de FAS requerida por cada reactor (FE)..... 112

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1 Biodegradación de CFCPs [6].....	25
Ecuación 2 Coeficiente de distribución sólido-líquido [36]	26
Ecuación 3 Fracción de compuesto volatilizado [37].....	26
Ecuación 4 Conversión de N_2-N a NH_3-N [60]	30
Ecuación 5 Conversión de NO_3^- a NO_2^- [60].....	30
Ecuación 6 Conversión de NO_2^- a NH_4^+ [60].....	30
Ecuación 7 Conversión urea en NH_4^+ [61]	30
Ecuación 8 Conversión NH_4^- en aminoácidos [60]	30
Ecuación 9 Producción ATP a partir de ADP [63]	31
Ecuación 10 Clorofila <i>a</i>	47
Ecuación 11 Clorofila <i>b</i>	47
Ecuación 12 Concentración de ión fosfato	54
Ecuación 13 Ensayo DQO (Dicromato)	55
Ecuación 14 Ensayo DQO (FAS).....	55
Ecuación 15 Fórmula obtención DQO	56
Ecuación 16 Índice de germinación	59
Ecuación 17 IG para el reactor TODO en $T=0$	89
Ecuación 18 IG para el reactor TODO en $T=9$	90

1 INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

Mediante el presente apartado se pretende presentar, de una manera breve, la justificación y finalidad de este trabajo. Para ello, se ha dividido este apartado en diversas secciones: una pequeña introducción acerca del recurso del agua, su explotación y sus consecuencias; antecedentes acerca de la importancia de la eliminación de los contaminantes estudiados; justificación detallada de la necesidad de este trabajo y objetivos a cumplir. Por último, se explicará la estructura en la que se dividirá el desarrollo del trabajo.

1.1 Introducción

A lo largo de los años, el acceso al recurso del agua se ha visto amenazado tanto en cantidad como calidad de una manera preocupante. A pesar de, a simple vista, parecer un recurso que no tiene fin debido a las enormes cantidades existentes en la Tierra, esto es del todo menos cierto.

El agua, como se dijo anteriormente, es un recurso limitado. Si bien supone el 70% de la cobertura de la superficie de la Tierra, el 97,5% es agua salada y tan sólo el 2,5% es agua dulce. Además, de este último porcentaje, casi el 70% no está disponible para consumo humano, ya que se encuentra en forma de glaciares, nieve o hielo. De esta cantidad que se encuentra técnicamente disponible para consumo humano, sólo una pequeña porción es accesible como tal y se encuentra en lagos, ríos, humedad del suelo y depósitos subterráneos relativamente poco profundos, renovados gracias a la infiltración (penetración del agua en un medio). Sin embargo, tampoco en estos casos es de fácil acceso, pues se encuentra lejos de zonas pobladas o de posible explotación, dificultando aún más si cabe su extracción. Se estima que solamente el 0,77% del agua se encuentra como agua dulce accesible al ser humano [1]. Estos porcentajes se pueden ver de una manera mucho más visual en la Figura 1-1. Como se puede observar, no se trata de un recurso tan extenso como se podría llegar a pensar. Esta falsa percepción ha derivado en el descuido y sobreexplotación de este medio, alcanzando niveles de contaminación cada vez más complicados de remediar. En vista a estos resultados, se hace clara la relevancia de la conciencia con el medio ambiente y se hacen aún más relevantes las técnicas de depuración de aguas residuales.

Por otra parte, la creciente concentración de la población en núcleos urbanos, de la mano de la actividad industrial y, por tanto, la necesidad de tener acceso a grandes cantidades de agua limpia, han generado una escasez que está ya afectando a millones de personas. Según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), 844 millones de personas carecen de un servicio básico de suministro de agua potable y, en todo el mundo, al menos 2000 millones de personas se abastecen de una fuente de agua que presenta contaminación de origen fecal. Esta agua contaminada puede llegar a transmitir enfermedades como la diarrea, el cólera, la disentería, la fiebre tifoidea y la poliomielitis. Se estima que al año mueren acerca de 502.000 personas por diarrea y que, de aquí a 2025, la mitad de la población mundial vivirá en zonas con escasez de agua [2]. Por todo ello, es esencial seguir investigando y

desarrollando técnicas para reducir el consumo del agua así como para tratarla una vez usada, lo cual constituye el principal enfoque de este trabajo.

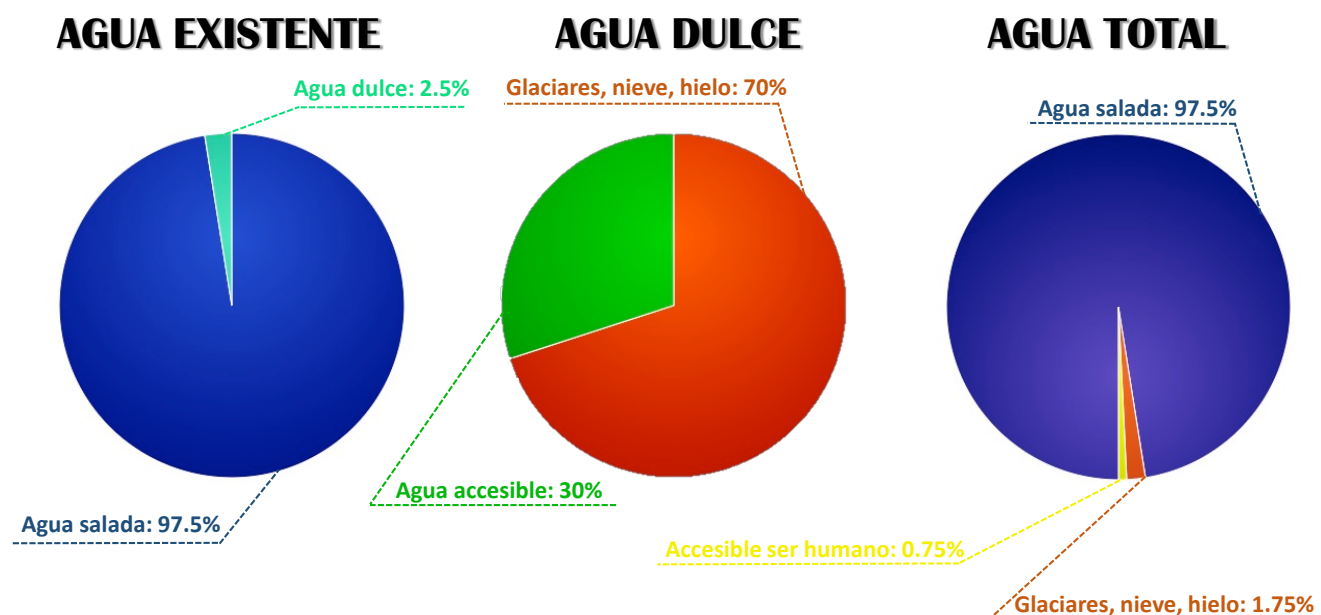


Figura 1-1 Distribución del agua en la Tierra (elaboración propia)

1.2 Antecedentes

Uno de los aspectos frecuentemente ignorado en la depuración de las aguas residuales es el tratamiento de los nutrientes (nitrógeno y fósforo) y los compuestos farmacéuticos. Esta práctica, aunque común, puede llegar a ser extremadamente perjudicial.

Por un lado, los vertidos con altas concentraciones de nutrientes acaban produciendo una eutrofización en los cauces, lo que provoca una disminución considerable del oxígeno disuelto en agua y la muerte de diversos organismos. La eutrofización se define como el incremento de sustancias nutritivas en aguas dulces de lagos y embalses que provoca un exceso de fitoplancton [3]. Este fenómeno también se está comenzando a dar zonas de agua salada como se observa en la Figura 1-2. Dicho con otras palabras, es un proceso natural y/o antropogénico que consiste en el enriquecimiento de las aguas con nutrientes, a un ritmo tal que no puede ser compensado por su mineralización total, de manera que la descomposición del exceso de materia orgánica produce una disminución del oxígeno en las aguas profundas. Las masas de agua eutróficas tienen un alto nivel de productividad y biomasa en todos los niveles tróficos: proliferan las algas, tienen aguas profundas pobres en oxígeno y un crecimiento intenso de las plantas acuáticas. En contraste, los cuerpos de agua oligotróficos poseen concentraciones bajas de nutrientes, mayor diversidad en las comunidades de plantas y de animales, un bajo nivel de productividad primaria y de biomasa y una buena calidad del agua para distintos usos [4].

Por otro lado, a pesar de que los vertidos de aguas residuales en efluentes industriales y urbanos se encuentran regulados (Directiva 2008/105/CE), hay un grupo de compuestos no regulado sobre el que se está poniendo más atención, ya que los tratamientos actuales convencionales de aguas residuales no están resultando ser efectivos en su eliminación. Estos compuestos son los microcontaminantes emergentes, que proceden del consumo de productos destinados a la higiene y la salud. Se trata de sustancias contaminantes de naturaleza mayoritariamente orgánica, que se encuentran presentes en las aguas residuales en concentraciones del orden de micro o nanogramos [5]. Han de resaltarse, dentro de este grupo, la presencia de compuestos farmacéuticos y de cuidado personal (CFCPs). Un ejemplo de compuesto dentro de esta categoría es el ibuprofeno, cuyo uso y presencia en aguas residuales ha aumentado considerablemente en los últimos años.

El problema de este tipo de microcontaminantes en aguas reside en que, como no se consideró la eliminación de contaminantes en concentraciones tan bajas durante el diseño de las estaciones depuradoras de aguas residuales (EDAR), la eliminación de los CFCEPs durante el tratamiento convencional es tan sólo parcial, permitiendo la llegada de estos compuestos a los medios acuáticos receptores [6]. A pesar de su baja concentración, ésta está aumentando día a día, ya que los tratamientos convencionales son incapaces de eliminarlos y muchos de estos compuestos son persistentes y bioacumulables [7]. Sus consecuencias pueden llegar a ser desde alteraciones en el sistema inmunológico de animales acuáticos hasta mutaciones en seres humanos. A esto se le suma la mayor preocupación de la que se habla en el ámbito social y científico, que es la posibilidad de acabar desarrollando resistencia a los antibióticos, disminuyendo su efectividad.



Figura 1-2 Algas en la orilla de la playa de Villananitos, Mar Menor, Murcia [8]

1.3 Justificación

Este proyecto surge de la necesidad de encontrar nuevos métodos mediante los que mejorar la depuración de las aguas residuales y hacer frente a la contaminación que suponen los nutrientes en exceso y los compuestos farmacéuticos. La subsistencia de estos elementos puede llegar a provocar su acumulación en la cadena trófica y migrar hasta fuentes de aguas subterráneas.

Como se mencionó anteriormente, los tratamientos convencionales usados actualmente no son del todo efectivos, lo que provoca que los niveles de contaminación de nutrientes y de microcontaminantes emergentes en las aguas residuales, una vez depuradas, sean mayores de lo deseable. Los tratamientos fisicoquímicos o biológicos actuales no son capaces de degradar totalmente la mayoría de estos compuestos, tienen altos tiempos de retención y generan lodos que deben ser tratados. Para intentar lidiar con este problema, se han llevado a cabo experimentos con procesos de oxidación avanzada que, aún con resultados favorables, resultan tener un precio muy elevado o incluso pueden llegar a generar subproductos aún más contaminantes que los principales que se quieren eliminar [9].

Debido a esto, se están investigando y desarrollando nuevas alternativas tecnológicas, como el uso de las microalgas en biorreactores. Existen indicios de que esta tecnología es efectiva en comparación con tratamientos convencionales, menos costosa y más respetuosa con el medio ambiente. Además, los sistemas de lodos activos convencionales funcionan con microorganismos heterotróficos, que no eliminan fósforo y necesitan de una fuente de carbono, que actúe como donante de electrones, para poder así crecer rápidamente y utilizar el nitrato como receptor de electrones. Es aquí donde entran en juego las microalgas, que no necesitan de una fuente orgánica de carbono para eliminar nutrientes. Recientes estudios demuestran que la eliminación de nitrato mediante el uso de microalgas alcanza, en ocasiones,

eficacias de hasta el 80% con un tiempo de incubación estimado de 3 días [10], lo que hace que sea una muy buena alternativa a los sistemas tradicionales. Sin embargo, aún existen pocos estudios, o sus resultados no están lo suficientemente contrastados, acerca de las capacidades de eliminación de nutrientes y especialmente de CFCPs en biorreactores con microalgas.

1.4 Objetivos

Teniendo en cuenta lo presentado anteriormente, se evidencia la necesidad de continuar con la investigación y desarrollo de la tecnología de tratamiento de aguas residuales mediante microalgas. Así surge el presente Trabajo de Fin de Grado, que pretende alcanzar los objetivos que se exponen a continuación:

- Estudiar el origen, tipos y consecuencias de las aguas residuales y analizar los procesos de depuración convencionales.
- Exponer la problemática de los microcontaminantes emergentes centrando la atención sobre los compuestos farmacéuticos e introducir los mecanismos y tecnologías de eliminación actuales.
- Evaluar la viabilidad de las microalgas como alternativa a los métodos ya existentes para eliminación de nutrientes y CFCPs, analizando los pros y contras de emplear dicho sistema.
- Desarrollar un biorreactor basado en el uso de microalgas capaz de eliminar nitrógeno, fósforo e ibuprofeno (como ejemplo de CFCPs) y evaluar su efectividad así como su capacidad de eliminar la demanda química de oxígeno y la fitotoxicidad.
- Analizar los mecanismos de eliminación de contaminantes en biorreactores de microalgas.

Se busca como fin último con este trabajo, habiendo sido evidenciadas las necesidades de la sociedad, el análisis de la técnica de las microalgas en la eliminación de nutrientes y microcontaminantes para poder así hacer frente a los crecientes niveles de contaminación en el agua.

1.5 Estructura

A la hora de la elaboración y estructura del trabajo a desarrollar, se buscará una presentación que sea lo más intuitiva posible. Tras el primer apartado de introducción en el que ya se ha presentado una breve reseña del porqué del trabajo, se comenzará con un análisis exhaustivo de la problemática de las aguas residuales. A continuación, se realizará un estudio sobre los microcontaminantes emergentes, centrando la información en torno a los compuestos farmacéuticos y de cuidado personal. Para finalizar este apartado, se expondrá la técnica del uso de sistemas basados en el uso de microalgas para la depuración de aguas residuales como alternativa a los métodos convencionales.

Una vez finalizado el estado del arte, se comenzará con la fase experimental, en la que se detallarán todos los procedimientos seguidos en el laboratorio, desde el montaje de los biorreactores hasta las técnicas analíticas empleadas para realizar el seguimiento de los parámetros escogidos.

Tras el desarrollo del TFG, se expondrán los resultados obtenidos de todos los parámetros medidos durante la fase experimental. Además, se justificará la obtención de cada uno de ellos y se realizará un estudio acerca de la relación entre cada uno de los biorreactores.

Por último, se presentarán unas conclusiones basadas en los datos expuestos en el apartado anterior, analizando la eficiencia de los biorreactores de algas en la eliminación de contaminantes. Asimismo, se introducirán unas posibles líneas futuras para continuar en la investigación de esta técnica de depuración de aguas residuales.

2 ESTADO DEL ARTE

2.1 Las aguas residuales

Las aguas residuales son aguas de composición variada provenientes de diversas actividades como son las domésticas, industriales, comerciales, agrícolas, pecuarias o cualquier otra, que contienen materia orgánica y otras sustancias químicas que alteran su calidad como consecuencia del uso al que han sido sometidas. En resumidas cuentas, se trata de toda agua afectada de manera negativa por el uso del ser humano. De esta manera, aquellas aguas no aptas para el consumo por causas naturales no entrarían en esta clasificación. Asimismo, tampoco entrarían aquellas que, habiendo sido alteradas por el uso humano, siguen siendo aptas para el consumo humano [11].

Las aguas residuales difieren del agua que se podría entender como limpia en que contienen, ya sea de manera sólida o disuelta, una gran cantidad de elementos contaminantes. Su origen es muy amplio y sus consecuencias pueden llegar a ser desastrosas para el medio ambiente si no son tratadas de la manera adecuada.

2.1.1 Origen y tipos

La actividad humana genera inevitablemente grandes cantidades de aguas residuales. Su composición es muy variada y puede depender de varios factores como son la población en la que se originan y la influencia que generen factores como el industrial, comercial o incluso económico en cada momento. En función de su composición, el tratamiento a aplicar podrá variar.

A la hora de clasificar las aguas residuales, se debe tener en cuenta el parámetro en torno al cual se va a hacer. Se puede hacer en base a la cantidad y tipo de sustancias químicas que contengan, o en base a la concentración de elementos contaminantes y si se encuentran en suspensión o materia suelta. El método más conocido y utilizado para clasificarlas, sin embargo, es el de su procedencia, que es el que se presenta a continuación. De esta manera, existen cuatro grandes grupos de aguas residuales [12]:

- Aguas residuales domésticas o urbanas: son aquellas que provienen de las viviendas, edificios comerciales e institucionales. Por lo general, todos esos residuos líquidos son recogidos y transportados por el sistema de alcantarillado de una ciudad y, a continuación, son tratados normalmente en una EDAR. Contienen elevadas cantidades de contaminantes orgánicos y sólidos sedimentables.
- Aguas residuales agricultura y ganadería: son, como su propio nombre indica, aquellas aguas residuales generadas como consecuencia de la actividad ganadera y agrícola. Su caudal no suele ser como otros tipos de agua residual, pero su efecto en el medio ambiente es igualmente notable. Además del agua utilizada para el regado de los cultivos, se añaden a ella los productos químicos

utilizados para su crecimiento y conservación (fertilizantes y pesticidas). Asimismo, en el sector ganadero, se juntan los elementos químicos usados para la crianza del ganado con todos los desechos fecales y orines que éstos generan. El peligro de este tipo de agua contaminada es la destrucción de suelo fértil, debido a la alta toxicidad y a la saturación de la materia orgánica y nutrientes que presentan.

- Aguas residuales industriales: son aquellas originadas del efecto de las actividades de la industria o aquellas con una caracterización especial (Figura 2-1). Suelen acumular vertidos y líquidos procedentes de fábricas y centros de producción. Contienen elevadas cantidades de metales pesados como son el plomo, el níquel, el cobre, el mercurio o el cadmio, así como una gran variedad de elementos químicos artificiales [11].



Figura 2-1 Efluente de agua residual industrial [13]

- Aguas pluviales: como su propio nombre indica, es originaria de las precipitaciones, incluida la lluvia ácida. Se considera como otro tipo de agua contaminada, debido al efecto de arrastre que ejerce a lo largo de su recorrido hasta la planta depuradora.

Además, a menudo las aguas residuales están compuestas por diversas sustancias nocivas entre las que se encuentran elementos como los metales pesados, patógenos, sales, productos químicos tóxicos, aceites y grasas, sólidos, nutrientes, lodos, ácidos y bases, compuestos farmacéuticos y de cuidado personal, compuestos orgánicos tóxicos y materiales orgánicos e inorgánicos. Esta combinación de componentes supone un gran peligro tanto para el ser humano y los animales, como para el medio ambiente como tal. Las aguas residuales pueden ser tóxicas, corrosivas, reactivas, ácidas e incluso inflamables en casos extremos. Es por ello por lo que el sometimiento de estas aguas a tratamientos de depuración es primordial antes de poder considerarlas limpias y reutilizarlas o redirigirlas a las reservas de agua de una zona en concreto.

2.1.2 Consecuencias de una depuración deficiente

Las consecuencias de la contaminación en el agua son diversas, y su gravedad dependerá principalmente de dos factores. Por un lado, se deberá de considerar el caudal de aguas residuales generadas y redirigidas hacia sistemas de alcantarillado. Toda agua usada en una vivienda o edificio de cualquier otra índole contribuirá al volumen de agua residual que genera esa propiedad. El uso del agua se puede dividir entre dos categorías: externo o interno. La primera categoría será aquella que engloba lavabos, inodoros y duchas o bañeras. Aproximadamente el 60% del agua usada pertenecerá a esta categoría. El porcentaje restante, sin embargo, será al referido a usos externos como puede ser el limpiar garajes o regadío de cultivos y de jardines. La gran diferencia de este segundo grupo es que la gran parte de agua de este tipo no suele acabar en sistemas de alcantarillado ya que acaba filtrándose en la tierra o

simplemente se evapora. Esto no quiere decir que ocurra siempre y son precisamente esos casos los que consiguen llegar a las alcantarillas y suponen ese 40% restante [14]. Además, la lógica indica que a mayor concentración de viviendas y propiedades en una zona, mayor será la concentración de aguas residuales.

Por otro lado, la gravedad de las aguas residuales se establecerá en base a un factor determinante como son los niveles de contaminación de esas aguas residuales. En base a esos niveles, se requerirán una cantidad y tipo de tratamientos para depurar el agua y serán estos los que determinarán el punto hasta el que se verá afectado el medio ambiente durante su desarrollo. Los distintos tipos de contaminantes son de diversa índole: pinturas, disolventes, productos de farmacia, aceites, herbicidas, pesticidas, residuos fecales, etc. Es precisamente la combinación de todos estos productos lo que supone el peligro tanto para las personas como para la fauna.

Si se para y se analiza el problema de la contaminación del agua, no es difícil ver como el hecho de que se estén convirtiendo grandes cantidades de agua en inutilizables o incluso contaminantes supone que se están progresivamente disminuyendo las reservas mundiales de agua que, como se vio en la introducción, no son ilimitadas. A pesar de tener grandes superficies de agua disponible, se están vertiendo residuos en esas masas de agua por lo que se está contaminando agua que podría haber sido en otro caso utilizada. De manera resumida se pueden establecer las principales consecuencias de las aguas residuales como [14]:

- Contaminación de agua y hábitats: se trata del efecto más inmediato y tangible de las aguas residuales. Su presencia supone la contaminación y posterior destrucción de los hábitats naturales y de la fauna que vive en ellos al exponerlos a sustancias químicas nocivas que no estarían presentes de manera natural. Por otro lado, los cauces por los que se distribuye agua limpia son muy vulnerables a los efectos de las aguas residuales perturbando con sus compuestos tóxicos ecosistemas acuáticos enteros. Una vez esas numerosas sustancias biodegradables alcanzan grandes masas de agua pueden llegar a provocar eutrofización, privando así de oxígeno disuelto, esencial para la vida acuática, a diferentes organismos presentes, lo que puede llegar a ser una amenaza para la vida de los peces una vez agotado como se puede apreciar en la Figura 2-2, tomada en abril de 2021. Además, es habitual que contengan aceites y grasas que son difíciles de descomponer y que por tanto se terminan depositando en la superficie del agua debido a su densidad. Este suceso impide el paso de la luz a las plantas acuáticas, dificultándoles realizar la fotosíntesis y puede llegar incluso a asfixiar a los peces. Por último, los metales pesados como el mercurio o el plomo son tóxicos tanto para los humanos como para los animales. Si alguien llegara a beber o comer pescado de una fuente de agua contaminada, podría ver su salud seriamente perjudicada.



Figura 2-2 Peces muertos flotando en el río Litani, Líbano [15]

- Medio de infección: las aguas residuales son unas de las mejores portadoras de distintos tipos de enfermedades. Según la OMS cada año mueren más de 3,4 millones de personas por enfermedades transmitidas por el agua [16]. Además del propio peligro de las enfermedades, se añade el hecho de que la combinación de residuos humanos, disolventes y pinturas generan gases que, además de putrefactos, pueden llegar a ser nocivos si son inhalados.
- Degradación del suelo: no es raro ver las aguas residuales siendo tratadas y luego reutilizadas para regadío de cultivos. Ya de por sí se evidencian los riesgos de esta práctica, a la que se suma que a menudo los procesos de tratamiento no son del todo efectivos. Esto puede llegar a provocar que productos químicos perjudiciales para los cultivos lleguen al suelo, contaminándolo (Figura 2-3). Las sustancias químicas presentes suponen para los campos de cultivo una reducción tanto en cantidad como en calidad de la cosecha. Es de suma importancia asimismo tener en cuenta que en algún momento esos alimentos serán consumidos por el ser humano, que también puede llegar a verse perjudicado por esa contaminación previa.
- Otros efectos: cuando se vierten aguas residuales sin haber sido previamente tratadas, suelen tener una temperatura templada e incluso caliente, lo que puede provocar el aumento de la temperatura del agua en el que se vierten, dañando así el ecosistema existente. Los peces, de sangre fría, dependen del agua para regular su propia temperatura corporal. Si ésta está demasiado caliente, puede generar un cambio en su respiración, alterar su alimentación y movimiento e incluso en el peor de los casos, la muerte. Además, la cantidad de oxígeno presente en el agua puede llegar a verse también afectada por la temperatura.

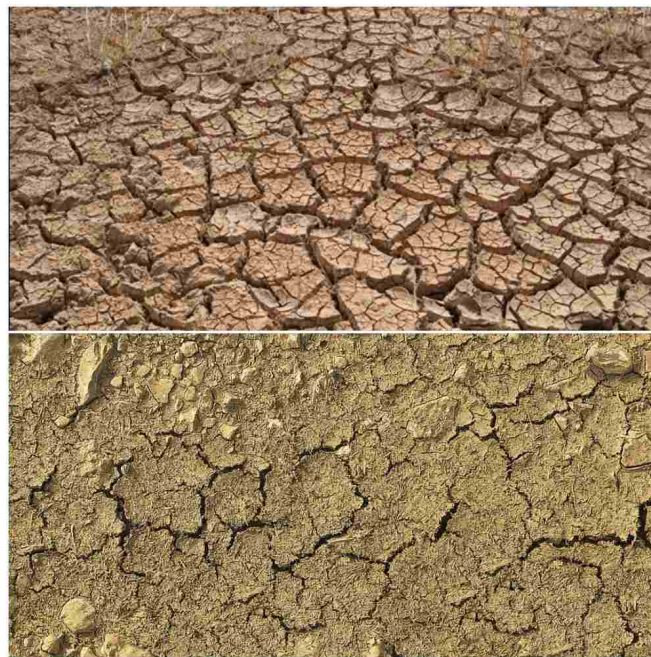


Figura 2-3 Degradación del suelo [17]

2.1.3 Procesos de depuración convencional

En la actualidad existen diversas técnicas y procedimientos de depuración para las aguas residuales. Una vez recogidas mediante los diferentes sistemas de alcantarillado, éstas son llevadas hacia plantas de depuración para ser tratadas y es allí donde se produce su transformación hacia agua limpia y no peligrosa para el medio ambiente (Figura 2-4). Suelen permanecer allí de 24 a 48 horas [18] hasta ser tratadas y ser, o bien reutilizadas para regadío o en procesos industriales o, en otros casos, devueltas al medio, ya sean ríos, mares, embalses, lagos, etc. Por lo general, en las EDAR pasarán por tres fases principales, que son las siguientes:

Pretratamiento: durante esta fase el objetivo es la separación de objetos de gran tamaño como son, por ejemplo, bastoncillos de algodón, plásticos, pañales, trapos, productos de higiene íntima, toallitas, botellas rotas, tapones de botella, etc. De no llevar a cabo esta fase correctamente, se pone en riesgo el funcionamiento óptimo de las máquinas de depuración. Además, durante esta fase se utilizan equipos especialmente diseñados para eliminar la arenilla arrastrada por las aguas pluviales hasta las alcantarillas [19] así como los posibles aceites. De esta manera, se diferenciarán la fase de control de afluente o control de la llegada de aguas residuales a la EDAR, la fase de desbaste o separación de los principales sólidos, la fase de desarenado o extracción de grava, arena y similares y, por último, la fase desengrase o eliminación de aceites. Una vez apartados los residuos sólidos, éstos son transportados y depositados en vertederos.

Tratamiento primario: el objetivo principal de esta etapa es la reducción de partículas en suspensión mediante procesos fisicoquímicos, es decir, se busca la separación de la materia sólida macrobiótica de las propias aguas residuales. Esto se logra vertiendo las aguas residuales en grandes tanques (sedimentadores) para dejar que la materia sólida se deposite en el fondo por la acción de la gravedad con el paso del tiempo. De esta manera, se tendrán tres grandes categorías de partículas: las sedimentables o aquellas que sedimentan en el fondo del tanque, las flotantes o aquellas que flotan en la superficie tras un período en estático y, por último, las restantes que no entran en ninguna de las categorías anteriores. En el tratamiento primario se pueden incluir, principalmente, los siguientes métodos de depuración:

Sedimentación: se trata de un proceso físico mediante el cual las partículas caen al fondo de tanques denominados decantadores, gracias a la acción de la gravedad. Con él se calcula que se pueden llegar a eliminar el 40% de los sólidos existentes [18]. La eficacia de este método dependerá en gran parte del tamaño y peso de las partículas. Por ello, a menudo, para facilitar la sedimentación, se añaden coagulantes al agua para aumentar el tamaño y peso de las partículas. Por lo general, los sólidos en suspensión que tengan un peso específico similar al del agua permanecerán suspendidos, mientras que las partículas más pesadas sedimentarán. Estos sólidos acumulados en el fondo, también llamados lodos, se retirarán periódicamente [20].

Flotación: se trata de un proceso físico utilizado para aquellos sólidos que no se depositan en el fondo. En el caso de tener una densidad menor que el agua, flotan a la superficie gracias a la adición de microburbujas. Se calcula que con la flotación pueden eliminarse hasta el 75% de las partículas suspendidas. Se inyecta aire comprimido y la caída de presión extrae el aire de la disolución creando esas microburbujas que se adhieren a los sólidos y los hacen flotar [21]. A continuación, los lodos se eliminan o bien hidráulicamente, a través de un vertedero estacionario, o mecánicamente, mediante una pala de grandes dimensiones.

Neutralización: su propósito es ajustar el valor del pH para satisfacer los requisitos de las diferentes plantas depuradoras. Puede utilizarse para tratar aguas residuales ácidas que contengan metales pesados. Mediante la adición de un reactivo alcalino se aumenta el pH del agua y se forma un precipitado compuesto por todos los metales no deseados [22]. En el caso de tener aguas residuales básicas, se añadirá CO_2 para disminuir el pH al deseado por la planta depuradora. No suele ser necesario en EDAR urbanas.

Tratamiento secundario: durante el transcurso de esta etapa se busca la eliminación de la materia orgánica o contenido biológico existente en las aguas residuales no eliminado en el tratamiento primario previo. Su eficacia ronda el 90% y se basa en la transformación de la materia orgánica en biomasa celular, energía, gases y agua. Esto se logra mediante un proceso biológico en el que la acción de algunas bacterias y microorganismos implica el consumo de las impurezas orgánicas como alimento [23]. Dentro de etapa se pueden diferenciar dos tipos de procesos:

Aerobios: durante estos procesos, realizados en presencia de oxígeno, se promueve la degradación de la materia orgánica por oxidación microbiana, lo que genera como subproductos agua y CO_2 . Al

mismo tiempo, en muchos procesos aerobios, el amonio, un derivado del nitrógeno de alta toxicidad, es transformado en nitrato mediante la nitrificación. Sin embargo, es indispensable recordar que, aunque ya no tóxico, el nitrato puede llegar a terminar generando el efecto de la eutrofización, es decir, el enriquecimiento en nutrientes del agua y consecuente proliferación de algas en el medio. Para ello, mediante la desnitrificación, es convertido en nitrógeno y liberado posteriormente a la atmósfera. Por último, es reseñable destacar que el proceso de desnitrificación debe llevarse a cabo en condiciones anóxicas, sin aporte de oxígeno.

Anaerobios: estos, a diferencia de los anteriores, no necesitan de la presencia de oxígeno para llevarse a cabo. En ellos se generan reacciones fermentativas de las que se obtiene como resultado energía, metano y dióxido de carbono.

El método más utilizado suele ser el del reactor biológico con fangos activos con eliminación de materia orgánica. Éste se basa en un tratamiento aerobio, mediante la aireación prolongada y la recirculación de fangos activos, eliminando así las sustancias biodegradables que se pudieran encontrar disueltas en las aguas residuales. Cada vez más, este proceso se modifica para lograr la eliminación de nitrógeno, mediante microorganismos nitrificantes y desnitrificantes [24]. Es todavía poco frecuente en las EDAR españolas enlazar el método de fangos o lodos activos con métodos para la eliminación del fósforo como pueden ser la eliminación por procesos inorgánicos, la eliminación a través de humedales y la eliminación biológica.

Otros métodos de depuración utilizados en esta etapa son los lechos bacterianos, los filtros verdes, la digestión anaeróbica o incluso otros aún menos frecuentes y más complejos como los biodiscos, biocilindros, electrocoagulación, electro oxidación, reactor biológica de membrana, etc.



Figura 2-4 Esquema depuradora convencional aguas residuales [25]

Tratamiento terciario: esta etapa es difícil de encontrar en las EDAR convencionales ya que la gran mayoría de ellas no disponen de los sistemas que conforman esta última etapa. Busca la completa desinfección de las aguas residuales mediante la eliminación de los agentes patógenos presentes, principalmente las bacterias fecales. Alcanza efectividades de hasta el 99% en eliminación de impurezas [19] e incluye distintos procesos como son la radiación ultravioleta, filtración, ósmosis inversa, ozonización catalizada o el intercambio iónico. En ocasiones, la eliminación de nutrientes se considera como un tratamiento terciario.

Tratamiento de lodos: tras ser decantados por su propio peso, principalmente durante el tratamiento primario y secundario, pasan a un digestor anaerobio en el que se reduce la materia orgánica presente.

Esta digestión viene acompañada por una liberación de gas metano que, en el caso de las estaciones de gran tamaño, puede aprovecharse como fuente de energía. El gas se acumula en el gasómetro y, en el caso de existir un exceso de este, al no poder liberarlo a la atmósfera, se quemará. Una vez digeridos los lodos, se almacenan y deshidratan mediante procesos como filtros banda, filtros prensa o centrífugas. Tras ser deshidratados, son finalmente enviados a su destino definitivo: agricultura, jardinería, construcción, etc.

2.2 Microcontaminantes emergentes

Se define a los microcontaminantes emergentes como sustancias químicas sintéticas o naturales o cualquier microorganismo no controlado de manera habitual en el medio ambiente, pero que puede llegar a tener la posibilidad de actuar en él, alterándolo y causando efectos adversos y muchas veces desconocidos tanto para el propio medio ambiente como para la salud del ser humano.

Dentro de esta categoría se incluyen los productos farmacéuticos, los pesticidas, los productos químicos industriales, los tensioactivos de los detergentes, y los productos de cuidado personal. Todos estos se pueden encontrar en aguas subterráneas, aguas superficiales, aguas residuales municipales, en la propia agua potable e incluso en fuentes de alimentos. La naturaleza de estos microcontaminantes es mayoritariamente orgánica y se encuentran presentes en las aguas residuales con unas concentraciones del orden de $\mu\text{g/L}$ a ng/L .

El principal peligro que brindan los microcontaminantes emergentes es, por un lado, que la toxicología tanto ambiental como humana de la gran mayoría de estos compuestos es desconocida pues aún no ha sido estudiada. Por otro lado, el peligro de esta incógnita aumenta cuando se tiene en cuenta el hecho de que la eliminación de muchos de esos compuestos no está contemplada en los protocolos de las EDAR convencionales. Además, cuando estos tipos de microcontaminantes pasan por los sistemas de tratamiento convencionales, se generan subproductos con unas propiedades desconocidas y que podrían llegar a ser nocivas.

2.2.1 Compuestos farmacéuticos y de cuidado personal (CFCPs)

El conjunto de los CFCPs lo forman, por un lado, los medicamentos con prescripción médica así como aquellos que no necesitan prescripción y, por otro lado, los productos de cuidado personal que buscan mejorar la calidad de vida del ser humano. Debido al aumento de la población, su consumo está aumentando exponencialmente.

Los compuestos farmacéuticos están formados por compuestos orgánicos como los antibióticos, hormonas, analgésicos, disruptores endocrinos y filtros UV utilizados en protectores solares [26]. Estos productos son metabolizados por el huésped y posteriormente excretados al medio ambiente en forma de orina y heces. En cuanto a los productos de cuidado personal, acceden al medio ambiente a través de vías de metabolización tanto directas como indirectas. Los CFCPs una vez desechados, ya sea como compuesto principal o como derivado, son liberados en las aguas superficiales y subterráneas, contaminándolas. Éstos se encuentran alrededor del mundo con variadas concentraciones que van desde los ng/L a los $\mu\text{g/L}$. La mayor concentración detectada hasta el momento se descubrió en aguas de la India con un valor entre los 1.4-31.4 mg/L en un estudio donde se describían los limitados sistemas de depuración [27]. Finalmente, estos compuestos vuelven a ser consumidos por el ser humano, a través de la cadena alimentaria y del agua potable. Este proceso se puede ver en detalle en la Figura 2-5.

De entre los CFCPS descritos, algunos muestran toxicidad incluso en bajas concentraciones mientras que otros presentan valores de toxicidad aguda inferiores, persistiendo en el medio y escapando a los sistemas de depuración y bioacumulándose en el medio ambiente, dando como resultado una toxicidad crónica de gran relevancia. De entre los efectos que dicha toxicidad crónica puede provocar se encuentran, entre otros, desequilibrios hormonales, resistencia a antibióticos y cáncer en los seres humanos [26].

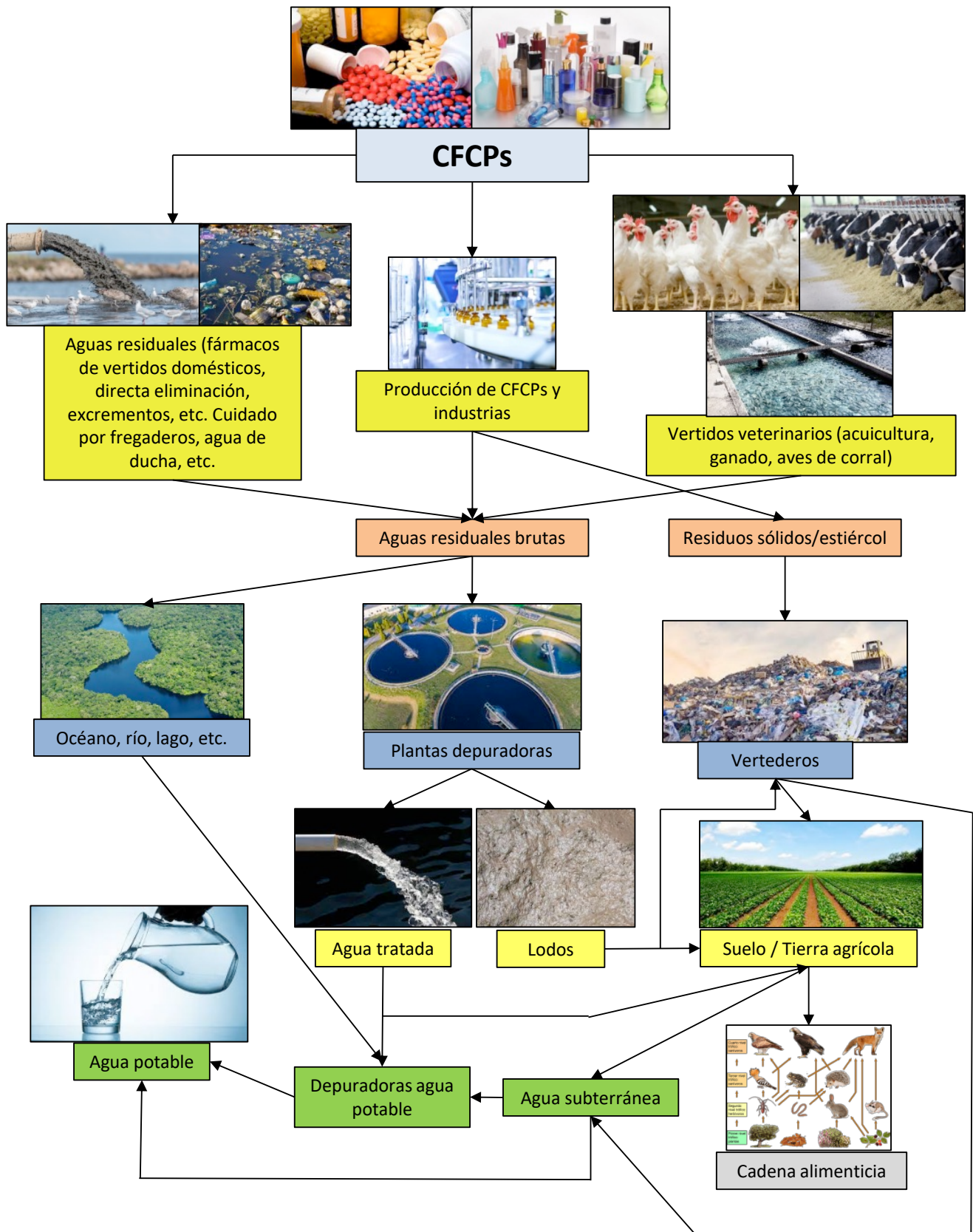


Figura 2-5 Origen, transporte y destino de los CFPCs (elaboración propia)

2.2.2 El ibuprofeno

El ibuprofeno es un fármaco antiinflamatorio utilizado para prevenir o disminuir la inflamación de los tejidos. Además, debido a su carácter analgésico, puede llegar a reducir ciertas dolencias asociadas

a los procesos gripales. Se trata de un compuesto caracterizado por su elevada polaridad y una solubilidad intermedia. Al presentar un grupo carboxilo (-COOH) en su estructura (Figura 2-6), se considera de carácter ácido. Se suele encontrar en las aguas residuales en concentraciones de 2,6 a 5,7 µg/L [28].

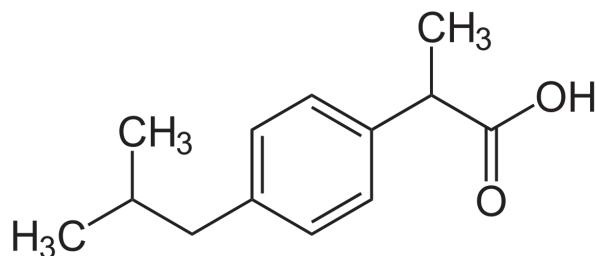


Figura 2-6 Estructura Ibuprofeno [29]

Este medicamento no necesita de una prescripción médica previa y esto, junto con el hecho de que no produce efectos secundarios notorios, lo convierte en uno de los más utilizados en la sociedad, y su uso está aumentando con el paso de tiempo. Sólo en España, en 2017 se vendieron alrededor de 15 millones de envases [30]. Es por ello por lo que será el que se analizará en este estudio.

2.2.3 Mecanismos de eliminación de CFCEPs en EDAR

La eficacia en la eliminación de los CFCEPs dependerá en gran medida de las propiedades fisicoquímicas de los compuestos. Estas propiedades serán la solubilidad, la volatilidad, la adsorbilidad, la biodegradabilidad, la polaridad y la estabilidad [31]. Además, habrá que tener en cuenta las condiciones de operación en las que se realice la eliminación. Estas condiciones dependerán de variables en función del tratamiento a utilizar, por ejemplo si se hace uso de tratamientos biológicos aerobios, tratamientos anaerobios o anóxicos, tiempo de resistencia celular e hidráulico, pH y temperatura [32].

Se establecen como principales mecanismos de eliminación de CFCEPs en plantas depuradoras de agua residual la biodegradación, la sorción y la volatilización [33], que serán descritas con más detalle a continuación.

2.2.3.1 Biodegradación

A través de la ecuación cinética de pseudo-primer orden representada en la Ecuación 1 es posible determinar la degradación biológica de los CFCEPs presentes en las aguas residuales.

$$r_{biol} = -\frac{dC}{dt} = k_{biol} \cdot X_{SSV} \cdot C_w$$

Ecuación 1 Biodegradación de CFCEPs [6]

En donde:

- ✓ k_{biol} : coeficiente de degradación biológica (L/g SST·d)
- ✓ C : concentración total de microcontaminantes (µg/L)
- ✓ C_w : concentración de microcontaminantes en fase líquida (µg/L)
- ✓ X_{SSV} : concentración de sólidos en suspensión volátiles (g SST/L)

De esta manera, y en función del k_{biol} o coeficiente de degradación biológica, se podrán clasificar los compuestos de la siguiente manera:

- ✓ Difícilmente biodegradables: $k_{biol} < 0,1$ L/g SST·d
- ✓ Moderadamente biodegradables: $0,1 < k_{biol} < 10$ L/g SST·d
- ✓ Fácilmente biodegradables: $k_{biol} > 0,1$ L/g SST·d

2.2.3.2 Sorción

Se define el fenómeno de la sorción como un proceso físico y químico por el que una sustancia se une a otra. El efecto contrario se conoce como desorción. Engloba a su vez a dos procesos: la absorción y la adsorción.

Absorción: proceso por el cual una sustancia incorporada en un estado determinado se transfiere a otra sustancia en un estado diferente para formar una disolución. Por ejemplo, gases que son absorbidos por un líquido o líquidos absorbidos por un sólido [34].

Adsorción: se define como la adhesión de una especie química a la superficie de las partículas. De esta manera, las partículas de gas o líquido se unen a la superficie sólida o líquida denominada absorbente. Las partículas forman una película atómica o molecular de adsorción [35].

La sorción de los CFCPs dependerá de su carácter lipofílico y de su acidez. La relación entre las concentraciones de los compuestos en fase sólida y en fase líquida viene determinada por el coeficiente de distribución sólido-líquido K_d (Ecuación 2), que indicará la cantidad de CFCPs sorbidos en el lodo.

$$K_d = \frac{C_s}{X_{SST} \cdot C_w}$$

Ecuación 2 Coeficiente de distribución sólido-líquido [36]

En donde:

- ✓ K_d : coeficiente de distribución sólido-líquido (L/g SST)
- ✓ C_s : concentración del compuesto en fase sólida ($\mu\text{g/L}$)
- ✓ X_{SST} : concentración de sólidos en suspensión totales (g SST/L)
- ✓ C_w : concentración del compuesto en fase líquida ($\mu\text{g/L}$)

2.2.3.3 Volatilización

Se define la volatilización como el proceso mediante el cual una muestra se vaporiza. En el contexto estudiado, se trata de la conversión de los microcontaminantes en fase líquida a la atmósfera. Su efectividad dependerá de factores como el tipo de aireación, el flujo de aire en contacto con el agua residual y el coeficiente de Henry como se puede apreciar en la Ecuación 3. Es usado mayoritariamente como mecanismo para la eliminación de fragancias, pues se considera despreciable para la eliminación de fármacos y hormonas.

$$\phi = \frac{C_w \cdot H \cdot Q_{air}}{C_w + C_w \cdot H \cdot Q_{air} + C_w \cdot K_d \cdot X_{SST}} = \frac{H \cdot Q_{air}}{1 + H \cdot Q_{air} + K_d \cdot X_{SST}}$$

Ecuación 3 Fracción de compuesto volatilizado [37]

En donde:

- ✓ H : coeficiente de Henry ($\mu\text{g} \cdot \text{m}^3$ agua residual/ $\mu\text{g} \cdot \text{m}^3$ aire)
- ✓ Q_{air} : caudal del aire (m^3 aire/ m^3 agua residual)

Para el uso de este mecanismo es importante tener en cuenta que la volatilización no erradica la estructura de las moléculas de los microcontaminantes y podría causar contaminación atmosférica si no se dispone de recogida de gases.

2.2.4 Nuevas tecnologías de eliminación de CFCPs

Durante los últimos años, con el fin de mejorar la calidad de las aguas descargadas a ríos y mares, se han desarrollado nuevas tecnologías de tratamiento. Estos sistemas buscan la reducción efectiva de los CFCPs y son incorporados a las EDAR como parte del tratamiento terciario.

Se destacan los siguientes:

- ✓ Procesos de oxidación avanzada: los procesos avanzados de oxidación (AOP) son tecnologías de tratamiento destinadas a degradar y mineralizar la materia orgánica recalcitrante de las aguas residuales mediante la reacción con el radical hidroxilo (-OH). Recientemente, estas tecnologías se han propuesto como solución para tratar contaminantes emergentes, especialmente productos farmacéuticos y de cuidado personal [38]. Dentro de este grupo se pueden encontrar procesos como la ozonización, la radiación UV, combinación O_3/H_2O , procesos Fenton, etc.
- ✓ Sistemas de filtración/adsorción: buscan la eliminación de los sólidos en suspensión mediante el uso de filtros de arena o de carbón activo. Estos últimos dependen en gran parte de la adsorción, que a su vez dependerá de las propiedades del soluto y el absorbente, temperatura y composición del agua a tratar. A pesar de tener las desventajas de tener que regenerar el adsorbente y la competición de la materia orgánica con los microcontaminantes por los centros activos del carbón activo, diversos estudios avalan su eficacia en cuanto a la eliminación de microcontaminantes tanto en aguas residuales como potables [39].
- ✓ Sistemas de biofiltración: estos sistemas combinan la eliminación mediante biodegradación con la adsorción/absorción, gracias a que en la superficie del material usado como adsorbente se desarrolla una biopelícula. Al disponer de un menor tiempo de retención celular que los sistemas convencionales de lodos activos, son adecuados para el desarrollo de bacterias de lento crecimiento como son las bacterias nitrificantes [40]. Estos podrán ser biofiltros de arena o biofiltros de carbón activo.

2.3 Depuración de aguas mediante microalgas

2.3.1 Ventajas y desventajas

La tecnología del uso de microalgas para la eliminación de nutrientes y compuestos farmacéuticos aparece como posible alternativa a los tratamientos actuales. Las microalgas, incluidas las algas eucariotas y las cianobacterias, han demostrado ser una alternativa sostenible y respetuosa con el medio ambiente a los procesos de tratamiento convencionales que poseen un muy alto consumo energético [41].

El uso de las microalgas, además de ser una fuente renovable de biomasa, es un método mucho más rentable económicamente y factible para la biofijación de CO_2 [42]. El factor determinante en el uso de las microalgas para el tratamiento de las aguas residuales reside en su capacidad de utilizar el carbono orgánico e inorgánico, así como el N y el P presente en las aguas residuales, para su crecimiento, produciendo así una reducción en la concentración de estas sustancias en el agua. La incorporación de esta tecnología en las plantas depuradoras favorece la generación de O_2 mediante la fotosíntesis, proceso necesario para que las bacterias heterótrofas puedan biodegradar los compuestos carbonosos.

Aunque el cultivo de algas se aleje de lo convencional, en lo que a tratamientos de aguas residuales se refiere, varios estudios han demostrado que la formación de algas puede provocar la eliminación de nutrientes en aguas residuales [43]. Además de ser eficientes en la captura de CO_2 y en la eliminación de nutrientes en aguas residuales, las microalgas han demostrado ser una potencial fuente de generación de energía. Hay que tener en cuenta además, que la emisión de N_2O a la atmósfera durante los procesos de tratamiento convencionales está ligada directamente con las condiciones en las que se realicen los procesos de eliminación de N [44]. Este es un punto fuerte para las microalgas ya que son capaces de eliminar tanto el nitrógeno orgánico (urea) como el inorgánico (amoníaco), además del nitrito y los nitratos [45] y lo harán generando emisiones mínimas o incluso nulas de N_2O .

Pero el conjunto de ventajas que ofrece este novedoso método no se queda ahí. Además de lo ya mencionado, las microalgas permiten que las aguas residuales tratadas mediante esta técnica no deban

verse obligadas a pasar por etapas adicionales para la eliminación de N y P inorgánico. Se reduce notablemente la complejidad del proceso y la energía requerida ya que únicamente es necesaria una sola etapa de tratamiento para eliminar materia orgánica y nutrientes. Esto se debe a que, para el crecimiento celular y la cuestión metabólica, las microalgas asimilan el amoníaco (NH_3) y el fosfato (PO_4) de forma conjunta [46]. De esta manera, los procesos de tratamiento con microalgas generan una emisión de gases de efecto invernadero mucho menor. Esto se debe a hechos como que el N, en lugar de convertirse en óxidos de nitrógeno, es directamente asimilado por las microalgas. Varios estudios respaldan estas afirmaciones, que afirman la insignificante emisión de N_2O causada por las microalgas junto con microorganismos en las aguas residuales [47] [48]. Además, el suministro de O_2 disuelto a las aguas residuales a través de la fotosíntesis de las microalgas es una forma eficaz de ahorrar significativamente en la demanda de energía y en la emisión de gases de efecto invernadero, pues no es necesario suministrar aire al proceso (como ocurre en el sistemas de lodos activos).

Sin embargo, y como todo tipo de tecnología, el uso de las microalgas en la depuración también presenta inconvenientes. El más evidente es que se trata de una tecnología reciente, que aún está en estudio y de la que no se dispone de la información necesaria como para plantear su uso a gran escala todavía. Por otro lado, las microalgas necesitan un tiempo de cultivo previo, y su eficacia no es inmediata. Este cultivo además se verá sometido a factores como las condiciones ambientales, que determinarán su crecimiento al limitar por ejemplo la luz solar en días nublados. Asimismo, se verá afectado por la posible contaminación debido a aguas pluviales. Finalmente, presenta como desventaja la recolección y valoración de la biomasa a lo largo de su uso. Se expone en la Tabla 2-1 un esquema resumen enumerando las principales ventajas y desventajas de este sistema.

Ventajas	Desventajas
✓ Sostenible y respetuoso con el medio ambiente ✓ Fuente renovable de biomasa ✓ Mayor rentabilidad y menor coste ✓ Menores requerimientos de energía para operar ✓ Generación de O_2 mediante fotosíntesis ✓ Eliminación nutrientes ✓ Sencillez, una sola etapa ✓ Menor emisión de gases de efecto invernadero ✓ No generación de lodos	- x Tecnología aún en desarrollo - x Necesidad de cultivo previo - x Dependiente de las condiciones ambientales - x Posibilidad de contaminación con aguas pluviales - x Recolección y valoración de la biomasa

Tabla 2-1 Ventajas y desventajas del uso de microalgas (elaboración propia)

2.3.2 Parámetros a controlar para un óptimo crecimiento

El crecimiento de las microalgas puede verse afectado por numerosos factores, tanto bióticos como abióticos. Los factores bióticos serán aquellos referidos a la presencia de patógenos como bacterias, hongos y virus, así como la competencia de otras microalgas. Los factores abióticos, por otro lado, serán los referidos a factores como la calidad y cantidad de luz, la temperatura, el pH, la salinidad, la cantidad y calidad de nutrientes, la concentración de oxígeno y la presencia de compuestos tóxicos. Además, las microalgas pueden verse afectadas por las condiciones operativas en las que se encuentren. Estas condiciones engloban características como el tiempo de cultivo, las tasas de recolección y la transferencia y mezcla de gases, ya que estos parámetros controlan la disponibilidad de CO_2 en el medio, así como la exposición a la luz [49] [50].

El suministro de **luz** será la fuente de energía utilizada para convertir el carbono inorgánico (CO_2) en carbono orgánico y, por ello, determinará sobremanera el crecimiento de las microalgas. De esta manera, la actividad fotosintética será proporcional a la irradiación de luz en el caso de irradiaciones de luz por debajo del punto de saturación de luz. Sin embargo, para el caso contrario de altos valores de irradiación luminosa, determinado por factores como la temperatura, el sistema receptor fotosintético podría verse dañado, provocando así la inhibición de la fotosíntesis y por tanto del propio crecimiento de las microalgas [51].

La **temperatura** es uno de los principales factores que regulan las respuestas celulares, morfológicas y fisiológicas de las microalgas. Las temperaturas más altas por lo general aceleran las tasas metabólicas mientras que las bajas inhiben el crecimiento. Si bien dependerá del tipo de alga y la intensidad de la luz, se ha llegado a la conclusión de que el rango de temperatura óptima para su crecimiento es de 15 a 26°C [52].

La mayoría de las especies de microalgas se ven favorecidas por un **pH** neutro, mientras que otras toleran un pH más alto. La asimilación de carbono inorgánico por parte de las microalgas, si no se repone a un ritmo equivalente al que se consume, puede provocar un aumento del pH. Si esto ocurre, el beneficio proporcionado por las bacterias aeróbicas y facultativas puede verse reducido al verse afectados su crecimiento y función. Existe una fuerte correlación entre la abundancia de bacterias heterótrofas y el pH que establece, con el aumento del pH, una mayor “inactivación” de las bacterias [53] [54]. Se estima que la reducción de bacterias coliformes y otros microorganismos patógenos se produce en torno a un pH de 8,5, siendo 9,5 el pH en el que tiene lugar la mayor eliminación de la comunidad bacteriana en las aguas residuales [55].

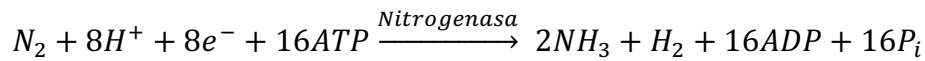
En lo referido a la **salinidad**, los niveles óptimos difieren también en base al tipo de microalga, ya que aquellas que sean halotolerantes podrán crecer en ambientes con elevada salinidad, mientras que las algas de agua dulce verán perjudicado su crecimiento en su presencia. Las modificaciones en la salinidad del medio de cultivo pueden tener efectos adversos en el crecimiento y la composición de las microalgas debido a efectos como el estrés osmótico [56]. Los principales factores que contribuyen a la modificación de la salinidad del medio de cultivo son las pérdidas por evaporación y las precipitaciones (en los sistemas abiertos).

Las microalgas, además, verán su mantenimiento, crecimiento y rendimiento determinado de manera significativa por la **composición** de las aguas residuales en las que se vean envueltas. Principalmente, sus necesidades se resumen en tres compuestos principales: N (nitrógeno), P (fósforo) y C (carbono). La tasa de consumo de estos compuestos está fuertemente vinculada a la tasa de crecimiento de las propias microalgas, por lo que un suministro limitado podría llegar a reducir significativamente su tasa de crecimiento [57]. Es por ello por lo que, para poder garantizar la eficaz eliminación de nutrientes en el medio de cultivo, debe haber a su vez una óptima proporción de nutrientes que puedan satisfacer las necesidades estequiométricas de las propias microalgas. Además, existen otro tipo de micronutrientes como son el calcio, magnesio, potasio, manganeso, zinc y el hierro, entre otros, que son asimismo esenciales. Suelen encontrarse de manera abundante en las aguas residuales [46].

Por último, otro aspecto a considerar es la importancia de la **mezcla** en el cultivo de las microalgas. Esta permite la distribución equitativa de la luz y de los nutrientes entre las células de las microalgas. De esta manera, se evitan posibles zonas de estancamientos y se mejora la transferencia de gases entre el medio de cultivo y el aire. Asimismo, es esencial que la transferencia de gases no se vea en ningún momento comprometida, ya que el aire en circulación es el que contiene el CO_2 necesario para la realización de la fotosíntesis y la eliminación del oxígeno producido. Además, con la constante mezcla de los cultivos de microalgas, se previene la sedimentación de las microalgas y la estratificación térmica. En función de la escala y sistema de cultivo utilizado, se seleccionará el método apropiado para esa mezcla [58].

2.3.3 Eliminación de N

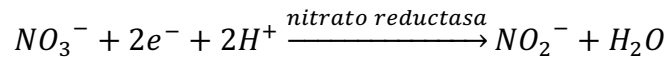
Las formas de nitrógeno inorgánico más comunes son el nitrato (NO_3^-), el nitrito (NO_2^-), el ácido nítrico (HNO_3), el amonio (NH_4^+), el amoníaco (NH_3), el nitrógeno molecular (N_2), el óxido nitroso (N_2O), el óxido nítrico (NO) y el dióxido de nitrógeno (NO_2) [49]. Las microalgas desempeñan un papel importante tanto en la fijación como en la asimilación del nitrógeno. Las microalgas procariotas (cianobacterias) son capaces de asimilar el nitrógeno molecular atmosférico (N_2 -N), convirtiéndolo en nitrógeno amoniacal (NH_3 -N) como se ve en la Ecuación 4, que puede ser incorporado a los aminoácidos y proteínas o excretarse al medio ambiente [59].



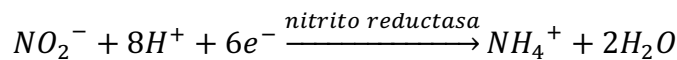
Ecuación 4 Conversión de N_2 -N a NH_3 -N [60]

- ADP: adenosín difosfato
- ATP: adenosín trifosfato

Por otro lado, las microalgas eucariotas son capaces de asimilar derivados del nitrógeno como el NH_4 -N, el NO_3 -N y el nitrito-nitrógeno (NO_2 -N). El NO_3 -N, al ser el derivado más oxidado y por tanto más estable termodinámicamente que el NH_4 -N, es la forma de nitrógeno más común encontrada en ambientes acuáticos. Para la asimilación de esta fuente de nitrógeno, se requiere un proceso de dos pasos, catalizados por las enzimas nitrato reductasa y nitrito reductasa. En el primer paso, en la Ecuación 5, se cataliza la reducción de NO_3 -N a NO_2 -N mediante nitrato reductasa y, en la siguiente reducción, a NH_4 -N, en la Ecuación 6, se cataliza mediante el nitrito reductasa [61].

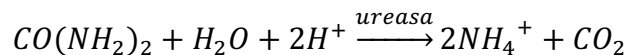


Ecuación 5 Conversión de NO_3^- a NO_2^- [60]



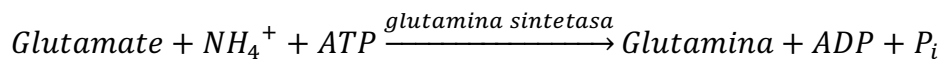
Ecuación 6 Conversión de NO_2^- a NH_4^+ [60]

La urea, como nitrógeno orgánico disuelto, también puede llegar a ser asimilada por las células de las algas convirtiéndolo, como en el caso anterior, en amonio (NH_4^+). Para conseguirlo, se produce una reacción de reducción facilitada por la ureasa como se puede ver en la Ecuación 7.



Ecuación 7 Conversión urea en NH_4^+ [61]

El amonio (NH_4^+) resultante de estas reducciones bien presente en aguas residuales es convertido directamente en aminoácidos mediante la secuencia metabólica del proceso de glutamina sintetasa-glutamato sintetasa, donde, como se puede ver en la Ecuación 8, la glutamina sintetasa cataliza la formación de glutamina a partir de glutamato y ATP.



Ecuación 8 Conversión NH_4^+ en aminoácidos [60]

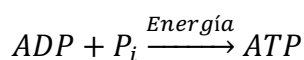
2.3.4 Eliminación de P

El fósforo es el encargado de mediar la transferencia de energía y la síntesis de ácidos nucleicos. Este nutriente entra en la células de las microalgas a través del transporte activo en la membrana plasmática en forma de H_2PO_4^- y HPO_4^{2-} [62].

En las células de las microalgas, el fósforo es usado para la formación tanto de compuestos orgánicos como inorgánicos. Para transformar el P en compuestos orgánicos de alta energía, las microalgas hacen usos de los siguientes 3 procesos [63]:

- ✓ Fosforilación oxidativa: proceso metabólico en el que la energía liberada por la oxidación de nutrientes es utilizada para producir ATP [64].
- ✓ Fosforilación a nivel de sustrato: formación de ATP a partir de ADP y un intermediario fosforilado, en lugar de a partir de ADP y un fosfato inorgánico como en la fosforilación oxidativa [65].
- ✓ Fotofosforilación: proceso de síntesis de ATP a partir de ADP y fosfato llevado a cabo por las ATP-sintetasas de la membrana del tilacoide, en los cloroplastos de las células vegetales. [66].

En estos procesos, como se puede apreciar en la Ecuación 9, se produce ATP a partir de ADP y de un aporte energético. Esta energía se puede obtener, en el caso de los dos primeros procesos, a partir de la oxidación de los sustratos respiratorios o del sistema de transporte de electrones de la mitocondria. Para el tercer caso, la energía de la luz es transformada e incorporada en ATP [63].



Ecuación 9 Producción ATP a partir de ADP [63]

2.3.5 Eliminación de CFCEPs

Diversos fenómenos intervienen en la eliminación de CFCEP mediante el uso de microalgas. Los principales métodos por los que se consigue la eliminación de estos microcontaminantes son la biodegradación, la fotodegradación, la biosorción y la volatilización. De estos cuatro, los tres primeros son responsables de la gran parte de microcontaminantes eliminados, mientras que la volatilización interviene en tan sólo algunos de ellos. Además, es importante resaltar que los microcontaminantes pueden ser erradicados por más de una vía. Es por ello por lo que, la aclaración de los métodos requeridos por cada microcontaminante, así como los factores que influyen en su eficacia, son de suma importancia a la hora de querer optimizar la operación de las microalgas y aumentar su fiabilidad [67]. A continuación, en la Figura 2-7, se puede ver un esquema en el que aparecen todos los procesos implicados.

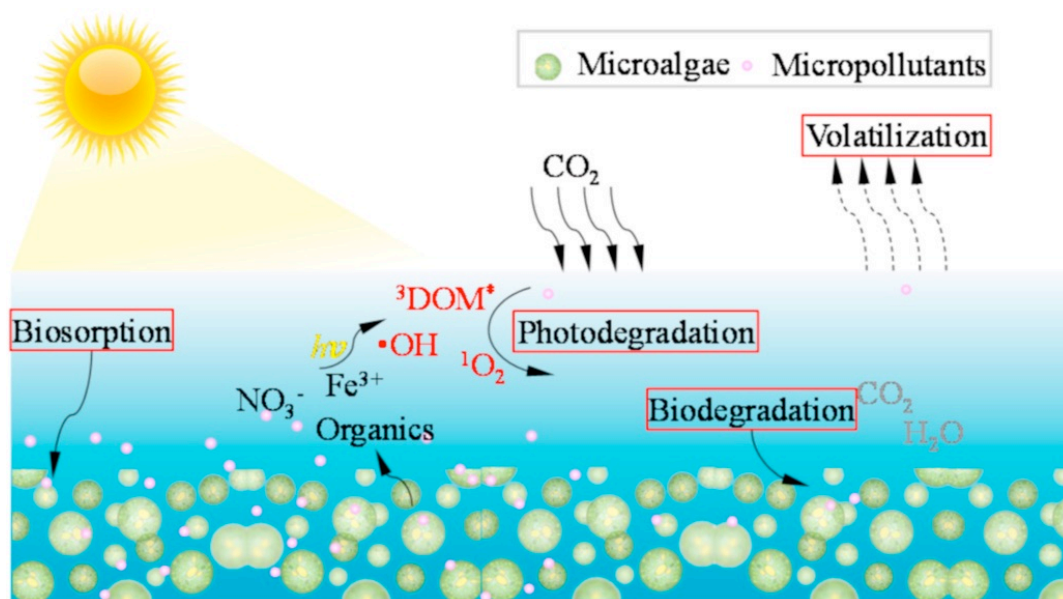


Figura 2-7 Métodos eliminación de microcontaminantes mediante el uso de microalgas [67]

2.3.6 Biorreactores de células en suspensión

El cultivo en suspensión es la forma más utilizada para el crecimiento de microalgas. Principalmente, dentro de este tipo de cultivo se encuentran dos subcategorías: los biorreactores cerrados y los biorreactores abiertos.

Los fotobiorreactores cerrados pueden llegar a tener más ventajas debido a diversos motivos. Las condiciones de cultivo y los parámetros de crecimiento, como el pH, la temperatura, la mezcla, las concentraciones de dióxido de carbono y de oxígeno puede ser controlados de una manera más exhaustiva. Además, se evitan la evaporación y las contaminaciones de una manera mucho más fácil y se pueden llegar a alcanzar mayores concentraciones celulares [68]. Sin embargo, y, a pesar de estas ventajas, estos fotobiorreactores tienen algunas limitaciones en términos de sobrecalentamiento, dificultades a la hora de querer agrandar el sistema y mayores costes de construcción [69]. Suele elegirse este tipo de fotobiorreactores cuando se necesita asegurar un monocultivo, con la especie seleccionada, de forma que no haya contaminación que pueda perjudicar el crecimiento del cultivo elegido. Es un cultivo de alta exigencia y coste, ya que se debe asegurar la esterilidad en todas las manipulaciones que se lleven a cabo sobre el equipo. De entre los más utilizados pueden citarse los reactores de placa plana, los reactores de columna de burbujas y los reactores tubulares, representados en la Figura 2-8.

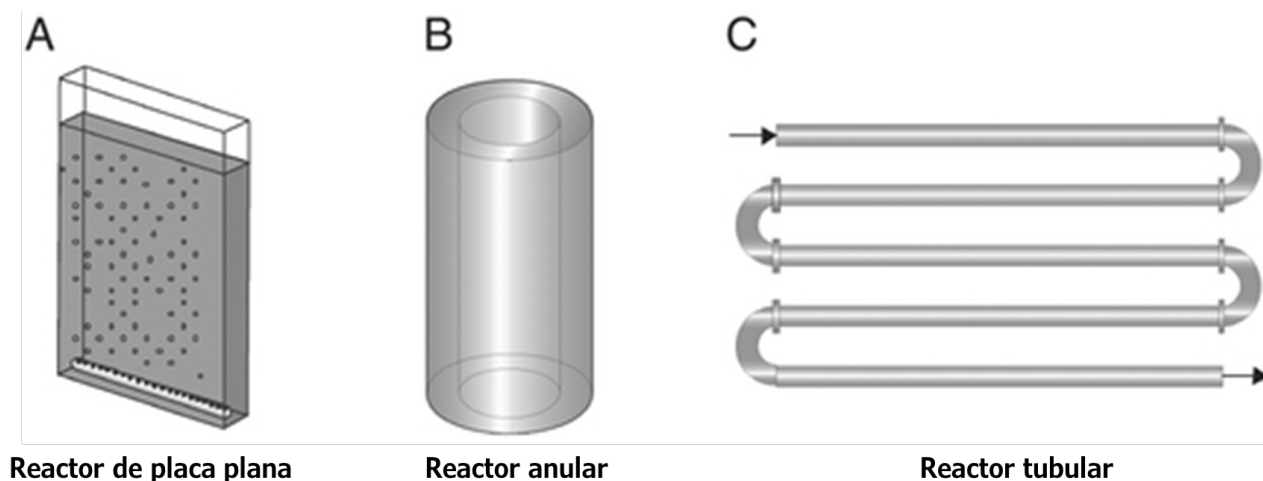


Figura 2-8 Tipos de biorreactores cerrados (adaptado de [70])

Por otro lado, la producción de algas en sistemas abiertos presenta una mayor capacidad de producción con menores costes en términos de construcción y funcionamiento. Es el sistema elegido cuando se realiza un cultivo mixto en donde, además, se quiere favorecer el desarrollo bacteriano y la formación de un biofilm. Sin embargo, factores como una mezcla insuficiente, oscilaciones en las condiciones de cultivo y una mayor susceptibilidad a las contaminaciones, provocan que las productividades de biomasa y las eficiencias de eliminación de nutrientes sean menores a las que se pueden esperar en un fotobiorreactor cerrado. Además, son mucho más propensas a la difusión de CO_2 a la atmósfera, a las pérdidas de agua por evaporación y a la mala utilización de la luz por parte de las células [71]. Los sistemas abiertos se dividen en dos categorías: estanques naturales (incluyen lagos, lagunas y estanques) y estanques artificiales o contenedores. Los más utilizados son los estanques poco profundos, los estanques circulares y los estanques de canalización [72] representados en la Figura 2-9 y en la Figura 2-10.

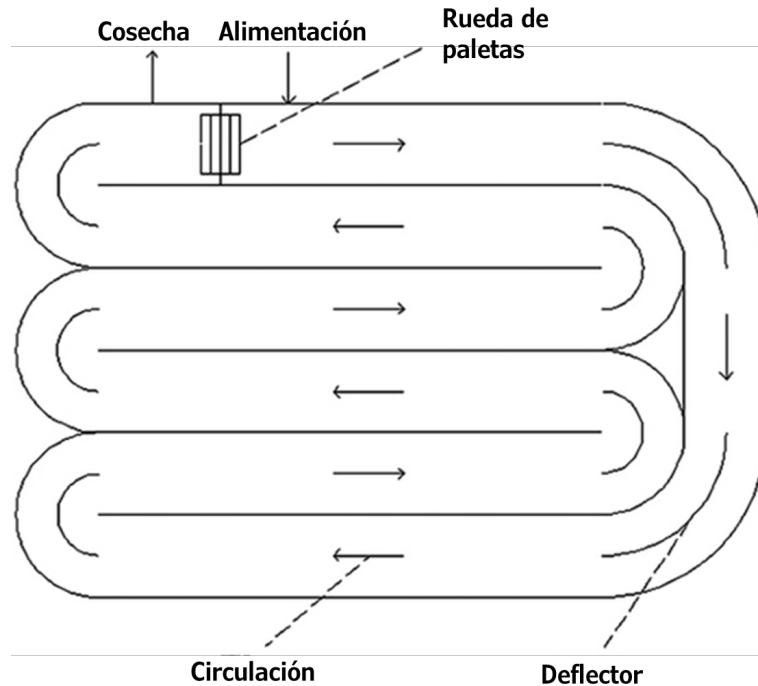


Figura 2-9 Tanque de canalización esquematizado (adaptado de [73])



Figura 2-10 Tanque de canalización [74]

2.3.7 Biorreactores de células inmovilizadas

La inmovilización de las microalgas (Figura 2-11) puede lograrse mediante la autoadhesión (modo pasivo) a un material de lecho, que está total o parcialmente sumergido para favorecer así el desarrollo del biofilm (panel plano o reactor rotatorio de algas), o mediante el atrapamiento (modo activo) en matrices de gel que pueden ser inducidas o mediadas por agentes químicos o flocculantes [75].

La formación del biofilm se produce inicialmente porque los cationes y los compuestos orgánicos e inorgánicos se adhieren a la superficie del material del lecho, aumentando así la concentración en relación con la fase acuosa y, por tanto, creando un entorno favorable para el crecimiento microbiano. Una vez asentadas en la superficie, las microalgas y bacterias secretan sustancias extracelulares compuestas por ácidos nucleicos, proteínas, polisacáridos y fosfolípidos que sirven para mejorar la adherencia al material de lecho así como para atrapar y concentrar los nutrientes necesarios para el crecimiento celular [76].

Existen recientes estudios que han demostrado y desarrollado reactores de biofilm de algas para el consumo eficiente de N y P de las aguas residuales y su conversión en biomasa [77] [78]. En un estudio acerca de la influencia del biofilm de algas en la pared de un fotobiorreactor, se demostró que la formación del biofilm de algas provocaba una significativa reducción del contenido de fósforo y nitrógeno de las aguas residuales [79].

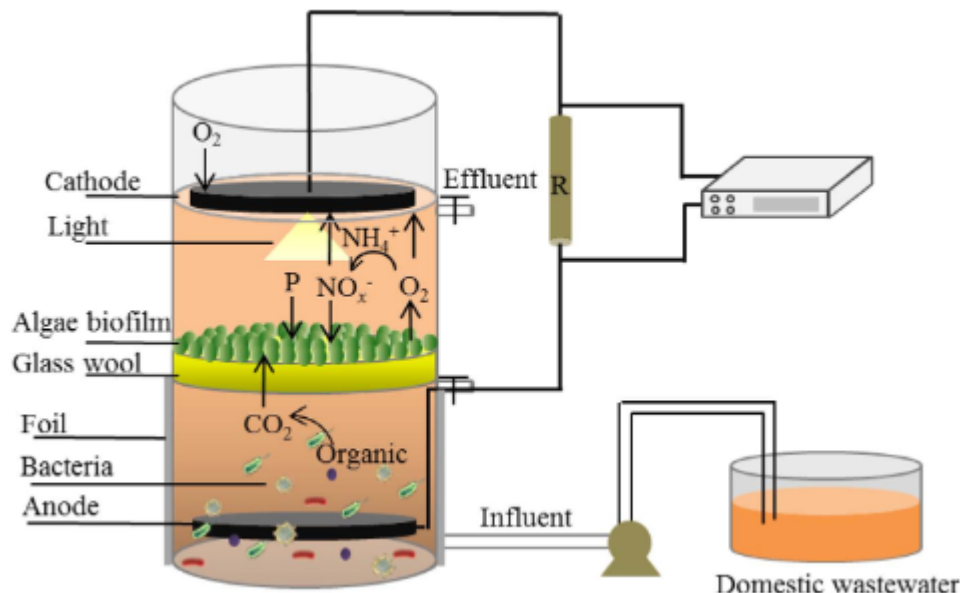


Figura 2-11 Montaje experimental de célula de combustible microbiana de biofilm de algas [78]

A continuación en la Tabla 2-2 se exponen, de una manera resumida, una comparación de pros y contras entre los sistemas de células en suspensión y los sistemas de células inmovilizadas:

Sistema de cultivo	Ventajas	Desventajas
Células en suspensión	✓ Sistema muy estudiado y optimizado ✓ Puede procesar mayores cantidades de aguas residuales ✓ Aplicable en operaciones de gran escala	x Se requiere un cultivo de microalgas previo al traspaso de las aguas residuales tratadas
Células inmovilizadas	✓ El cultivo de microalgas previo al traspaso de las aguas residuales tratadas es más sencillo ✓ Los cultivos más viejos están más protegidos antes la fotoinhibición ✓ La matriz de inmovilización ofrece a las células una mayor resistencia a entornos adversos como la salinidad, la toxicidad de metales y el pH	- x Costes elevados asociados a la matriz polimérica (para atrapamiento celular) - x Se requiere una gran superficie (para adhesión de microalgas y formación de biofilm) - x Puede producirse una limitación de la luz - x Aplicable sólo para operaciones a escala y piloto

Tabla 2-2 Ventajas y desventajas sistemas de cultivo (adaptado de [62])

3 DESARROLLO DEL TFG

3.1 Cultivo de las microalgas

3.1.1 Puesta en marcha del reactor principal

El primer paso en la investigación de la eficacia de la técnica de las microalgas en la eliminación de compuestos farmacéuticos y nutrientes es el cultivo de las microalgas, que después servirá para inocular otros reactores. Para ello, se introdujeron en un vaso de un litro 0,75 L de agua destilada y un recipiente de Fitoplancton Vivo de 250 mL así como 20 mL de abono para plantas (Figura 3-1). Este vaso se dejó en un lugar donde recibiera la suficiente luz solar para el óptimo crecimiento de las algas. Además, se añadió regularmente abono para plantas para ayudar en la alimentación.



Figura 3-1 Fitoplancton Vivo 250 mL [80] y Abono para plantas Versol 500 mL [81]

La composición del Fitoplancton Vivo añadido es la siguiente:

- ✓ *Nannochloropsis gaditana* 50%
- ✓ *Tetraselmis suecica* 50%

En cuanto al abono plantas para plantas, está compuesto por:

- ✓ Nitrógeno total 1,6%

- ✓ Nitrógeno ureico 1,6%
- ✓ Anhídrido fosfórico 0,8%
- ✓ Óxido de potasio 2%
- ✓ Excipientes c.s.

A las 24 horas se trasladó el cultivo inicial a un vaso de mayor tamaño y se le añadieron otros 3,5 L de agua destilada y 10 mL de abono para plantas, quedando finalmente un vaso de 4,5 L con 250 mL de Fitoplancton Vivo como se puede ver en la Figura 3-2.

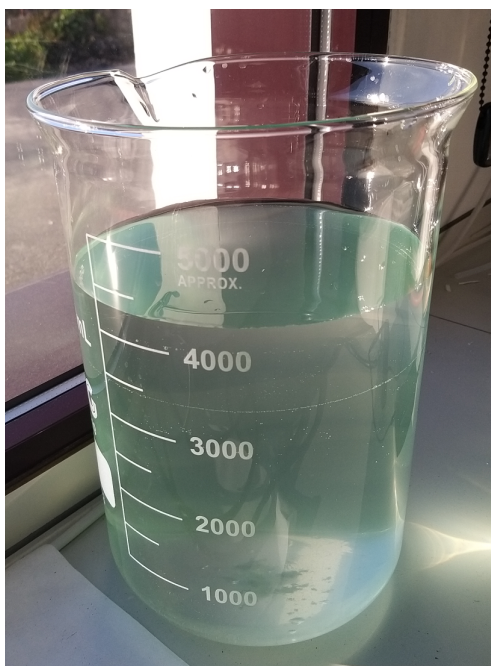


Figura 3-2 Vaso Fitoplancton y agua destilada (4,5L)

Una semana más tarde, se añaden otros 1000 mL de Fitoplancton Vivo. Para facilitar el cultivo, se agita la mezcla de manera constante a 155 rpm. Además, se introduce un aireador EHEIM air100 (Figura 3-3, características descritas en el Anexo II: Aireador EHEIM air100) para facilitar el intercambio de oxígeno y dióxido de carbono y potenciar su crecimiento.



Figura 3-3 Aireador EHEIM air100 [82]

Dada la dificultad de disponer de luz solar de manera ideal a lo largo del día debido a la meteorología de la zona y los cielos nublados, se opta por la instalación de una luz artificial (características descritas en el Anexo III: Kit LED carcasa rígida ICA). De esta manera, queda el reactor montado de la forma que se puede apreciar en la Figura 3-4.

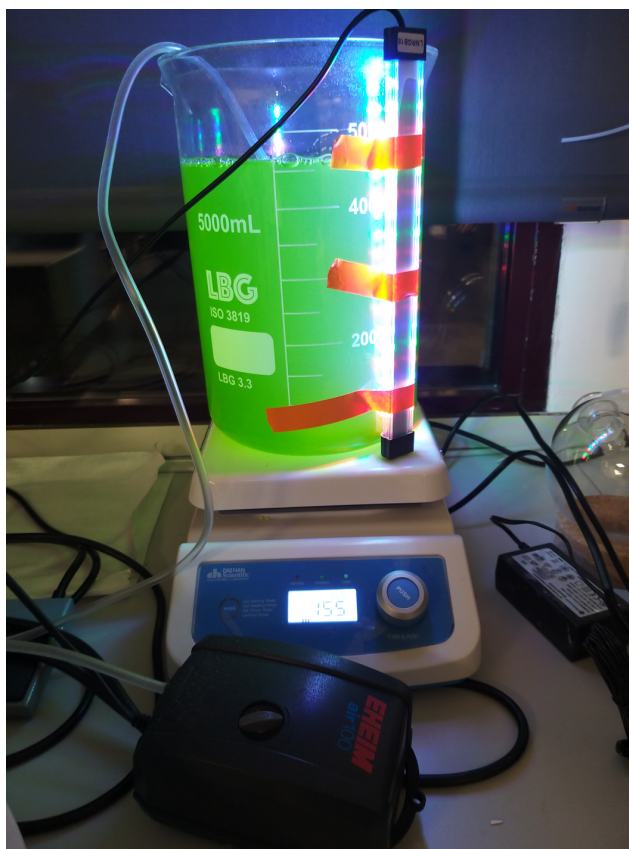


Figura 3-4 Reactor con aireador y luz artificial

En cuanto al tiempo de incidencia de la luz, hay que tener en cuenta que la duración relativa del día y la noche, conocida como fotoperiodo, es uno de los principales factores que controlan el crecimiento y desarrollo vegetal [83], por lo que para evitar la saturación de las algas y no tener la luz artificial funcionando las 24 horas, se instala un temporizador (Figura 3-5) a ésta para su funcionamiento durante 14 horas al día, de las 07:00 a las 21:00, dando como resultado un fotoperíodo 14:10.



Figura 3-5 Temporizador de la luz artificial

3.1.2 Operación del reactor principal

La fase de cultivo de las microalgas duró 16 días. Ese período engloba desde el primer día que se vertieron los primeros 250 mL de Fitoplancton Vivo hasta el día en el que se crearon los 4 reactores principales, en los que se evaluó la eficacia de las microalgas en la eliminación de nutrientes y compuestos farmacéuticos a lo largo del tiempo. Durante este tiempo, además de los distintos equipos que se fueron añadiendo explicados anteriormente, se produjeron diversas interacciones con el reactor.

En primer lugar, con la finalidad de poder monitorizar el crecimiento de las microalgas de una manera mucho más detallada, se extrajeron muestras de 25 mL aproximadamente cada dos días. Con esta muestra se medían los parámetros de pH, turbidez y sólidos en suspensión, cuya metodología se explica más adelante. Con estos datos, se facilitaba el seguimiento del cultivo y se tomaban acciones acordes a sus resultados.

Los primeros días transcurren de la siguiente manera:

- Día 0: 0,75 L agua destilada + 0,25 L Fitoplancton Vivo + 20 mL abono para plantas.
- Día 1: se añaden 3,5 L agua destilada + 10 mL abono para plantas.
- Día 2: se añaden 10 mL de abono para plantas.
- Día 3: se añaden 5 mL de abono para plantas.

Tras estos primeros días y tras no apreciar un cambio en el crecimiento de las algas (Figura 3-2), se decide aumentar tanto los nutrientes como la cantidad de fitoplancton, así como introducir otros componentes que ayudaran al crecimiento del cultivo.

- Día 7: se añaden 20 mL micronutrientes + 20 mL macronutrientes + 40 mL fuente de carbono + 1 L Fitoplancton Vivo. Se introducen aireador y luz artificial.
- Día 8: se añade un temporizador a la luz artificial.
- Día 9: se añaden 5 mL micronutrientes + 50 mL macronutrientes + 100 mL fuente de carbono.
- Día 13: se aumenta el agitado a 200 rpm.

Las composición de los micronutrientes, macronutrientes y fuente de carbono se detallan a continuación en el apartado 3.1.3. El día 16 se extraen las cantidades necesarias para cada uno de los cuatro reactores en la que se desarrolló el experimento, explicado a continuación en el apartado 3.2.

3.1.3 Preparación de agua residual sintética

En este estudio se pretende evaluar la validez de las microalgas como tratamiento secundario en una EDAR. Para ello, se prepara un agua residual que se aproxime a las características del agua residual a la salida del tratamiento primario. Esta agua estará formada por N, P, C, metales, y microcontaminantes en distintas concentraciones. Se divide en cuatro disoluciones para tener así un mejor control sobre los compuestos añadidos.

Se han embotellado tres tipos de disoluciones distintas, en altas concentraciones, para poder en el futuro utilizar la cantidad requerida en el número de experimentos que se consideraran necesarios. Estas tres disoluciones son una de microcontaminantes, una de macrocontaminantes y, por último, una de fuente de carbono.

Las algas necesitan compuestos en bajas concentraciones, como metales, para crecer. Estos serán los denominados como micronutrientes. Para su composición, se estudiaron los compuestos habitualmente presentes en aguas residuales y en medios de cultivo específicos para microalgas así como sus concentraciones y la óptima relación entre ellos. En base a la información encontrada [84] y a la

disponibilidad de los compuestos en los laboratorios, se estableció la relación de compuestos presentada en la Tabla 3-1.

Fórmula	M (g/mol)	Concentración en agua residual (mg/L)	Concentración en botella (mg/L)	Masa a añadir (mg)
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	270	6,2	1235	617
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	250	0,080	16	8,0
H_3BO_3	62	2,86	572	286
$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1235,8	0,05	10	5
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	288	0,22	44	22
$\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	147	35	7000	3500
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	203	96	19200	9600
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	169	1,5	309	154
$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$	192	6	1200	600

Tabla 3-1 Disolución micronutrientes

Estos datos (Tabla 3-1) fueron calculados para un volumen total de 0,5 L. La dosificación se realizó de acuerdo con los siguientes procedimientos: teniendo en cuenta la concentración de cada compuesto normalmente en AR (agua residual), suponiendo una concentración 200 veces mayor, se halla la concentración a conseguir en nuestra botella con la disolución patrón. Por último, teniendo en cuenta el volumen total que se quiere (0,5 L) se halla la cantidad en miligramos de cada compuesto a añadir necesarios para conseguir la concentración deseada. Se tendrá, por tanto, una botella de 0,5 L con la cantidad presentada en la última columna de cada compuesto.

En segundo lugar, se realiza el análisis de los macronutrientes. Para ello, se busca la relación de compuestos que ofrezcan las siguientes concentraciones, habituales en aguas residuales urbanas tras recibir un tratamiento primario [85]:

- ✓ N-NH₄: 60 mg/L
- ✓ P-PO₄: 8 mg/L
- ✓ N-NO₃: 2 mg/L

Para conseguirlo, se establecen, al igual que en el caso de los micronutrientes, para una botella de 0,5 L con una concentración 50 veces mayor, la relación de compuestos presentada en la Tabla 3-2.

Fórmula	M (g/mol)	Concentración en agua residual (mg/L)	Concentración en botella (mg/L)	Masa a añadir (mg)
NH_4Cl	53,49	229,2	11462,1	5731
KH_2PO_4	136,09	35,1	1756	878
KNO_3	101	14,4	721,43	361

Tabla 3-2 Disolución macronutrientes

Por último, se crea la disolución de fuente de carbono, de 1 L con una concentración 25 veces mayor estableciendo la relación de compuestos presentada en la Tabla 3-3 [85]:

Fórmula	M (g/mol)	Concentración en agua residual (mg/L)	Concentración en botella (mg/L)	Masa a añadir (g)
$C_{12}H_{22}O_{11}$	342,3	150	3750	3,75
$NaC_2H_3O_2 \cdot 3H_2O$	136,1	350	8750	8,75
$NaHCO_3$	84	250	6250	6,25

Tabla 3-3 Disolución de fuente de carbono

De esta manera, se obtiene una botella con las siguientes concentraciones de carbono [86] [87]:

- ✓ Sacarosa: 63,10 mg/L
- ✓ Acetato: 61,72 mg/L
- ✓ Bicarbonato: 35,71 mg/L

Esto supone una concentración de carbono total (TC) de 160,5 mg/L y una concentración de carbón orgánico total (TOC) de 124,8 mg/L.

De esta manera, quedan 4 botellas, como se puede apreciar en la Figura 3-6, que son:

- ✓ 1 botella de 0,5 L de micronutrientes
- ✓ 1 botella de 0,5 L de macronutrientes
- ✓ 2 botellas de 0,5 L de fuente de carbono



Figura 3-6 Disoluciones contaminantes

Asimismo, y para el estudio de la capacidad de las microalgas de eliminar compuestos farmacéuticos, se prepara una botella con una disolución de ibuprofeno. Se elige como medicamento a utilizar el IBUPROFENO DEF en comprimidos de 600 mg (Figura 3-7). Se opta por esta vía en lugar de alternativas solubles (ibuprofeno en sobres) en base a su mayor pureza y menor cantidad de ingredientes secundarios y excipientes. Su composición, según el prospecto, es la siguiente:

- ✓ Principio activo: ibuprofeno 600 mg.

- ✓ Demás componentes: celulosa microcristalina, esterato magnésico y carboximetil almidón sódico de patata (tipo A, procedente de almidón de patata), c.s.



Figura 3-7 Ibuprofeno DEF 600mg

Se pretende crear una disolución patrón con una concentración de 1 g/L. Se pretendía en un primer momento utilizar agua destilada como disolvente. Sin embargo, tras observar las dificultades con la solubilidad del ibuprofeno en ésta (el ibuprofeno es prácticamente insoluble en agua [88]), se opta por hacer uso de metanol para su disolución.

Para ello, se pesa un comprimido que da un valor de 825,9 mg, de los cuales 600 mg serán ibuprofeno (pureza del 72,65%). Para crear la disolución se deben añadir a 0,5 L de metanol 500 mg de ibuprofeno, es decir, 688,25 mg de comprimido machacado en forma de polvo.

Como objetivo final se busca obtener una concentración final en los reactores de 20 mg/L. Esta concentración, sin embargo, es mayor que la detectada en aguas residuales, del orden de 2,6 a 5,7 µg/L [28]. El motivo detrás de seleccionar esta concentración para el estudio viene dado por las limitaciones analíticas para medir este compuesto. Además, para evitar añadir a los experimentos altas cantidades de metanol, parte de la disolución patrón se concentra a 5,5 g/L mediante evaporación del metanol a 50-60 °C.

3.2 Depuración de aguas mediante biorreactores: diseño experimental

Para el estudio de la efectividad de las microalgas en la eliminación de nutrientes y de compuestos farmacéuticos, en concreto el ibuprofeno, se establecieron 4 reactores parecidos entre sí pero con características y objetivos diferentes:

- **Reactor TODO:** este reactor se ha denominado así pues es el caso ideal, en el que todas las características son las adecuadas para la eliminación de los contaminantes. En un matraz se vierten 250 mL de microalgas del reactor principal y es iluminado mediante la luz artificial usada anteriormente en el reactor principal.
- **Reactor OSCURO:** el nombre de este reactor proviene de su ausencia de luz. Es muy parecido al primer reactor pues también se inocula con 250 mL de microalgas del reactor principal en un matraz. Su principal diferencia se encuentra en el hecho de que ha sido completamente cubierto con papel de aluminio para evitar la incidencia de la luz sobre él. Al no tratarse de un cultivo puro, además de algas puede haber bacterias que no necesiten luz.

El objetivo es ver si con este experimento se puede separar la acción de las algas y bacterias en la eliminación de contaminantes.

- **Reactor MUERTAS:** este reactor contiene también 250 mL de microalgas del reactor principal pero con el matiz de que éstas han sido introducidas en autoclave durante 15 minutos a una temperatura de 121 °C y una presión de 1,2 bar. Esto significaría que, en principio, las algas actuarían como si estuvieran muertas. Con el objetivo de que, en el caso de haber muerto algún alga, ésta no vuelva a crecer al faltarle la luz, el reactor no dispone de luz artificial.
- **Reactor ABIÓTICO:** la característica principal de este último reactor es la ausencia de microalgas como tal. En su lugar, se introducen 250 mL de agua destilada. Dispone de luz artificial. De esta manera, se podrá comparar la efectividad en la eliminación de los contaminantes de los otros reactores frente a este otro que en principio sólo los podría eliminar por medio de reacciones abióticas entre los reactivos, volatilización o reacciones fotoquímicas inducidas por la luz.

Además, se crea otro reactor denominado PEQUEÑO que actuará como blanco en la medición del ibuprofeno. Éste será igual al reactor TODO, pero tendrá un menor volumen y la principal diferencia se encontrará en el hecho de que no se le añadirá ibuprofeno como contaminante.

Se añaden nutrientes e ibuprofeno (IBP) así como agua hasta llegar a los 500 mL en cada reactor, salvo en el pequeño. El objetivo es que las concentraciones finales de contaminantes sean comparables con las que se pueden encontrar en una EDAR. De forma resumida (Tabla 3-4), cada reactor está formado por:

	TODO	OSCURO	MUERTAS	ABIÓTICO	PEQUEÑO
Algas (mL)	250	250	250	-	50
Microcontaminantes (mL)	1,2	1,2	1,2	2,5	0,25
Macrocontaminantes (mL)	5	5	5	10	1
Fuente de carbono (mL)	20	20	20	20	4
Ibuprofeno (mL)	1,8	1,8	1,8	1,8	-
Agua destilada (mL)	222	222	222	465,7	44,75
Total (mL)	500	500	500	500	100
Luz Artificial	Sí	No	No	Sí	Sí

Tabla 3-4 Composición reactores

Estos reactores se dejan a temperatura ambiente (23-25 °C) agitados a 100 rpm de manera ininterrumpida en un *shaker* de la marca Cienytech como se puede ver en la Figura 3-8. En cuanto a la luz artificial, ésta mantiene su temporizador permitiendo su funcionamiento únicamente en la franja horaria de 07:00 a 21:00.

El experimento se desarrolla a lo largo de 9 días. Durante ese tiempo, se extraen muestras diarias de cada uno de los reactores para medir los parámetros. El primer y último día se miden todos ellos. En cuanto al resto de días, se miden el pH, turbidez e ibuprofeno diariamente y, para los días entre medias, se opta por medir los días pares los sólidos en suspensión y las clorofilas (25 mL) y, los días impares, el N, P y DQO (10 mL).



Figura 3-8 Reactores en funcionamiento

Durante el experimento, y tras apreciar una falta de alimento en los reactores, el cuarto día se añaden macronutrientes a los reactores en cantidades de 7 mL para TODO, 7 mL para OSCURO, 7 mL para MUERTAS, 3,5 mL para ABIÓTICO y 1,5 mL para PEQUEÑO. Este volumen se determinó en función de las concentraciones de nitrógeno total y fosfatos medidas el día anterior (cuarto).

3.3 Técnicas analíticas

Para realizar un seguimiento exhaustivo de la operación de los biorreactores se han medido una gran cantidad de parámetros, cada uno con su distinto procedimiento. A continuación se explicarán los parámetros medidos y la manera en la que se han realizado dichas mediciones.

3.3.1 Medición de la turbidez

Se define la turbidez como la medida del grado en el que, debido a la presencia de partículas en suspensión, el agua pierde su transparencia. Cuantos más sólidos en suspensión haya en el agua, mayor será su valor y más sucia parecerá ésta. Dado que uno de los parámetros que influye en su valor es la presencia de algas, aporta información muy útil a la hora de estudiar la evolución del cultivo.

Para su medición en cada una de las disoluciones se ha utilizado un turbidímetro portátil XS TN3024 (Figura 3-9), diseñado para medir las partículas suspendidas en un líquido. Las unidades empleadas para este parámetro son las de Unidad Nefelométrica de Turbidez o NTU. El dispositivo en cuestión ofrece una exactitud en valores desde los 0,01 NTU a valores altos de hasta 1,000 NTU.

Su modo de funcionamiento es el siguiente:

- 1) Encender el aparato con el botón 'POWER'.
- 2) Llenar el vial hasta la marca de los 10 mL y agitar para homogeneizar la muestra.
- 3) Insertar el vial hasta el fondo del contenedor como se aprecia en la Figura 3-9.
- 4) Cerrar la tapa.
- 5) Presionar el botón 'TEST' y esperar 10 segundos.

Tras estos pasos, se obtendrá el valor de turbidez en unidades NTU.



Figura 3-9 Turbidímetro Portátil XS TN3024 [89]

3.3.2 Medición de sólidos en suspensión

La medición de la cantidad de materia sólida en suspensión (SS) incorporada al agua se puede realizar mediante la determinación del contenido en sólidos. Sometida la muestra a calcinación, es posible conocer el contenido en sólidos volátiles constituidos principalmente por materia orgánica y en sólidos no volátiles, que se corresponden principalmente con la materia inorgánica.

Con los datos de este parámetro, se podrá valorar la evolución del crecimiento de las algas. Concretamente, serán de gran interés los sólidos en suspensión volátiles, pues las algas en sí son materia orgánica, por lo que un mayor valor del parámetro supondrá una mayor cantidad de algas en el reactor.

Para este procedimiento, se seguirán los siguientes pasos:

- 1) Introducir un filtro en una mufla a 550 °C durante 30 minutos para eliminar totalmente su humedad y posibles impurezas orgánicas.
- 2) Sacar el filtro de la mufla, limpio, esperar a que su temperatura se estabilice en el desecador y pesarlo (P1) en una balanza analítica.
- 3) Filtrar un volumen de la muestra conocido a vacío, haciendo uso del montaje presentado en la Figura 3-10.
- 4) Extraer el filtro e introducirlo en una estufa a 105 °C durante 7-8 horas para secarlo.
- 5) Sacar el filtro de la estufa, sin humedad, y pesarlo (P2).
- 6) Introducir el filtro de nuevo en una mufla a 550 °C durante 30min.
- 7) Sacar el filtro de la mufla, quemado, y pesarlo (P3) una vez su temperatura se ha estabilizado en el desecador.

Es importante resaltar que durante todo el proceso, de deberá de minimizar el contacto de los filtros tanto con objetos, con las manos del operador e incluso con la propia atmósfera para evitar su humidificación. Para ello, se utilizará una pinza para manejar los filtros y cuando no se esté operando con ellos, así como para su transporte, se almacenarán en un desecador como el de la Figura 3-11.

Una vez obtenidos los 3 valores de peso, para hallar los valores buscados, se realizan los siguientes cálculos:

- Sólidos en suspensión totales (SST): $P2 - P1$.

- Sólidos en suspensión volátiles (SSV): P2-P3.
- Sólidos en suspensión inorgánicos (SSI): SST-SSV.

Por último, para hallar las concentraciones de cada uno de los sólidos, se tomarán estos valores y se dividirán entre el volumen de la muestra. El resultado se expresará en mg/L.



Figura 3-10 Montaje de filtración al vacío



Figura 3-11 Desecador

3.3.3 Medición de las clorofilas

Las clorofilas se definen como cualquier parte de todos los pigmentos relacionados con la fotosíntesis, proceso mediante el cual la energía luminosa se convierte en energía química a través de la síntesis de compuestos orgánicos. Se encuentra presente en prácticamente todos los organismos fotosintéticos, entre los que se incluyen las algas. Absorbe la energía de la luz y la utiliza para convertir el dióxido de carbono en hidratos de carbono [90].

La clorofila puede presentarse de formas variadas. Las clorofilas tipo *a* y tipo *b* son las principales y se encuentran en las plantas superiores y en las algas verdes. Las clorofilas *c* y *d* se encuentran, a menudo junto con la *a*, en diferentes algas. Por último, la clorofila *e* es un tipo raro que se encuentra en algunas algas doradas. En las plantas verdes, la clorofila se encuentra en unidades membranosas en forma de disco (tilacoides) en orgánulos llamados cloroplastos [91]. Para este estudio se medirán, por ser las principales, las clorofilas *a* y *b*, con el objetivo de realizar un seguimiento de la evolución de los pigmentos responsables de la fotosíntesis de las algas.

Para realizar la medición de este parámetro es necesaria una relación de 3,6 mL de metanol por cada 1 mL de muestra a analizar. Para facilitar el proceso, se decide finalmente hacer las medidas manteniendo la relación con 18 mL y 5 mL de muestra. Estas cantidades son vertidas en un matraz que se ha de dejar a 64 °C durante 50 minutos como se ve en la Figura 3-12.



Figura 3-12 Matraces para la clorofila en la estufa

Una vez finalizado este tiempo, se introducen en pequeños tubos de 1,5 mL para centrifugarlos y reducir la cantidad de sólidos que pueden entorpecer la medición (Figura 3-13). Se rellenarán dos tubos de 1,5 mL por cada matraz, cantidad mínima necesaria para medir en el espectrómetro.

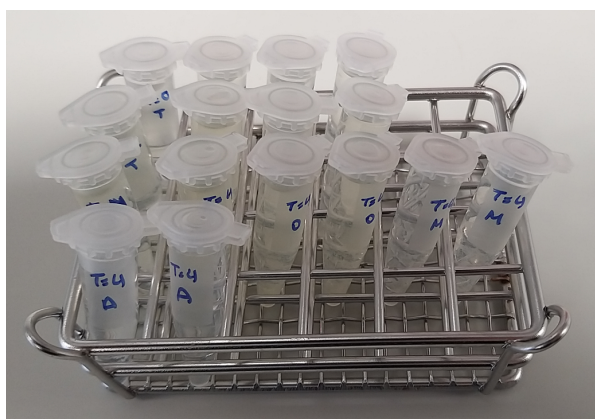


Figura 3-13 Tubos preparados para ser centrifugados

Estos tubos se introducen en un centrifugador (Figura 3-14) a 2000 rpm durante 3 minutos. Se introducirán 4 tubos cada vez que se centrifugue.



Figura 3-14 Centrifugador

Por último, una vez centrifugados, se miden en un espectrómetro (Figura 3-24), tomando como referencia el blanco realizado con 18 mL de metanol y 5 mL de agua destilada. Las longitudes de onda en las que se mide son las 652,4 nm y 665,2 nm. Una vez obtenidos estos datos, se realizan los siguientes cálculos para obtener las concentraciones de clorofilas *a* (Ecuación 10) y *b* (Ecuación 11) en µg/mL [91]:

Para la clorofila *a*:

$$C_a = 16,72 \cdot A_{665,2} - 9,16 \cdot A_{652,4}$$

Ecuación 10 Clorofila *a*

Para la clorofila *b*:

$$C_b = 34,09 \cdot A_{652,4} - 15,28 \cdot A_{665,2}$$

Ecuación 11 Clorofila *b*

3.3.4 Medición del pH

El pH es una medida cuantitativa de la acidez o basicidad de disoluciones acuosas u otros líquidos. Es la transformación de la medida de concentración del ión hidrógeno, cuyo valor se encontrará normalmente entre los 1 y los 10^{-14} moles/L, a valores entre 0 y 14. De esta manera una disolución con un pH inferior a 7 se considerará como ácida, mientras que una con un pH superior a 7 se considerará como básica o alcalina [92].

Para su medición se ha hecho uso del pHmetro EdgePH de HANNA Instruments (Figura 3-15) con una resolución de 0,01 y una precisión de $\pm 0,01$. El pHmetro se calibró previamente con disoluciones estándar (pH $4,00 \pm 0,02$ a 20 °C, pH $7,00 \pm 0,02$ a 20 °C y pH $10,00 \pm 0,05$ a 20 °C). Su modo de funcionamiento es el siguiente:

- 1) Encender el dispositivo.
- 2) Comprobar que la calibración es adecuada midiendo un patrón.
- 3) Retirar el protector al electrodo combinado de pH.
- 4) Agitar la disolución a medir con una barra agitadora e introducir el electrodo combinado agitando mecánicamente durante la medida.

5) Esperar hasta que el valor se estabilice.



Figura 3-15 pHmetro EdgePH (HANNA) [93]

3.3.5 Medición del ibuprofeno

La medición de este parámetro, a la par que la del N y el P, supone el motivo de ser de este estudio, Por ello, la precisión de sus valores es esencial. Para obtener su valor en cada caso, se tuvo en cuenta la Ley de Beer-Lambert, también conocida simplemente como Ley de Beer o incluso Ley de Beer-Lambert-Bouguer. De manera resumida, la ley de Beer-Lambert establece la existencia de una relación de tipo lineal y a continuación exponencial entre la transmisión de la luz a través de una sustancia y la concentración de ésta. De esta manera, a partir de la cantidad de luz transmitida, se puede deducir la concentración de una sustancia.

Para obtener los resultados de manera más sencilla, se realiza una recta de regresión. Para conseguirla, se preparan distintas concentraciones de ibuprofeno (a partir del patrón 1 g/L previamente preparado en el apartado 3.1.3), y se miden en el espectrómetro a 220 nm (máximo para disoluciones acuosas) y 264 nm (máximo para disoluciones en metanol [94]), respectivamente.

Se obtienen los resultados presentados en la Tabla 3-5.

IBP (mg/L)	Absorbancia (220 nm)	Absorbancia (264 nm)
0	0	0
1	0,043	0
2,5	0,128	0
5	0,25	0
10	0,41	0
25	1,019	0,029
50	1,774	0,091
60	1,876	0,109
100	2,089	0,168
200	2,189	0,324
500	2,343	0,749
1000	2,475	1,261

Tabla 3-5 Valores recta regresión IBP

Representado gráficamente, se obtiene a 220 nm la Figura 3-16.

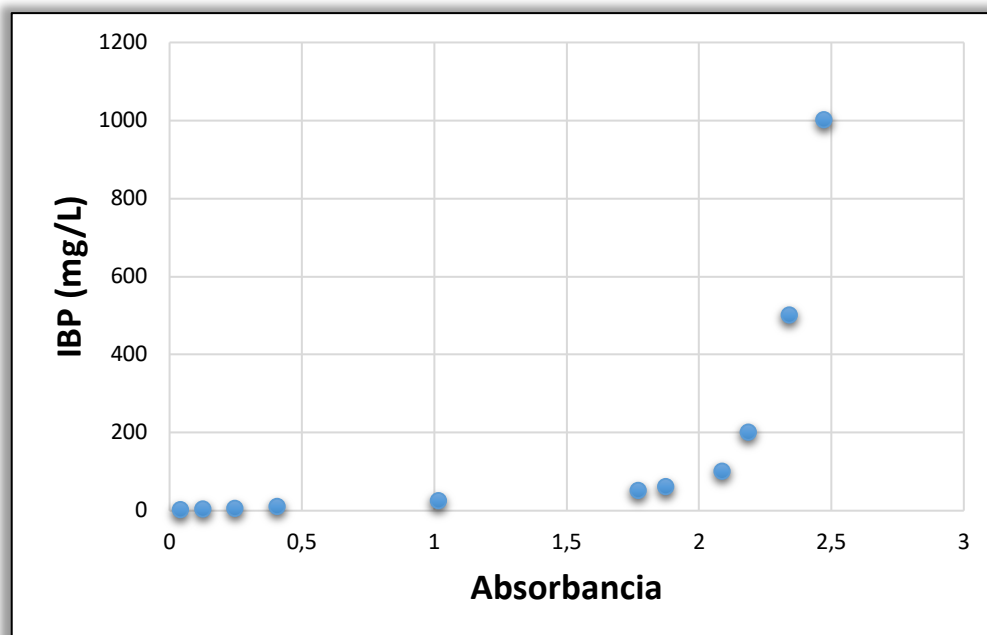


Figura 3-16 Recta IBP a 220 nm (0-1000 mg/L)

Por otro lado, a 264 nm se obtiene la Figura 3-17.

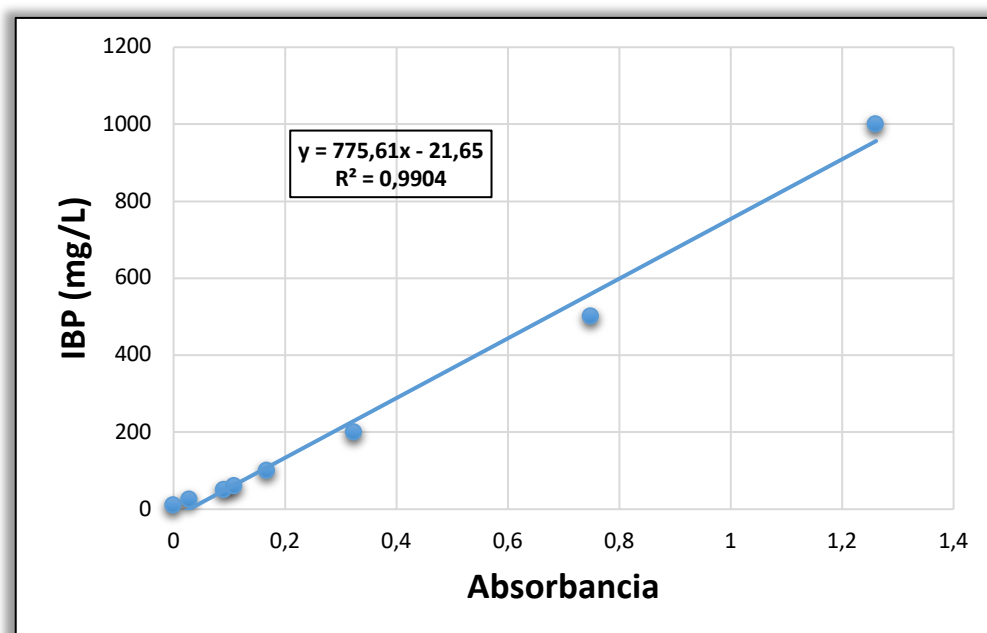


Figura 3-17 Recta IBP a 264 nm (0-1000 mg/L)

Ante estos resultados, se presentan varios problemas. Por un lado, para la recta a 220 nm se puede ver como el crecimiento comienza a ser exponencial a partir de una concentración de 60 mg/L. Por otro lado, para la recta a 264 nm, todos los valores de concentraciones de 0 a 10 no presentan absorbancia alguna. En vista de estos resultados, y teniendo en cuenta que en los experimentos se usarán concentraciones bajas y la disolución será acuosa, se decide emplear la recta a 220 nm con la particularidad de hacer uso únicamente del intervalo de concentraciones entre 0 y 50 mg/L (zona de cumplimiento de la ley de Lambert-Beer). De esta manera, se obtiene la Figura 3-21.

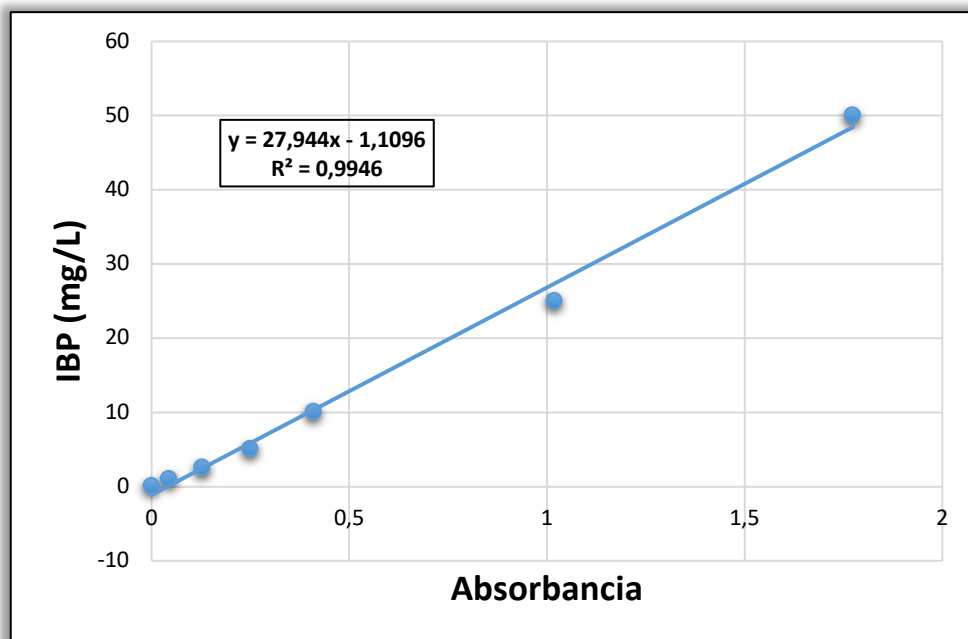


Figura 3-18 Recta IBP a 220 nm (0-50mg/L)

Con el dato de la ecuación obtenida a partir de la recta de regresión, el cálculo de la concentración de ibuprofeno se simplifica. Se tomará una muestra y, tras filtrarla, se introducirá en el espectrómetro y se medirá su absorbancia a 220 nm. Para el blanco se tomará una muestra del reactor PEQUEÑO (que no contiene ibuprofeno). El valor obtenido se introducirá en la ecuación y se tendrá así la concentración de ibuprofeno en la muestra medida.

Es de gran relevancia realizar el blanco con una muestra del reactor PEQUEÑO y no con agua destilada, ya que hay otros compuestos que interfieren en la medida a 220 nm, lo que imposibilita que ésta sea usada como referencia de muestra sin ibuprofeno. A continuación, en la Figura 3-19 se presenta una muestra filtrada del reactor PEQUEÑO (sin ibuprofeno) con agua destilada como blanco medida en el espectrómetro. En ella se puede observar cómo no existen picos, pero sí una curva inicial con altas absorbancias.

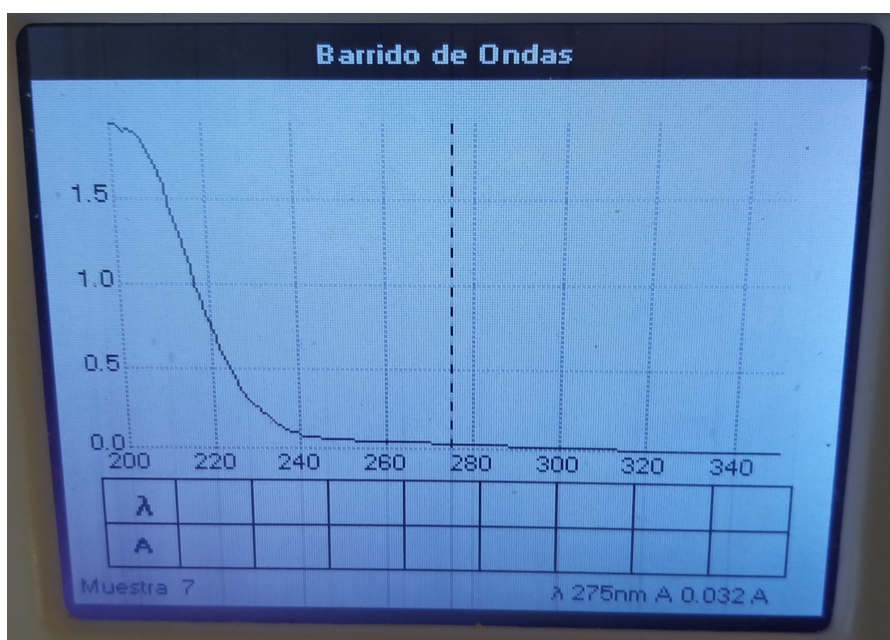


Figura 3-19 Espectro de absorción: muestra del reactor PEQUEÑO (sin IBP)

Se repite el procedimiento pero esta vez con una muestra filtrada de ibuprofeno disuelto en el medio de cultivo de algas con una concentración de 25 mg/L (Figura 3-20). Se utiliza otra vez como blanco agua destilada y se mide en el espectrómetro.

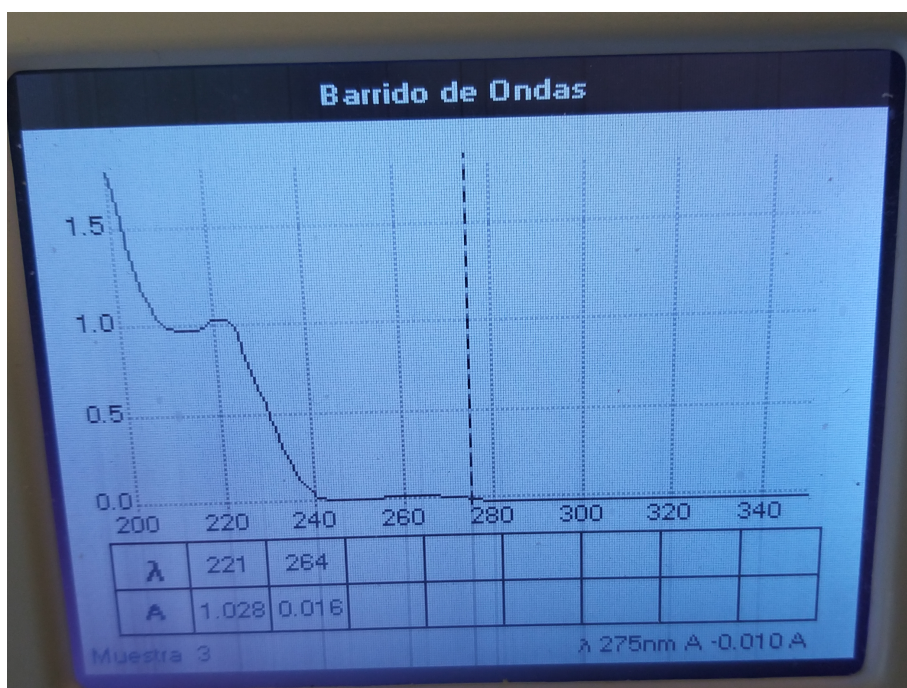


Figura 3-20 Espectro de absorción: muestra cultivo concentración 25 mg/L de IBP

Se puede apreciar cómo esta vez aparece un pico en torno a la longitud de onda de 220 nm, pero distorsionado por la curva base que origina el medio de cultivo. Por último, se repite el proceso de medida con una muestra filtrada de cultivo de algas contaminada con 20 mg/L de IBP (concentración que se empleará en los reactores) usando como blanco la muestra filtrada del reactor PEQUEÑO (Figura 3-21).

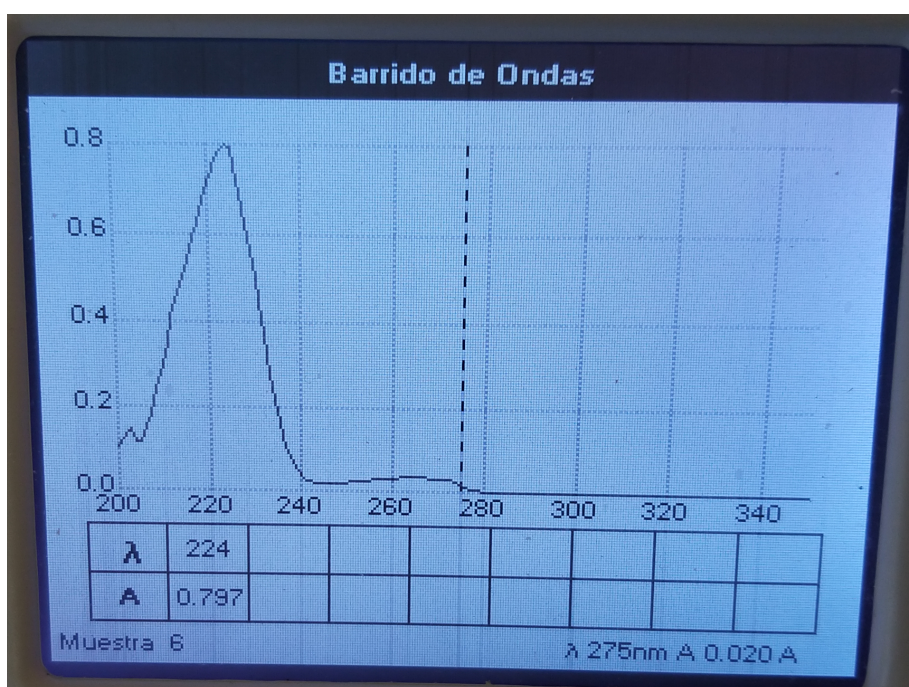


Figura 3-21 Espectro de absorción: muestra cultivo concentración 20 mg/L de IBP

Como se puede observar, el pico se identifica de manera inequívoca y con una absorbancia adecuada respecto a la recta de calibrado para una concentración inicial de 20 mg/L. Por lo tanto, esta será la concentración de IBP de partida y el método empleado para su medida.

3.3.6 Medición del nitrógeno

Debido a la naturaleza de este proyecto, el control en la evolución de este parámetro es vital. Se ha hecho uso de los reactivos HI93767B-50 (Figura 3-22) de alta precisión de nitrógeno total de HANNA Instruments.

Los HI93767B-50 son reactivos para la determinación colorimétrica de alto rango del nitrógeno total. Existen suficientes como para hacer hasta 50 pruebas a utilizar con un fotómetro compatible. Se trata de reactivos de alta calidad e identificados de manera clara con número de lote y fecha de caducidad en cada paquete. Además, han sido medidos previamente, lo que permite a los usuarios lograr mediciones colorimétricas rápidas y precisas.

El método es una adaptación del método del ácido cromotrópico en el que se requiere una absorción para convertir todas las formas de nitrógeno en nitrato. Se añade metabisulfito de sodio para eliminar posibles interferencias. La reacción entre el nitrato y los reactivos provoca un tinte amarillo en la muestra. La intensidad del color se determina mediante un fotómetro compatible y la concentración se expresará en mg/L (ppm) de nitrógeno total. Estos reactivos están diseñados para ser utilizados con muestras que tienen un rango esperado de 10 a 150 mg/L (ppm) de nitrógeno.



Figura 3-22 Kit medición de nitrógeno HI93767B-50 (HANNA)

La muestra utilizada deberá de haber sido previamente filtrada. El proceso está incluido en el Anexo I: Medición del N. Para poder transformar las medidas de absorbancia en concentraciones de nitrógeno total, se realizó una recta de calibrado, con su correspondiente recta de regresión, para realizar los cálculos de manera más sencilla. Para ello, se tomaron 7 muestras con diferentes concentraciones de N cada una (Figura 3-23) y se midieron en un espectrómetro (Figura 3-24), el Lambda XLS+ (PerkinElmer), tomando como blanco una muestra de agua destilada a 420 nm.



Figura 3-23 Muestras preparadas para recta de regresión de N



Figura 3-24 Espectrómetro XLS+ (PerkinElmer) con muestra preparada

Una vez medida cada muestra en el espectrómetro, se obtuvo la Tabla 3-6.

N (mg/L)	Absorbancia
0	0,073
10	0,086
30	0,104
50	0,134
70	0,168
100	0,197
150	0,267

Tabla 3-6 Valores recta de regresión del N

Con estos valores se representó en Microsoft Excel la recta para obtener así la ecuación necesaria para futuras mediciones (Figura 3-25). De esta manera, para conocer el N presente en una disolución, tan sólo será necesario realizar el procedimiento descrito en el Anexo I: Medición del N, medir en el espectrómetro, y con la ecuación obtenida en la Figura 3-25, hallar la concentración de N.

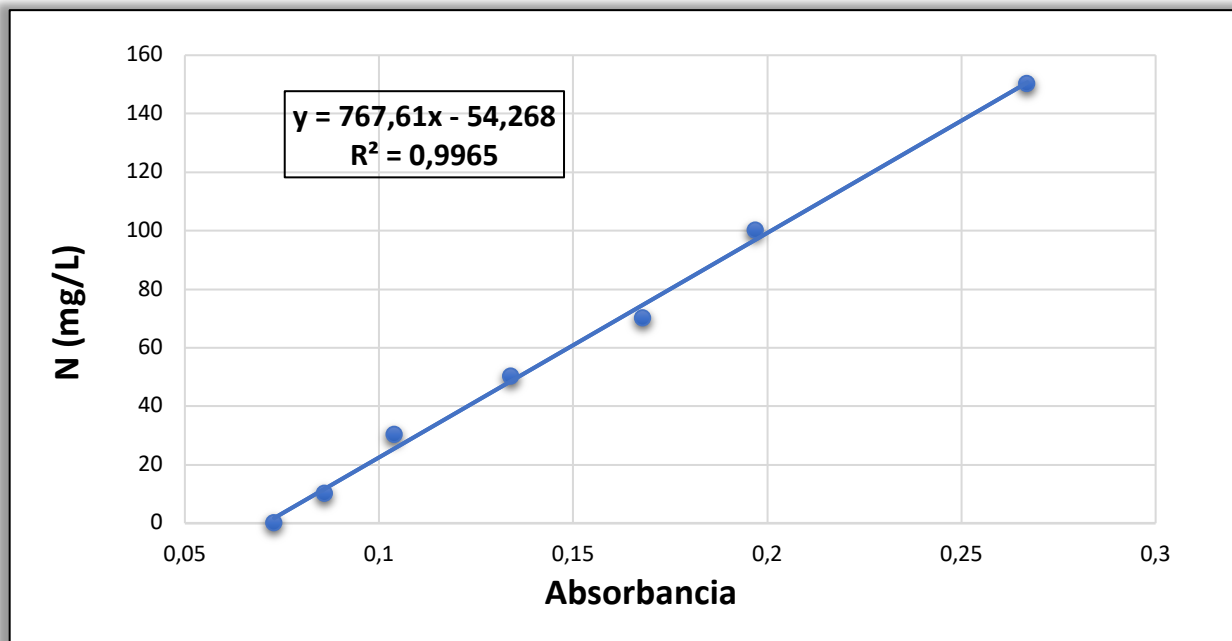


Figura 3-25 Recta de calibrado del nitrógeno total

3.3.7 Medición del fósforo

La medición de fosfatos, al igual que la del N, es esencial para el desarrollo de este proyecto. Para su determinación, se hace uso de la reacción del ión fosfato con el molibdato amónico, produciéndose así ácido fosfomolibdico. A continuación, y por la acción del cloruro de estaño, es reducido a azul de molibdeno (Mo^{+3}). Como se puede intuir por el nombre, poseerá una coloración azul intensa directamente proporcional a la concentración de ión fosfato presente en el agua. Por último, se mide la luz absorbida por la disolución mediante un espectrofotómetro a 690 nm tomando como referencia un blanco de agua destilada de concentración 0 (también con los reactivos).

Para facilitar futuras medidas, se realiza una recta de calibrado. Para ello, se toman 7 tubos con 15 mL de agua destilada. Una vez hecho esto, se introducirán distintas cantidades de disolución de ión fosfato con una concentración de 50 mg/L. Estas cantidades serán: 0 (para el blanco), 0,2, 0,4, 0,6, 0,8, 1 y 1,2 mL. Las concentraciones de ión fosfato de cada muestra se hallan mediante la Ecuación 12.

$$[\text{PO}_4^{3-}] = \frac{V \cdot 50}{15 + V} (\text{mg/L})$$

Ecuación 12 Concentración de ión fosfato

A continuación, se añade 1 mL de reactivo A en cada tubo, se agita, y luego se añaden 6 gotas de reactivo B a cada tubo, volviendo a agitar. Para finalizar, tras 10 minutos, se miden en el espectrómetro (Figura 3-24) obteniendo los resultados presentados en la Tabla 3-7.

Concentración (mg/L)	Absorbancia
1,299	0,157
1,923	0,268
2,532	0,371
3,125	0,502
3,704	0,594

Tabla 3-7 Valores de la recta de regresión de PO_4^{3-}

Introduciendo estos valores en Microsoft Excel para hallar la recta de regresión y su ecuación, se obtuvo la gráfica de la Figura 3-26. Gracias a esta recta de regresión, el cálculo del ión fosfato será tan sencillo como coger una muestra filtrada previamente, diluirla para que su valor esté dentro de la recta de calibrado, añadir los reactivos A y B en las proporciones indicadas, medirla en el espectrómetro a una longitud de onda de 690 nm y, con la ecuación de la recta de regresión, obtener la concentración de ión fosfato.

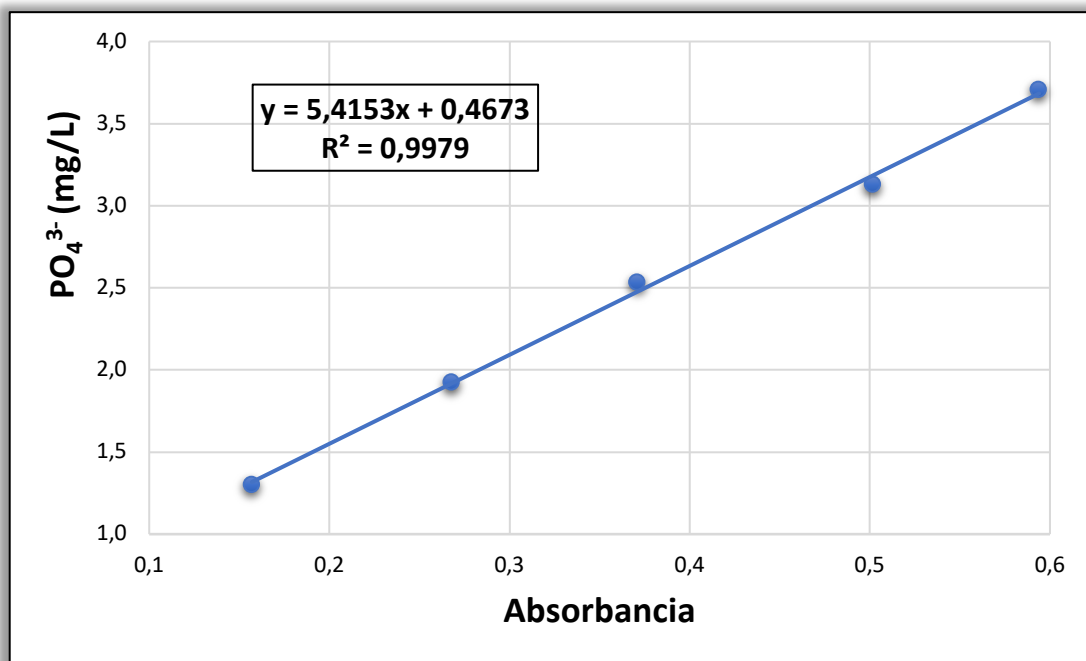
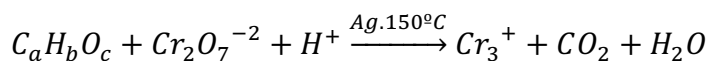


Figura 3-26 Recta de calibrado del PO₄³⁻

3.3.8 Medición de la demanda química de oxígeno

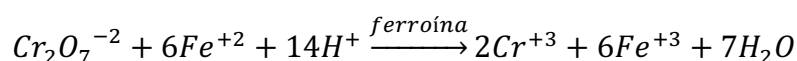
La Demanda Química de Oxígeno, también conocida como DQO, es un parámetro utilizado para medir la cantidad de sustancias, disueltas o en suspensión, en una muestra líquida susceptibles de ser oxidadas mediante medios químicos. Es una manera de medir la contaminación y está orientada principalmente hacia la medida de la concentración de materia orgánica.

Para conseguirlo, se añade a la muestra que se quiere medir dicromato potásico (K₂Cr₂O₇) como oxidante en medio ácido y se deja reaccionar a altas temperaturas haciendo uso de sulfato de plata como catalizador (Ecuación 13). En este proceso se observará la transformación de la muestra de un color naranja, aportado por el dicromato potásico, hacia un color verdoso.



Ecuación 13 Ensayo DQO (Dicromato)

A continuación, se añade ferroína a la muestra como indicador para observar el cambio de color correspondiente. Por último, se determina el exceso de dicromato por valoración con una disolución normalizada de sal de Mohr (sulfato ferroso amónico o FAS, Ecuación 14). La diferencia entre el dicromato añadido inicialmente y el sobrante es el consumido para oxidar la materia orgánica. A partir de ese valor, se obtiene la cantidad de oxígeno equivalente para realizar dicha oxidación.



Ecuación 14 Ensayo DQO (FAS)

Los pasos en la evaluación de la DQO, de manera resumida, son los siguientes:

- 1) Se toman dos tubos de ensayo, uno con 2,5 mL de agua destilada que será el blanco, y el otro se rellenará con la muestra diluida, de modo que esté por debajo del límite de medida del método (900 mg O₂/L).
- 2) Se añaden 1,5 mL de dicromato potásico y 3,5 mL de sulfato de plata a cada tubo y se homogeniza el contenido.
- 3) Se introducen en una placa calefactora de tubos a 150°C durante 2 horas.
- 4) Tras dejarlo enfriar, se vierte el contenido en un matraz y se le añaden 2 gotas de ferroína.
- 5) A la vez que se agita, ir vertiendo FAS hasta apreciar que el color de la muestra se torna rojo (Figura 3-27).
- 6) Hallar la cantidad utilizada de FAS.
- 7) Obtener mediante la Ecuación 15 la DQO.

$$DQO \left(\frac{mg \text{ O}_2}{L} \right) = \frac{(B - A) \cdot N_{FAS} \cdot 8 \cdot 1000}{V_{muestra}} \cdot FD$$

Ecuación 15 Fórmula obtención DQO

En donde:

- B: cantidad en mL de FAS consumido por el blanco
- A: cantidad en mL de FAS consumido por la muestra a medir
- V_{muestra}: volumen muestra (2,5 mL)
- N_{FAS}: normalidad de la disolución de FAS (0,035 N)
- FD: factor de dilución aplicado a la muestra

A continuación se muestra en la Figura 3-27 el montaje utilizado para la medición de la DQO.



Figura 3-27 Montaje para la medición de la DQO

3.3.9 Medición de bacterias

El método de medición de bacterias es sencillo. Para ello, primero se crea una disolución de 250 mL de agua destilada con 10 g de Trypticase Soy Agar o TSA de la marca Labkem [95] en un matraz. Una vez hecha, se agita durante unos 10 minutos para facilitar la mezcla y se introduce en el autoclave (Figura 3-28). Éste funciona introduciendo vapor en el interior hasta alcanzar la temperatura y presión de esterilización. Esta presión y temperatura se mantiene constante durante el tiempo correspondiente de esterilización. Para este caso, se introducirá durante 15 minutos a una temperatura de 121 °C y 1,2 bar.



Figura 3-28 Autoclave

Una vez finalizado el tiempo, despresurizado el contenedor y disminuido la temperatura, se saca el matraz y se vierte aproximadamente medio centímetro en 20 placas de Petri (Figura 3-29). Se deja solidificar y una vez solidificado, se almacena en la nevera hasta su uso.

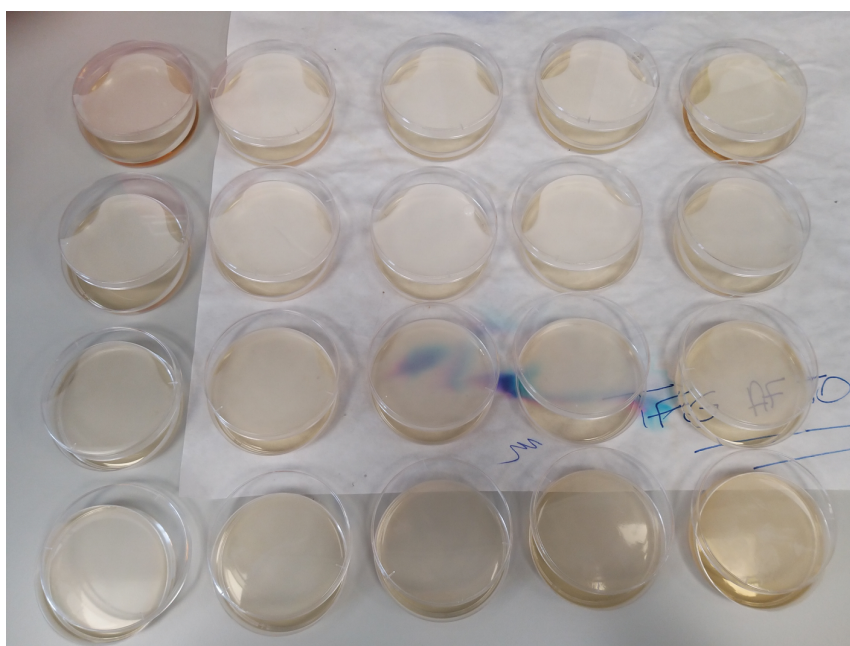


Figura 3-29 Placas de Petri en proceso de solidificación

La concentración de bacterias en un medio se expresa en términos de Unidades Formadoras de Colonias o UFC por unidad de volumen (habitualmente UFC/mL). Su valor vendrá determinado por el número de colonias de bacterias formadas tras verter 1 mL de muestra sobre la placa de Petri y esperar durante 24 horas a una temperatura de 37 °C.

3.3.10 Medición de la fitotoxicidad

Se define la fitotoxicidad como el grado de efecto tóxico que puede llegar a provocar un compuesto sobre el crecimiento de las plantas. En este caso, para medir el efecto fitotóxico, se eligen las semillas de césped Universal Multiusos BATTLE, una mezcla de especies cespitosas (Figura 3-30).



Figura 3-30 Semillas de Césped Universal Multiusos BATTLE [96]

Para determinar este parámetro, se utilizó una versión modificada del test de Zucconi [97]. El procedimiento consiste en colocar 10 semillas de césped sobre papel de filtro en una placa de Petri y añadirle 3 mL de muestra. Para ayudar a la preservación de humedad, además del papel de filtro, se sella el alrededor con papel Parafilm (Figura 3-31). A continuación, se deja a temperatura ambiente (23-25 °C) durante 7 días. Transcurrido ese tiempo, se determina el número de semillas germinadas y la longitud de las raíces.



Figura 3-31 Ejemplo de placa de Petri empleada para la fitotoxicidad

Esta medida se realizó sobre el reactor TODO y PEQUEÑO (sin ibuprofeno) a tiempo cero, con el fin de evaluar la posible fitotoxicidad por la presencia o no de ibuprofeno. Al finalizar el período experimental, se volvió a realizar la medida con muestra del reactor TODO para evaluar si la fitotoxicidad había decrecido.

El índice de germinación se calculará a partir de la Ecuación 16.

$$IG = \%G \cdot \frac{L_m}{L_c}$$

Ecuación 16 Índice de germinación

En donde:

- ✓ %G: Porcentaje de semillas germinadas en la muestra (reactor TODO) con respecto al control (reactor PEQUEÑO)
- ✓ L_m : longitud media de las raíces germinadas en la muestra (reactor TODO)
- ✓ L_c : longitud media de las raíces de las semillas germinadas en el control (reactor PEQUEÑO)

En base a la Ecuación 16, se evaluará el resultado según [98]:

- ✓ $IG < 50 \%$ Alta fitotoxicidad
- ✓ $50 \% > IG > 80 \%$ Fitotoxicidad moderada
- ✓ $GI > 80 \%$ No hay fitotoxicidad
- ✓ $GI > 100 \%$ El material es fitonutriente o fitoestimulante

4 RESULTADOS

4.1 Cultivo de microalgas en el reactor principal

El estudio del RP (reactor principal) durante los 16 días de cultivo hasta la creación de los 4 reactores objeto de estudio, ha sido esencial para determinar la idoneidad del cultivo de algas. A lo largo de ese período se extrajeron 10 muestras (M1-M10), a las que se le midieron 3 parámetros: pH, turbidez y sólidos en suspensión. Se tomará como punto inicial el día 01/02/2022 a las 13:00, hora de creación del RP.

4.1.1 Evolución del pH

Las medidas de este parámetro se indican en la Tabla 4-1, junto con la fecha y hora concretas en que se analizaron las muestras. La evolución temporal del pH se puede observar en la representación gráfica de la Figura 4-1.

Muestra	Fecha	Hora	pH
M1	2/02/2022	17:00:00	6,55
M2	3/02/2022	17:00:00	6,64
M3	4/02/2022	17:00:00	6,58
M4	5/02/2022	17:00:00	6,67
M5	7/02/2022	14:00:00	6,77
M6	8/02/2022	14:00:00	6,91
M7	9/02/2022	19:00:00	7,73
M8	11/02/2022	18:30:00	8,61
M9	14/02/2022	13:00:00	8,59
M10	17/02/2022	10:00:00	8,38

Tabla 4-1 Valores del pH (RP)

Como se puede ver en la Figura 4-1, y dado que las aguas gallegas son ligeramente ácidas y suelen tener un pH en torno a 6,6-6,7 [99], el pH se mantiene constante hasta el día 7. A partir de ese día comienza a aumentar hasta el día 10, momento en el que comienza a estabilizarse en torno a 8,5. Estas

subidas se deben a las cantidades de Fitoplancton Vivo, macronutrientes, micronutrientes y fuente de carbono que se añadieron los días 7 y 9 como aparece explicado en el punto Operación del reactor principal 3.1.2. Al añadir estos compuestos el cultivo de microalgas se activa y consecuentemente, incrementa el pH.

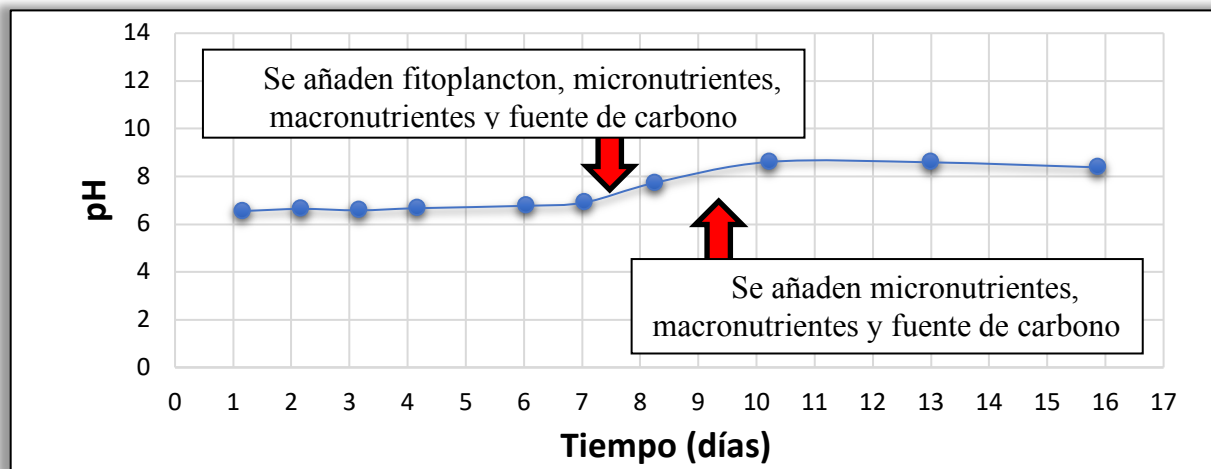


Figura 4-1 Evolución gráfica del pH (RP)

El pH se ve influenciado por la cantidad de CO_2 disuelto en el cultivo, cuanto mayor sea la concentración de CO_2 disuelta menor será el pH. Dado que las algas utilizan esta fuente de carbono para realizar la fotosíntesis, el CO_2 estará menos presente en un cultivo con microalgas y el pH aumentará respecto al inicial. De esta manera, el descenso de pH supone una disminución en la actividad fotosintética. Por el contrario, un aumento de este parámetro muestra un crecimiento en las microalgas, tal y como ocurre en el RP el día 7. El hecho de que el pH se mantenga en valores ligeramente básicos (en torno a 8,5) indica que el cultivo está sano [100].

4.1.2 Evolución de la turbidez

Las medidas de este parámetro se indican en la Tabla 4-2, junto con la fecha y hora concretas en que se analizaron las muestras. La evolución temporal de la turbidez se puede observar en la representación gráfica de la Figura 4-2.

Muestra	Fecha	Hora	Turbidez
M1	2/02/2022	17:00:00	8,35
M2	3/02/2022	17:00:00	12,73
M3	4/02/2022	17:00:00	12,77
M4	5/02/2022	17:00:00	14,52
M5	7/02/2022	14:00:00	15,58
M6	8/02/2022	14:00:00	14,42
M7	9/02/2022	19:00:00	80,00
M8	11/02/2022	18:30:00	301,00
M9	14/02/2022	13:00:00	362,00
M10	17/02/2022	10:00:00	420,00

Tabla 4-2 Valores de la turbidez (RP)

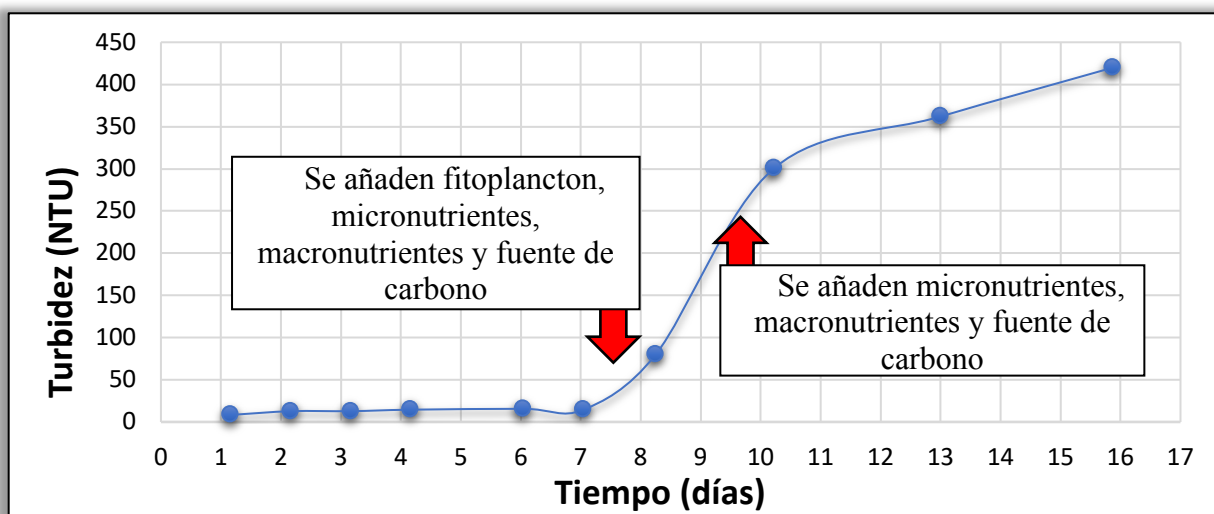


Figura 4-2 Evolución gráfica de la turbidez (RP)

A la vista de los datos representados en la Figura 4-2, se puede apreciar un gran incremento en el valor de NTU a lo largo del tiempo. Concretamente, como en el caso del pH, aumenta a partir del día 7. El principal motivo del aumento se debe a haber añadido 1000 mL de Fitoplancton Vivo, que aumentan drásticamente la turbidez del agua. Este aumento se mantiene los días posteriores, lo que confirma un crecimiento de las microalgas.

4.1.3 Evolución de los sólidos en suspensión

Para la medición de este parámetro, y acorde a lo explicado en el apartado 3.3.2, se pesa el filtro en tres ocasiones distintas. A partir de esos valores, se obtendrán la masa de SST y SSV, y finalmente, se calculará su concentración en la muestra. Es importante tener presente que dada la baja concentración de sólidos de las muestras M1-M6, los resultados están sujetos a un margen de error. Es por ello por lo que tal y como se recoge en el Anexo IV: Cálculos de sólidos en suspensión, se han tenido que descartar las medidas de SSV y SSI de la M5. Con los resultados de la masa de SS en el RP y, teniendo en cuenta el volumen filtrado en cada caso, se hallan los concentraciones de cada uno de ellos, como se puede ver en la Tabla 4-3.

Muestra	SST [mg/L]	SSV [mg/L]	SSI [mg/L]	SSV [%]
M1	55,56	11,11	44,44	20,00
M2	27,78	5,56	22,22	20,00
M3	33,33	33,33	0,00	100,00
M4	16,67	11,11	5,56	66,67
M5	16,67	-	-	-
M6	27,78	27,78	0,00	100,00
M7	100,00	50	50,00	50,00
M8	311,11	200,00	111,11	64,29
M9	350,00	277,78	72,22	79,37
M10	638,89	455,56	183,33	71,30

Tabla 4-3 Valores de las concentraciones de SS (RP)

Una vez obtenidos los datos de la Tabla 4-3, se representan gráficamente (Figura 4-3).

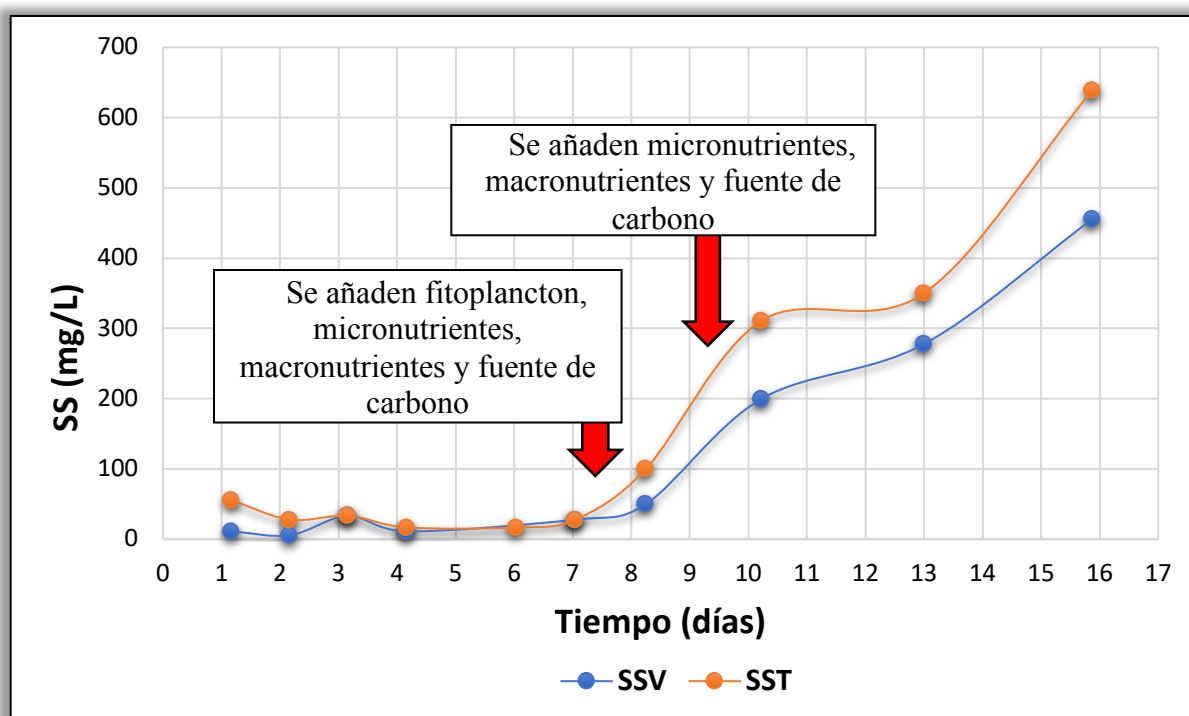


Figura 4-3 Evolución gráfica de los SST y SSV (RP)

Como se puede apreciar en la Figura 4-3, se genera, como en los dos casos anteriores de pH y turbidez, un notable aumento de los SSV a partir del día 7 debido a la adición de Fitoplancton Vivo y de nutrientes. Hasta ese momento, las medidas obtenidas son poco representativas, ya que presentan valores muy pequeños que pueden variar al mínimo error de medida.

Estos valores permiten confirmar el crecimiento de las algas. Éstas, al ser en sí materia orgánica, verán su crecimiento reflejado en el valor de SSV. Al aumentar este parámetro en el tiempo, se puede concluir que la cantidad de algas en el reactor incrementa, del orden de 50 mg/L cada día.

4.2 Depuración de aguas mediante biorreactores: fase experimental

Transcurridos los 16 días de cultivo en el RP, comienza la fase experimental (FE) de los biorreactores para evaluar su capacidad de depurar aguas residuales. Se extraen las algas del RP, que son empleadas para inocular los biorreactores. Cabe recordar que se han planteado 4 configuraciones de reactores (descritas en el apartado 3.2) que permitirán analizar los mecanismos de eliminación de contaminantes.

La duración del experimento transcurre a lo largo de un total de 9 días. Durante este tiempo, se miden diferentes parámetros para evaluar su evolución en cada uno de los reactores. A diferencia del RP, estos reactores presentan microcontaminantes (ibuprofeno), y mayor concentración de nutrientes y materia orgánica, por lo que su estudio será mucho más exhaustivo y se analizarán en profundidad más parámetros. Éstos serán: pH, turbidez, sólidos en suspensión, clorofilas, bacterias, DQO, ibuprofeno, nitrógeno, fósforo, y fitotoxicidad.

Se medirán el pH, turbidez e ibuprofeno diariamente, los SS y las clorofilas los días pares, el N, P y DQO los días impares y el primer y último día todos los parámetros, incluidos bacterias y fitotoxicidad.

Dada la complicación de obtener todos los resultados de estos parámetros a la misma hora cada día, se ha tenido que idear un sistema de progresión que tuviera en cuenta las horas a las que se tomó cada muestra. De esta manera, las diferencias horarias son tenidas en cuenta, en lugar de asumir que todas las muestras fueron analizadas a la misma hora todos los días. La primera medida, T=0, supondrá el inicio

de la línea temporal. El número de las siguientes medidas vendrá determinado por el número de la inmediatamente anterior más uno.

4.2.1 Evolución del pH

Las medidas de este parámetro se indican en la Tabla 4-4, junto con la fecha y hora concretas en que se analizaron las muestras. La evolución temporal del pH se puede observar en la representación gráfica de la Figura 4-4.

Tiempo	GFH	pH			
		R. TODO	R. OSCURO	R. MUERTAS	R. ABIÓTICO
T=0	17-2-22 20:20	8,03	8,01	8,15	7,42
T=1	18-2-22 8:45	7,83	7,73	8,29	8,13
T=2	19-2-22 15:30	7,3	7,4	7,86	8,4
T=3	20-2-22 17:00	6,94	6,84	7,65	8,02
T=4	21-2-22 13:00	6,88	6,89	6,78	8,37
T=5	22-2-22 9:00	6,74	7,2	6,69	8,18
T=6	23-2-22 18:00	7,9	8,12	8,07	8,41
T=7	24-2-22 9:00	8,04	8,39	8,27	8,38
T=8	25-2-22 18:15	8,92	8,37	8,41	8,26
T=9	26-2-22 18:15	8,58	8,46	8,44	8,34

Tabla 4-4 Valores de pH (FE)

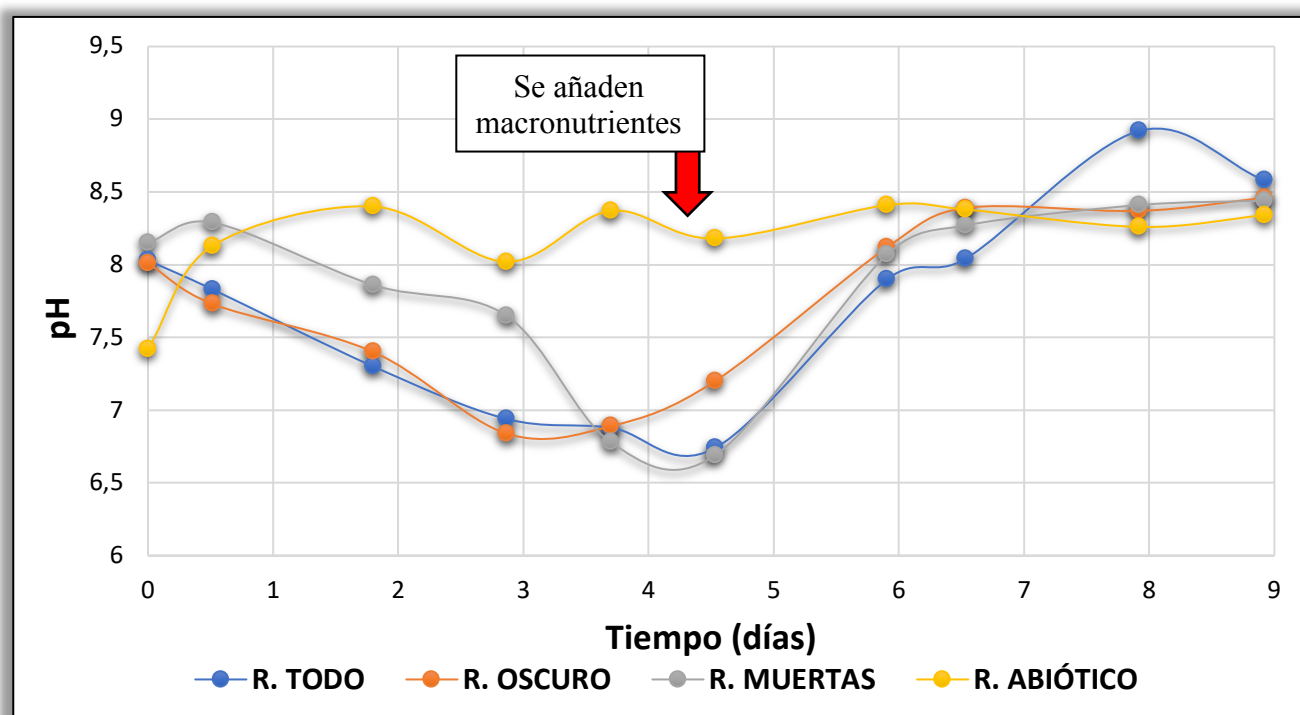


Figura 4-4 Evolución gráfica del pH (FE)

Para los reactores TODO, OSCURO y MUERTAS, los valores del pH son los mismos el primer día de medición, ya que sus contenidos eran exactamente iguales y las características de cada uno de ellos no habían influenciado aún en el reactor. Este valor comienza a descender sin embargo con el paso de los días. Esto se debe a que las microalgas, en todos los reactores, se estaban empezando a quedar sin nutrientes, por lo que sus condiciones empeoraban. Además, el hecho de que el comportamiento de los tres reactores sea tan similar sugiere la posibilidad de que aún tuvieran algas activas en su interior.

Se puede apreciar asimismo un crecimiento en sus valores a partir del día 4. Este se debe a que el día anterior, el día 3, se alimentaron los reactores con macronutrientes. Transcurrido un día, surten efecto y provocan un crecimiento de las algas, aumentado así el pH. El reactor ABIÓTICO, en cambio, no sufre grandes cambios. Estos se debe a que no presenta algas en su composición, por lo que el pH se mantuvo estable durante la FE.

4.2.2 Evolución de la turbidez

Las medidas de este parámetro se indican en la Tabla 4-5, junto con la fecha y hora concretas en que se analizaron las muestras. La evolución temporal de la turbidez se puede observar en la representación gráfica de la Figura 4-5.

Tiempo	GFH	Turbidez (NTU)			
		R. TODO	R. OSCURO	R. MUERTAS	R. ABIÓTICO
T=0	17-2-22 20:20	176	167	238	1,2
T=1	18-2-22 8:45	372	251	221	2,68
T=2	19-2-22 15:30	537	359	273	28,37
T=3	20-2-22 17:00	705	550	288	41,93
T=4	21-2-22 13:00	784	672	430	39,47
T=5	22-2-22 9:00	783	704	554	36,85
T=6	23-2-22 18:00	768	373	254	37,6
T=7	24-2-22 9:00	705	272	108	40,03
T=8	25-2-22 18:15	692	128	90	55
T=9	26-2-22 18:15	646	114	115	59

Tabla 4-5 Valores de turbidez (FE)

En base a la Figura 4-5, se observa cómo los valores de la turbidez en los reactores TODO, OSCURO y MUERTAS, al igual que ocurría con el pH, son los mismos el primer día, pues su composición era la misma en ese momento. Se puede apreciar cómo sus valores van aumentando hasta llegar al día 4, salvo el reactor MUERTAS, que se incrementa en menor medida. A partir del día 4 el valor de la turbidez comienza a disminuir, especialmente en los reactores OSCURO y MUERTAS. Esto se debe a que la biomasa comienza a formar gránulos en lugar de encontrarse en suspensión homogénea, lo que ocasiona valores de NTU menores. Las diferencias entre estos tres reactores y su evolución temporal se discutirán conjuntamente con las medidas de sólidos en suspensión, por estar ambas directamente relacionadas.

En cuanto al reactor ABIÓTICO, su valor crece de manera muy lenta pero sostenida durante la FE. Esto se debe a que durante los 10 días que duró el experimento empezó a crecer algún microorganismo, que no se pudo apreciar hasta los últimos días. Los motivos son desconocidos y se achacan a una posible contaminación inintencionada durante la preparación o desarrollo del experimento, ya que no se lleva a

cabo en condiciones estériles. Se puede apreciar en la Figura 4-6 como el agua que compone el reactor ya no es transparente y ha comenzado a presentar una mayor turbidez.

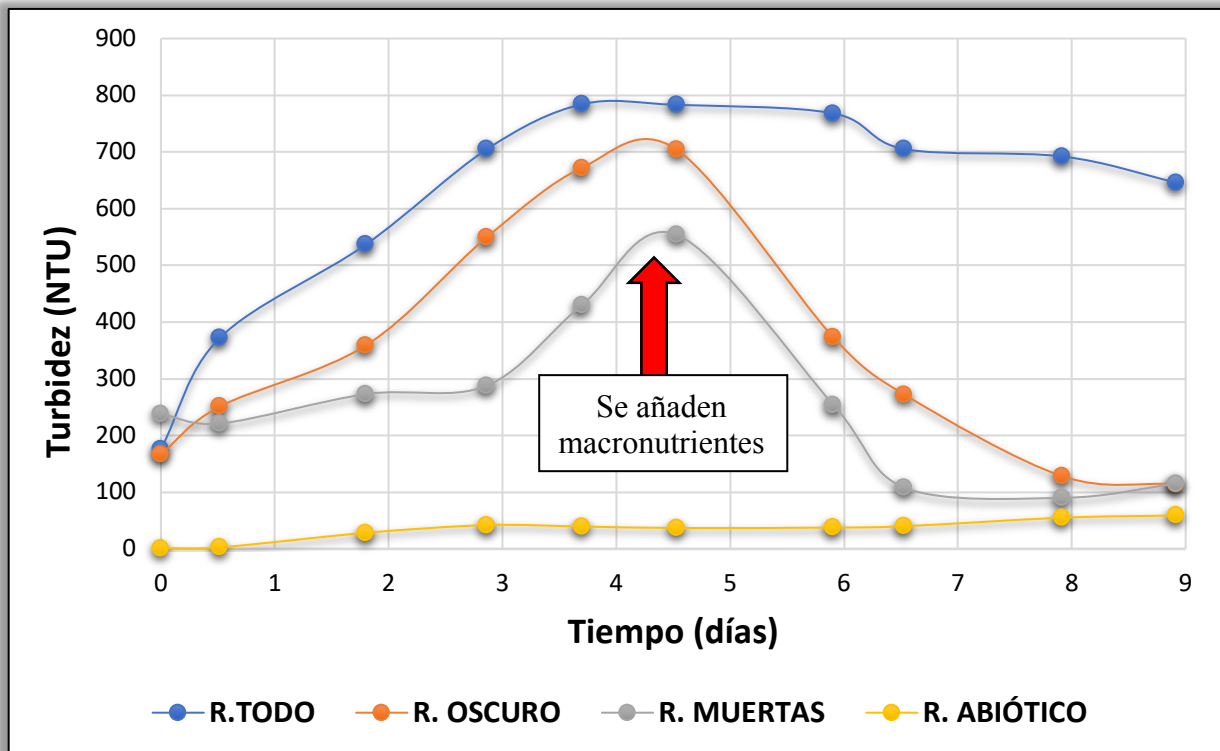


Figura 4-5 Evolución gráfica de la turbidez (FE)

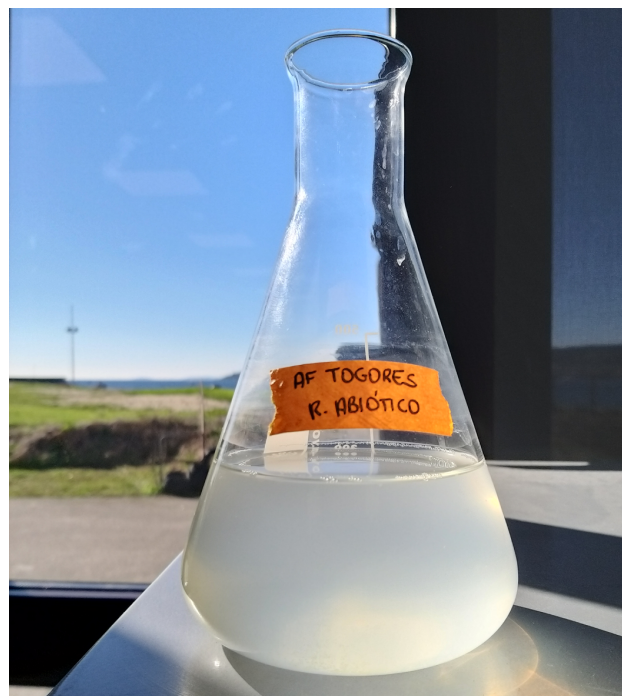


Figura 4-6 Reactor abiótico con crecimiento de compuesto desconocido

4.2.3 Evolución de los sólidos en suspensión

Para la medición de este parámetro, y acorde a lo explicado en el apartado 3.3.2, se pesa el filtro en tres ocasiones distintas. A partir de esos valores, se obtendrán la masa de SST y SSV y, finalmente, se

calculará su concentración en la muestra. Con los resultados de la masa de SS recogidos el Anexo IV: Cálculos de sólidos en suspensión y, teniendo en cuenta el volumen filtrado en cada caso, se hallan las concentraciones de cada uno de ellos, como se puede ver en la Tabla 4-6.

		Concentraciones SS (mg/L)			Porcentaje (%)
		SST	SSV	SSI	SSV
T=0	R. Todo	420,00	320,00	100,00	76,19
	R. Oscuro	380,00	260,00	120,00	68,42
	R. Muertas	466,67	213,33	253,33	45,71
	R. Abiótico	-	-	-	-
T=2	R. Todo	786,67	686,67	100,00	87,29
	R. Oscuro	580,00	506,67	73,33	87,36
	R. Muertas	273,33	226,67	46,67	82,93
	R. Abiótico	-	-	-	-
T=4	R. Todo	1006,67	860,00	146,67	85,43
	R. Oscuro	1000,00	800,00	200,00	80,00
	R. Muertas	360,00	300,00	60,00	83,33
	R. Abiótico	113,33	100,00	13,33	88,24
T=6	R. Todo	980,00	870,00	110,00	88,78
	R. Oscuro	680,00	560,00	120,00	82,35
	R. Muertas	460,00	260,00	200,00	56,52
	R. Abiótico	130,00	120,00	10,00	92,31
T=8	R. Todo	1040,00	930,00	110,00	89,42
	R. Oscuro	590,00	550,00	40,00	93,22
	R. Muertas	350,00	220,00	130,00	62,86
	R. Abiótico	120,00	100,00	20,00	83,33
T=9	R. Todo	1000,00	930,00	70,00	93,00
	R. Oscuro	420,00	360,00	60,00	85,71
	R. Muertas	220,00	180,00	40,00	81,82
	R. Abiótico	130,00	100,00	30,00	76,92

Tabla 4-6 Valores de las concentraciones de SS (FE)

A simple vista, podría parecer que los valores disminuyen, pues los valores a partir de T=6 son más bajos. Sin embargo, esto se debe a que se redujo la cantidad de muestra filtrada de 15 mL a 10 mL. A la hora de calcular las concentraciones se tuvo esto en cuenta, por lo que no afectó al resultado final.

Dado que, tal y como se puede apreciar en la Tabla 4-6, los SSV suponen el mayor porcentaje y son los que indican el posible crecimiento microbiano, se decide representar únicamente este valor. La

evolución temporal de los sólidos en suspensión volátiles de cada uno de los reactores se puede observar en la representación gráfica de la Figura 4-7.

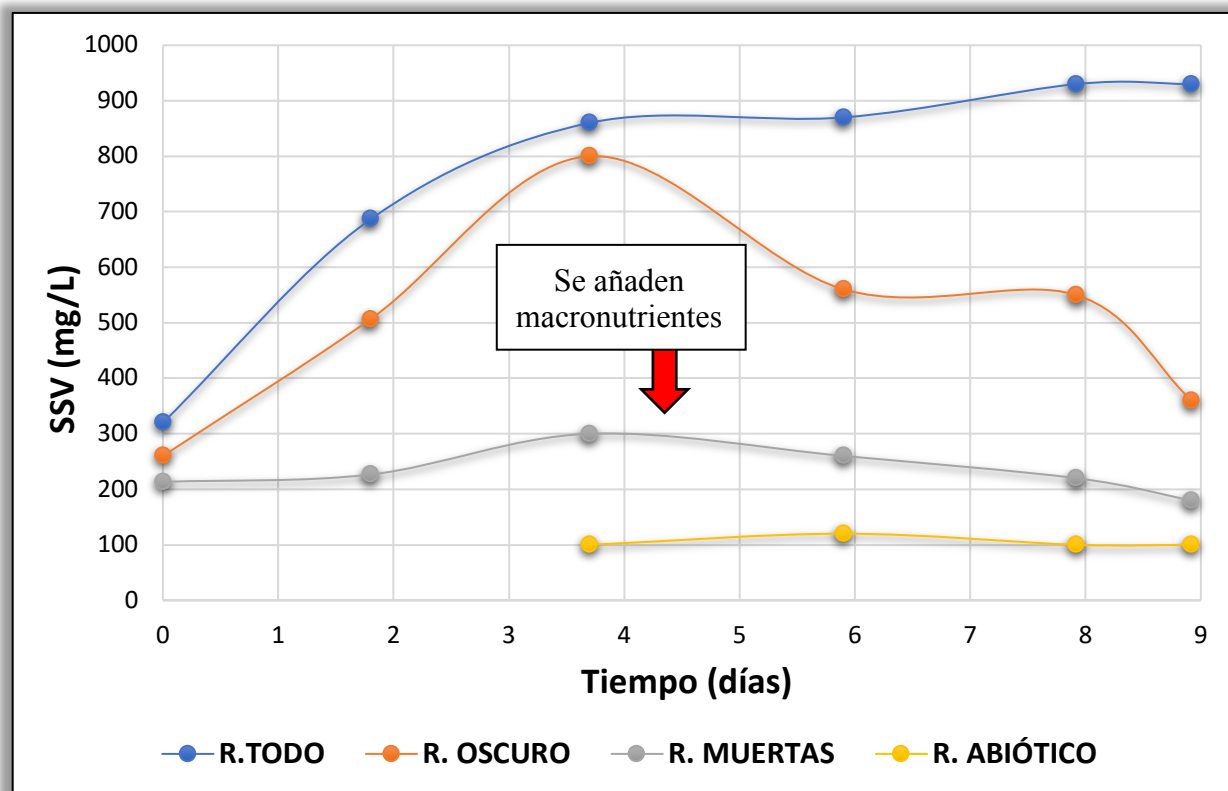


Figura 4-7 Evolución gráfica de los SSV (FE)

A la vista de los resultados obtenidos en la Figura 4-7, se observa cómo el comportamiento mostrado por los reactores se corresponde en gran medida con los resultados obtenidos de turbidez (Figura 4-5). Se puede apreciar cómo la primera medida para los reactores TODO, OSCURO y MUERTAS, por haber sido nada más crear los reactores, es muy parecida. Si se analiza en concreto el reactor TODO se ve cómo aumenta y a continuación se estabiliza. A pesar de que la turbidez decrezca debido a la formación de gránulos, la biomasa (las propias algas y todo aquello que esté creciendo) se mantiene, ya que no se ve un crecimiento significativo teniendo en cuenta posibles errores experimentales.

El reactor OSCURO presenta también un aumento en los SSV hasta la mitad de la FE, momento a partir del cual comienza a disminuir. Esto sugiere que la ausencia de luz no detiene inmediatamente el crecimiento de las algas. Asimismo, existe la posibilidad de que, además de las propias algas, se esté produciendo en su interior el crecimiento de bacterias heterótrofas que no necesitan luz.

El reactor MUERTAS, a pesar de que también aumenta inicialmente para luego disminuir, lo hace en mucha menor medida. Esto se puede deber al hecho de que cuando las algas, que más tarde se inocularon en el biorreactor, fueron introducidas en el autoclave, no murieran el 100% de ellas y que alguna siguiera creciendo. Además, y al igual que ocurre con el reactor OSCURO, se puede dar el caso de que estén creciendo también bacterias heterótrofas.

Por último, el reactor ABIÓTICO presenta un nivel de SSV constante y muy bajo, ya que no contenía algas en su interior. Se le comenzaron a medir los SS una vez se hizo evidente (visualmente y con la medida de turbidez) el crecimiento de un microbio inesperado dentro de él.

4.2.4 Evolución de las clorofilas

Para el estudio de las clorofilas, se midieron las clorofilas de tipo *a* y *b*. Para facilitar su visualización, se realizan dos gráficas independientes: una para las clorofilas *a* y otra para los clorofilas *b*. En primer lugar, se indican las medidas de las clorofilas *a*, indicadas en la Tabla 4-7, junto con la fecha y hora concretas en que se analizaron las muestras. La evolución temporal de las clorofilas de tipo *a* se puede observar en la representación gráfica de la Figura 4-8, descartando un valor en T=9 por considerarse poco representativo de la evolución de este parámetro.

Tiempo	GFH	Clorofilas <i>a</i> (µg/mL)			
		R. TODO	R. OSCURO	R. MUERTAS	R. ABIÓTICO
T=0	17-2-22 20:20	0,151	0,151	0,106	-
T=2	19-2-22 15:30	0,210	0,041	0,101	-
T=4	21-2-22 14:00	0,129	0,097	0,100	-
T=7	24-2-22 9:00	0,371	0,212	0,064	0
T=8	25-2-22 18:15	0,813	0,247	0,073	0
T=9	26-2-22 18:15	0,828	-	0,150	0

Tabla 4-7 Valores de las clorofilas *a* (FE)

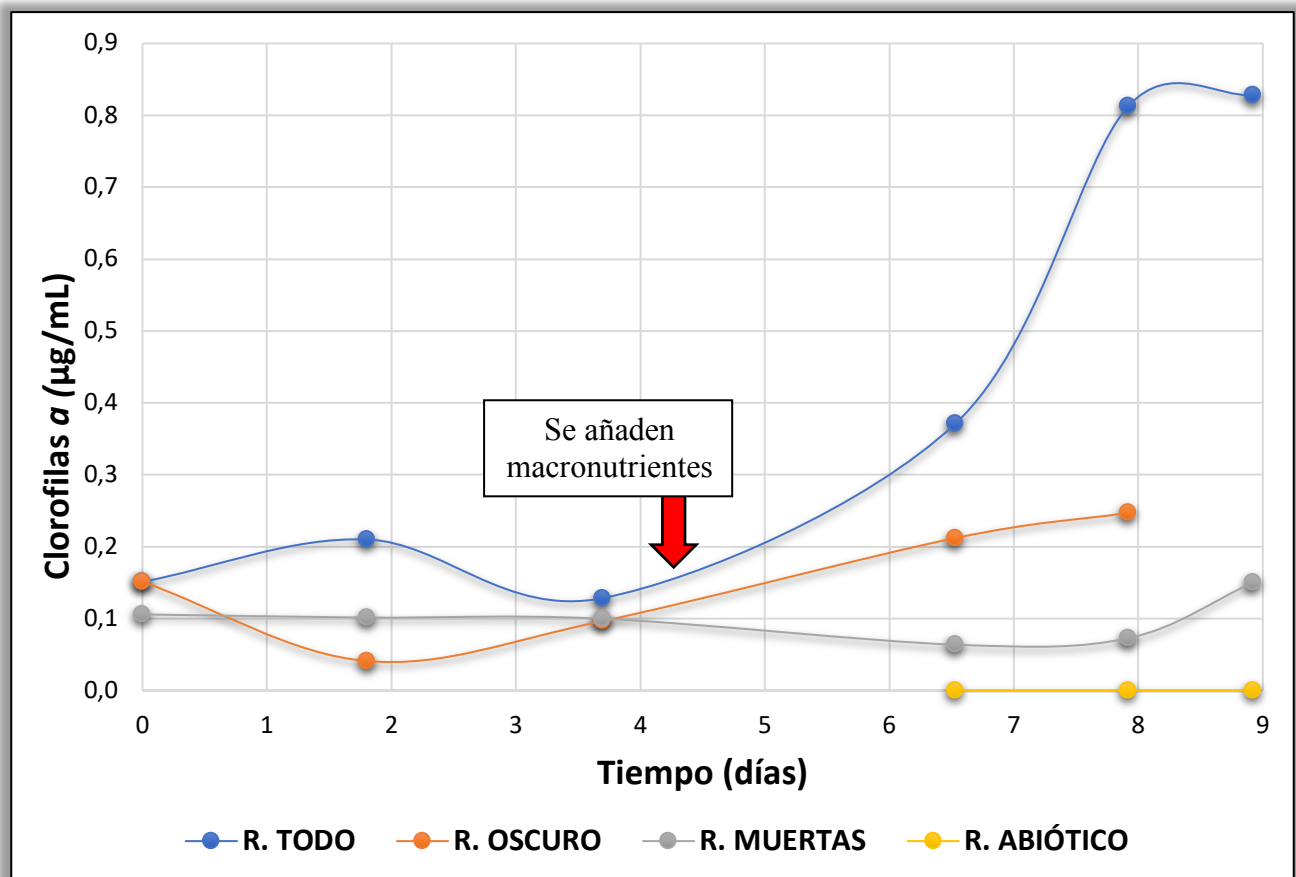


Figura 4-8 Evolución gráfica de las clorofilas *a* (FE)

A la vista de los resultados obtenidos en la Figura 4-8, se puede apreciar cómo las clorofilas del reactor TODO fueron aumentando, confirmado así el crecimiento de las algas. El reactor OSCURO tuvo un ligero crecimiento, aunque no tan pronunciado como el reactor TODO, probablemente por la inactivación de las algas debido a la ausencia de luz durante la FE. El reactor MUERTAS no presenta crecimiento ninguno como era de esperar, y el reactor ABIÓTICO no presenta siquiera clorofilas, lo que concuerda también con lo previsto, pues no se inoculó con algas.

A continuación, en la Tabla 4-8, se indican las medidas de las clorofilas de tipo *b*, junto con la fecha y hora concretas en que se analizaron las muestras. La evolución temporal de las clorofilas de tipo *b* se puede observar en la representación gráfica de la Figura 4-9.

Tiempo	GFH	Clorofilas <i>b</i> (µg/mL)			
		R. TODO	R. OSCURO	R. MUERTAS	R. ABIÓTICO
T=0	17-2-22 20:20	0,376	0,376	0,263	-
T=2	19-2-22 15:30	0,580	-	0,139	-
T=4	21-2-22 14:00	0,320	0,297	0,192	-
T=7	24-2-22 9:00	0,355	0,243	0,045	0
T=8	25-2-22 18:15	0,543	0,160	0,011	0
T=9	26-2-22 18:15	-	-	0,146	0

Tabla 4-8 Valores de clorofilas para los reactores MUERTAS y ABIÓTICO (FE)

Para la representación de los valores de la Tabla 4-8, se descartan algunos de los valores. El de T=2 por ser un valor negativo y los dos de T=9 por considerarse poco representativos de la evolución de las clorofilas en cada reactor.

A la vista de los resultados obtenidos en la Figura 4-9, se puede apreciar como el reactor experimenta un ligero crecimiento y luego desciende por la falta de alimento, por lo que se recupera una vez se añaden los nutrientes. Los reactores OSCURO y MUERTAS se mantienen constantes. En cuanto al reactor ABIÓTICO, sus valores dan en torno a 0 e incluso negativo, lo cual tiene sentido. Al no haberle introducido algas en su interior, las clorofilas que tiene este reactor han de ser inexistentes desde el inicio hasta el final de la FE.

Si se comparan estos resultados con los de los SSV (Figura 4-7), se puede establecer una relación entre ellos. El reactor TODO aumenta sus SSV a la par que sus clorofilas, por lo que se puede afirmar que este aumento se deberá principalmente al aumento de las algas. Los reactores MUERTAS y ABIÓTICO no experimentan un crecimiento de algas, pues tanto sus SSV como sus clorofilas presentan un valor estable durante toda la FE. Por último, el reactor OSCURO, si bien sus SSV aumentan hasta la mitad de la FE, sus clorofilas no siguen la misma tendencia. Esto se puede deber al hecho de que podrían estar creciendo microorganismos heterótrofos en lugar de algas, lo que provocaría un aumento de los SSV a la vez que una estabilidad en las clorofilas.

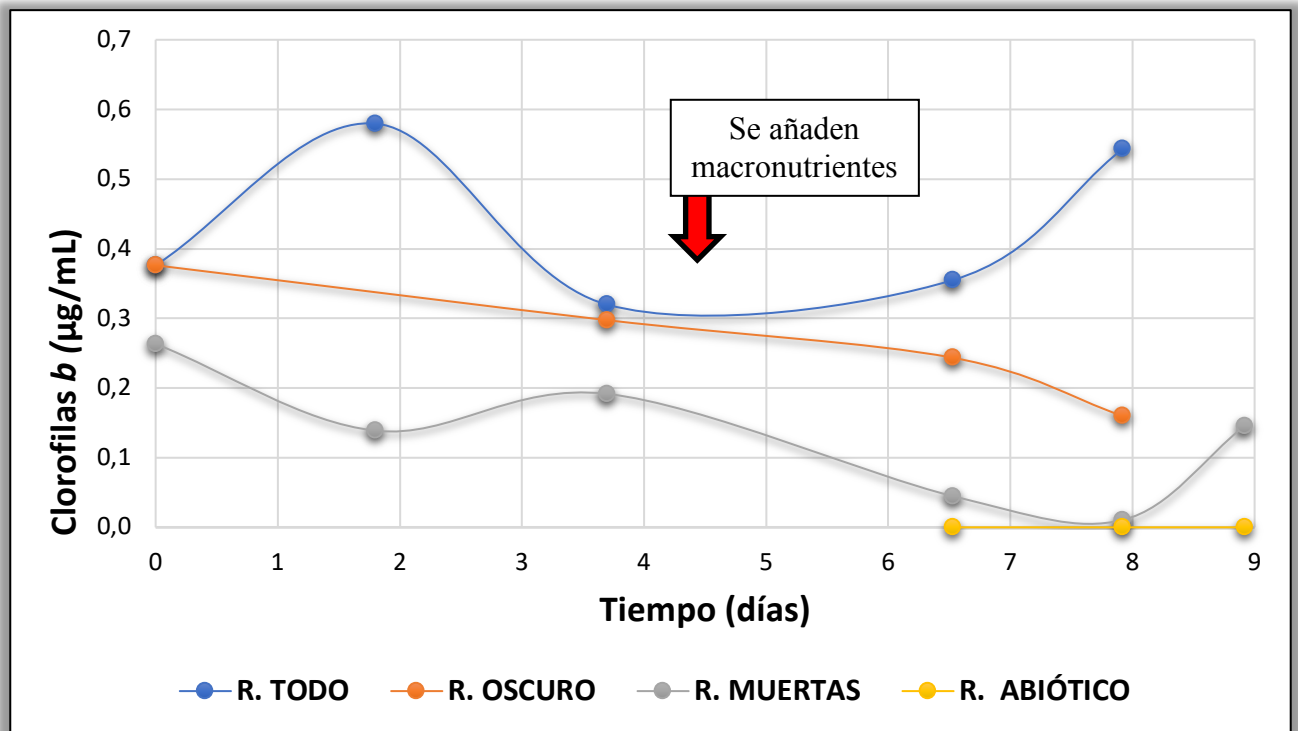


Figura 4-9 Evolución gráfica de las clorofilas *b* (FE)

4.2.5 Evolución de las bacterias

En primer lugar, se miden en el T=0 las bacterias en el reactor TODO. Dado que no se conoce la concentración de UFC/mL, se preparan 3 placas de Petri con diferentes disoluciones: 1:10 (Figura 4-10), 1:100 (Figura 4-11) y 1:1000 (Figura 4-12).

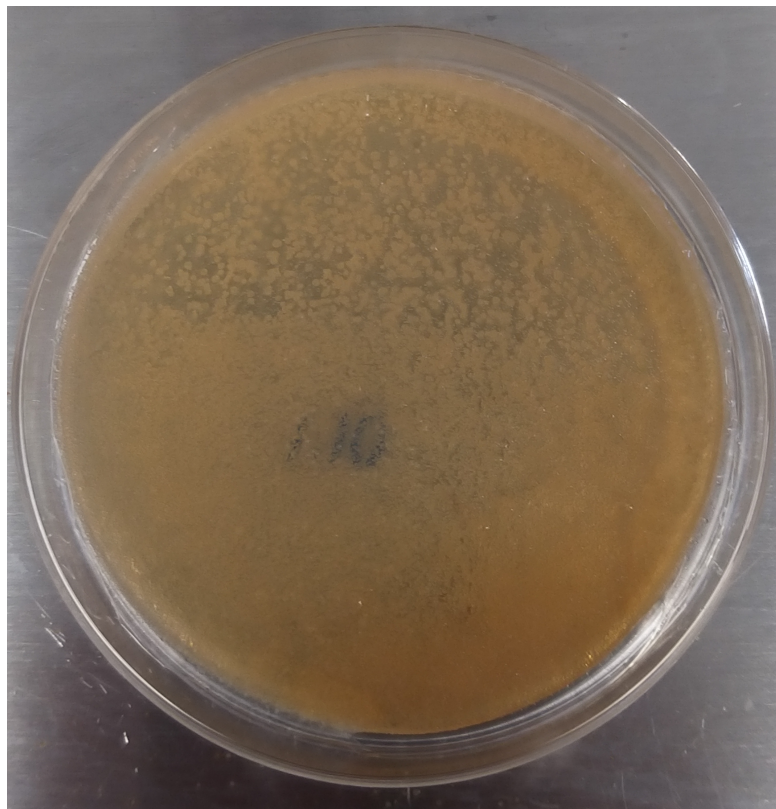


Figura 4-10 Bacterias reactor TODO T=0 disolución 1:10

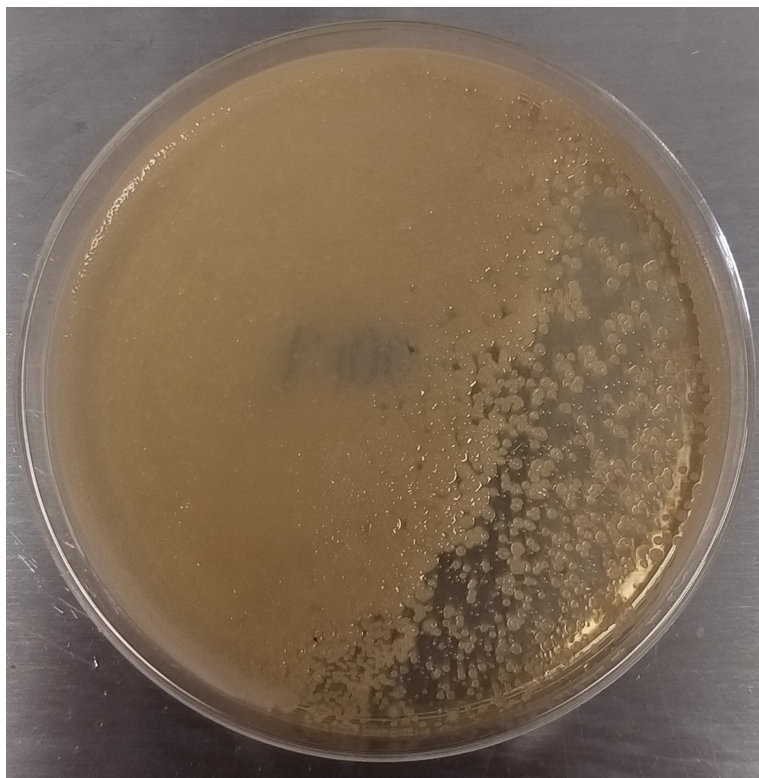


Figura 4-11 Bacterias reactor TODO T=0 disolución 1:100

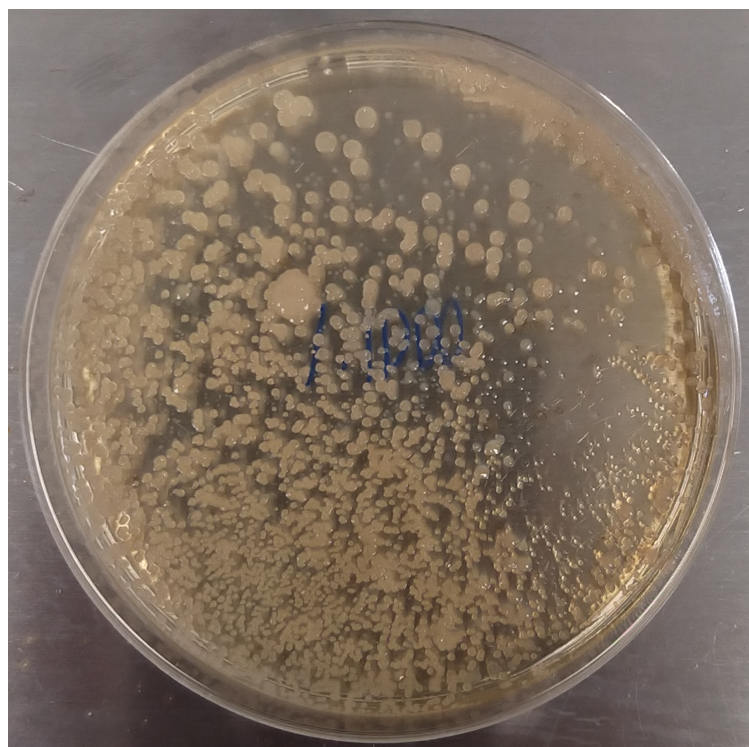


Figura 4-12 Bacterias reactor TODO T=0 disolución 1:1000

Tras las mediciones de las Figura 4-10, Figura 4-11 y Figura 4-12, se puede concluir que el reactor presenta bacterias. El número de UFC es muy difícilmente calculado, debido a la gran concentración de colonias en la placa de Petri. Se estiman que en el reactor TODO en T=0 hay en torno a 700.000 UFC/mL. Se miden, asimismo, las UFC en el resto de los reactores para T=0. Se establece para el reactor OSCURO (Figura 4-13) una disolución 1:1000.

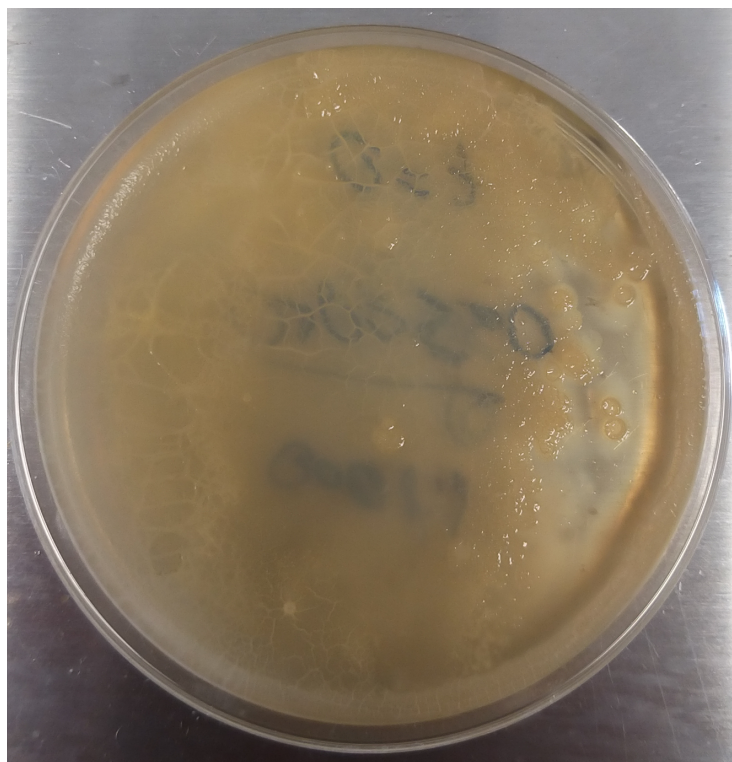


Figura 4-13 Bacterias reactor OSCURO T=0 disolución 1:1000

A la vista del resultado, se concluye que existe, al igual que el reactor TODO, una alta concentración de UFC/mL, pero no es posible cuantificar su número. Para el reactor MUERTAS (Figura 4-14) se prepara una disolución 1:1000. En este reactor prácticamente no existen UFC, resultado con sentido pues las algas introducidas estaban muertas.

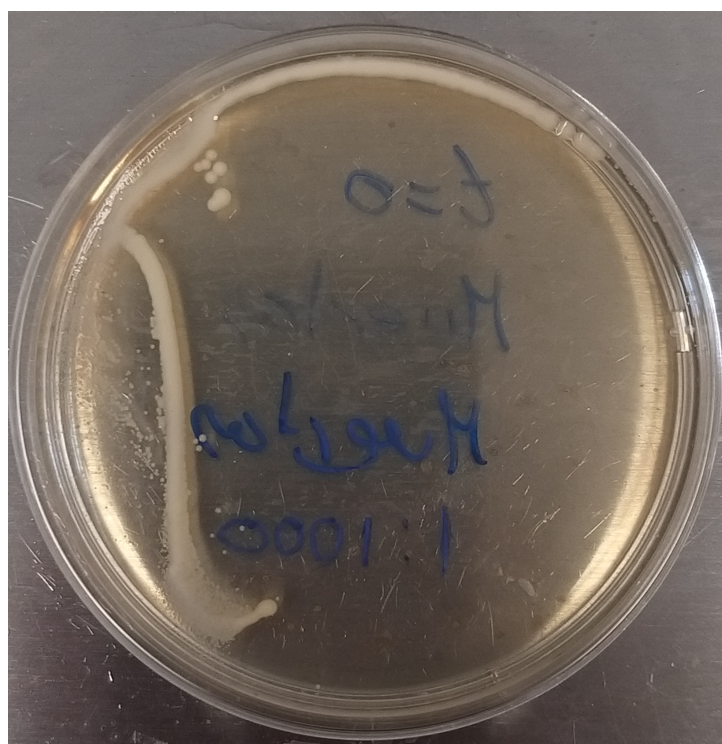


Figura 4-14 Bacterias reactor MUERTAS T=0 disolución 1:1000

Por último, se prepara una placa de Petri para el reactor ABIÓTICO (Figura 4-15), con disolución 1:1, ya que no se esperaban bacterias. Sin embargo, el resultado demuestra lo contrario. Esto se debe a

que no se trabajó bajo condiciones estériles, lo que más tarde originó el crecimiento microbiano que se pudo comprobar visualmente y con la medida de SSV.

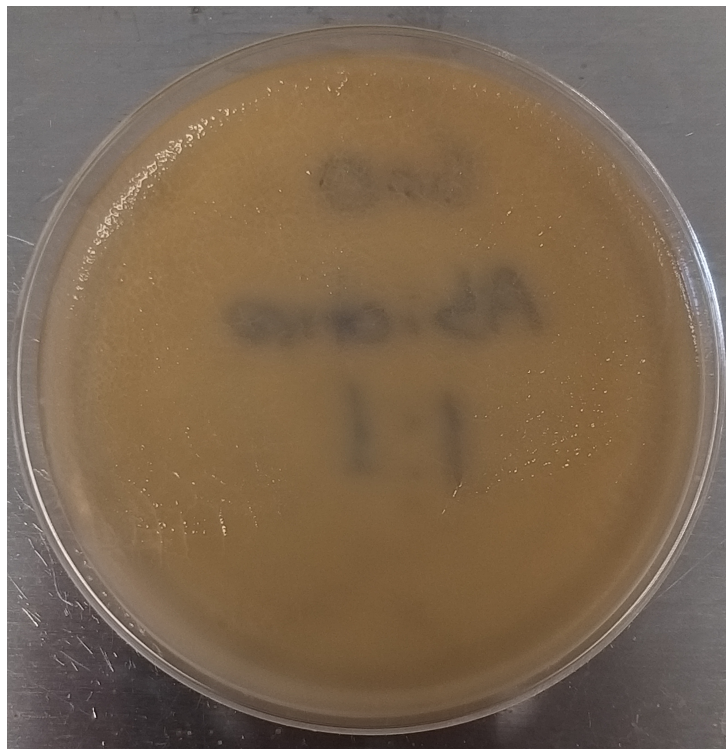


Figura 4-15 Bacterias reactor ABIÓTICO T=0 disolución 1:1

Se decide hacer una segunda medición del reactor TODO en T=3 (Figura 4-16) con una disolución 1:1000. A la vista de los resultados, se puede concluir que las bacterias han aumentado desde la último vez que se midieron, si bien no pueden ser cuantificadas dada la alta concentración de UFC/mL a pesar de la disolución escogida.

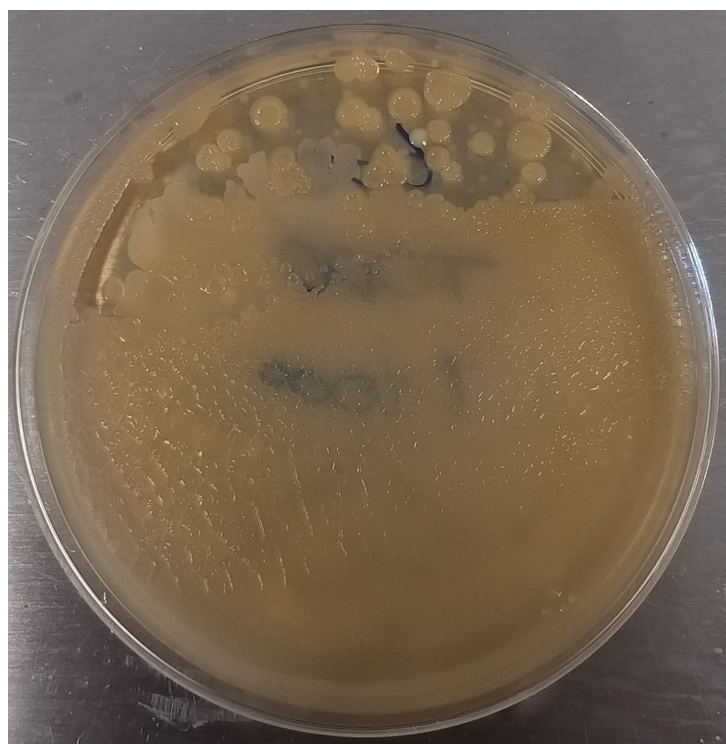


Figura 4-16 Bacterias reactor TODO T=3 disolución 1:1000

Por último, se vuelven a medir las bacterias el último día de la FE, en T=9. Esta vez, dados los resultados anteriores, se decide utilizar una disolución 1:10000 para las placas. Se preparan 4 placas de Petri con dicha disolución, para los reactores TODO (Figura 4-17), OSCURO (Figura 4-18), MUERTAS (Figura 4-19) y ABIÓTICO (Figura 4-20).

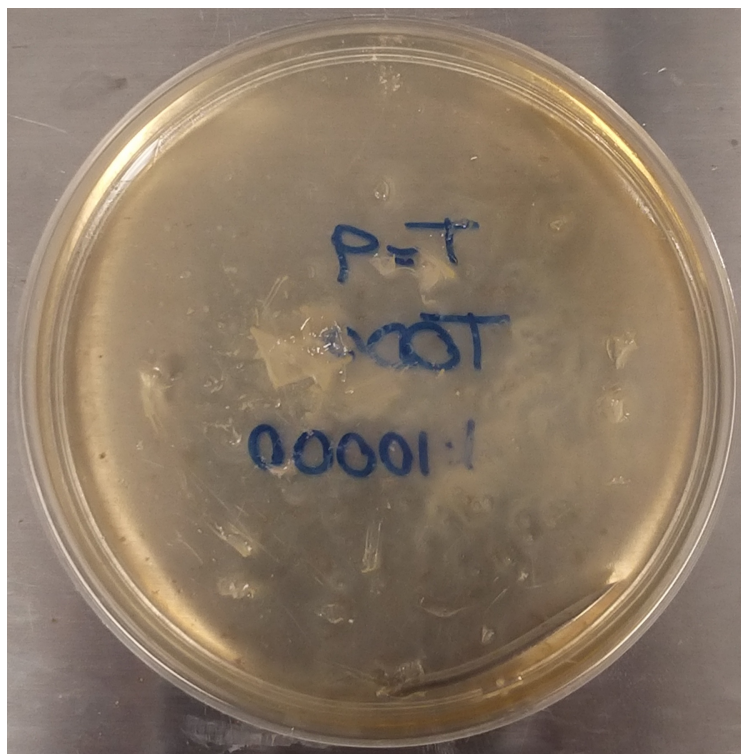


Figura 4-17 Bacterias reactor TODO T=9 disolución 1:10000

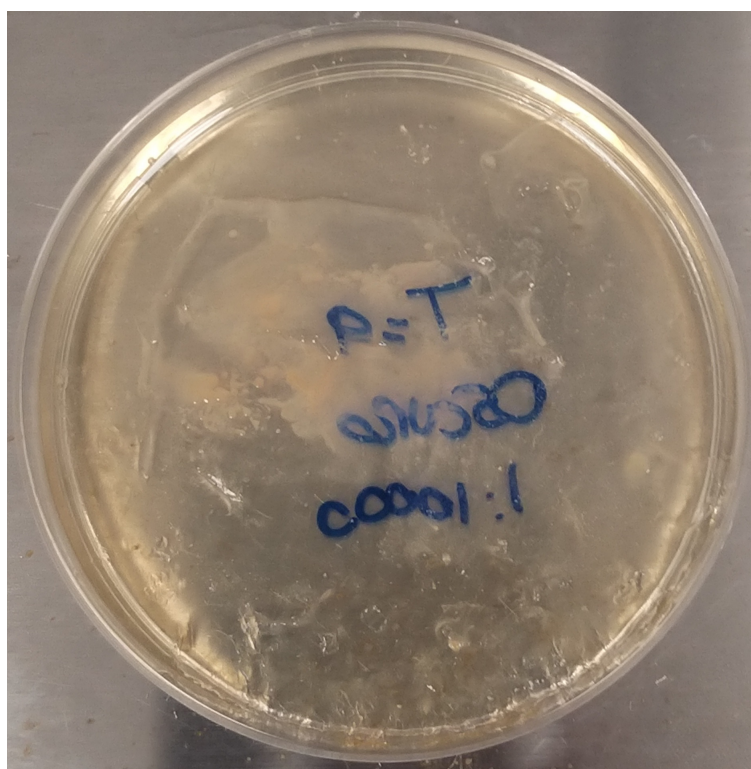


Figura 4-18 Bacterias reactor OSCURO T=9 disolución 1:10000

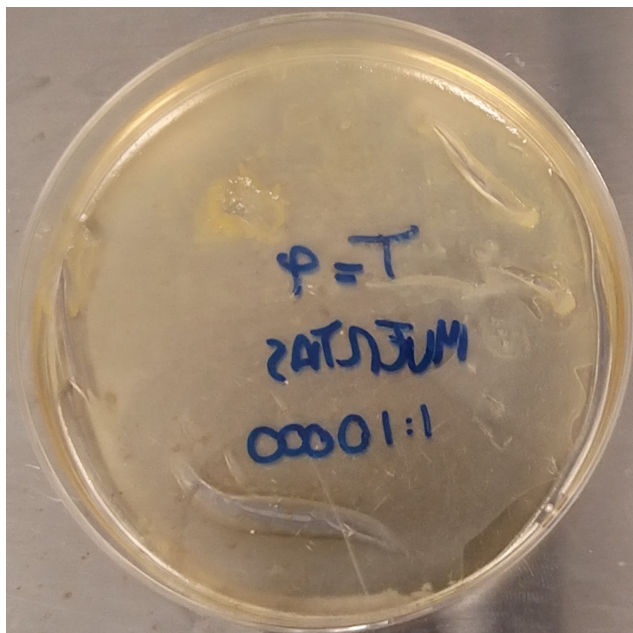


Figura 4-19 Bacterias reactor MUERTAS T=9 disolución 1:10000

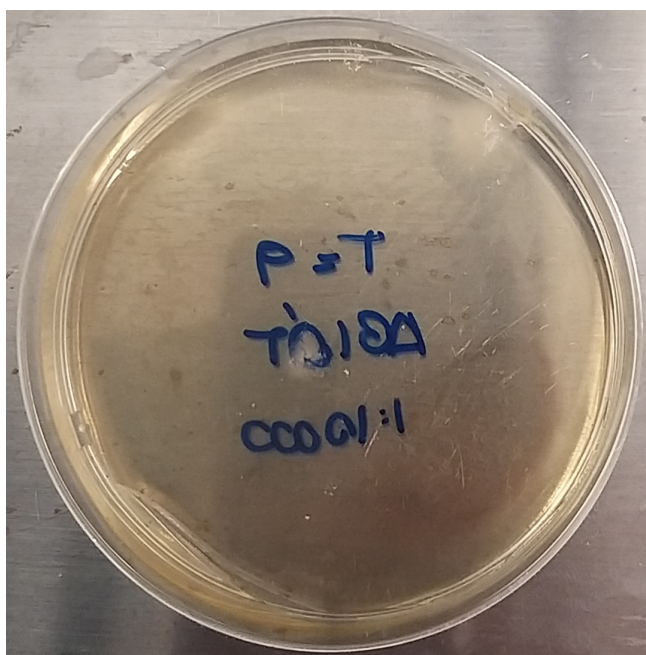


Figura 4-20 Bacterias reactor ABIÓTICO T=9 disolución 1:10000

A la vista de los resultados obtenidos, hubo algún elemento de la medición que falló, pues no aparecen UFC de ningún tipo en ninguna de las placas, ni siquiera en la del reactor TODO, el más concentrado con diferencia. Los motivos pueden ser desde haber escogido una disolución demasiado elevada, hasta que el medio que se utilizó para el crecimiento bacteriano, el TSA (apartado 3.3.9), ya no estuviera en condiciones óptimas tras ser almacenado varios días en la nevera hasta su uso. Por lo tanto, se consideran estos resultados como no conclusivos y no se tendrán en cuenta a la hora de valorar la eficacia de las microalgas en la eliminación de nutrientes e ibuprofeno.

4.2.6 Evolución de la demanda química de oxígeno

Para medir la evolución de la DQO a lo largo de la FE, teniendo en cuenta la cantidad de FAS requerida en cada uno de los casos descrito en el Anexo V: Datos de los parámetros, haciendo uso de la Ecuación 15 y tomando un valor medio del blanco de 10,67 mL de FAS, se presentarán las

concentraciones de $\text{mg O}_2/\text{L}$ en la Tabla 4-9. La evolución temporal de la DQO se puede observar en la representación gráfica de la Figura 4-21. Sin embargo, antes de analizar los datos la Figura 4-21, es importante recordar que, al igual que se verá que ocurre con el N y el P, a partir de la mitad de la FE, los valores varían su tendencia debido a las macronutrientes que se añadieron el día 4, como se explicó en el apartado 3.2. Este factor deberá de tenerse en cuenta a la hora de valorar los resultados. Dado que, tal y como se aprecia en la Figura 4-21, la segunda fase es estable, no se realizarán dos tablas y gráficas independientes como sí que se hará para el nitrógeno y el fósforo.

Asimismo, y para mejor interpretación de los resultados, se presentarán en la Tabla 4-10 los porcentajes de eliminación de DQO con el paso del tiempo. La evolución temporal de éstos se podrá observar en la representación gráfica de la Figura 4-22.

Tiempo	GFH	DQO ($\text{mg O}_2/\text{L}$)			
		R. TODO	R. OSCURO	R. MUERTAS	R. ABIÓTICO
T=0	17-2-22 20:20	4894,4	5230,4	5454,4	5454,4
T=1	18-2-22 8:45	4222,4	3998,4	4110,4	4558,4
T=3	20-2-22 17:00	2094,4	1758,4	2542,4	3438,4
T=4	21-2-22 14:00	1447,6	383,6	1223,6	2679,6
T=5	22-2-22 9:00	862,4	-	-	2094,4
T=7	24-2-22 9:00	681,8	905,8	975,8	2343,6
T=9	26-2-22 18:15	975,8	373,8	947,8	-

Tabla 4-9 Valores de la DQO (FE)

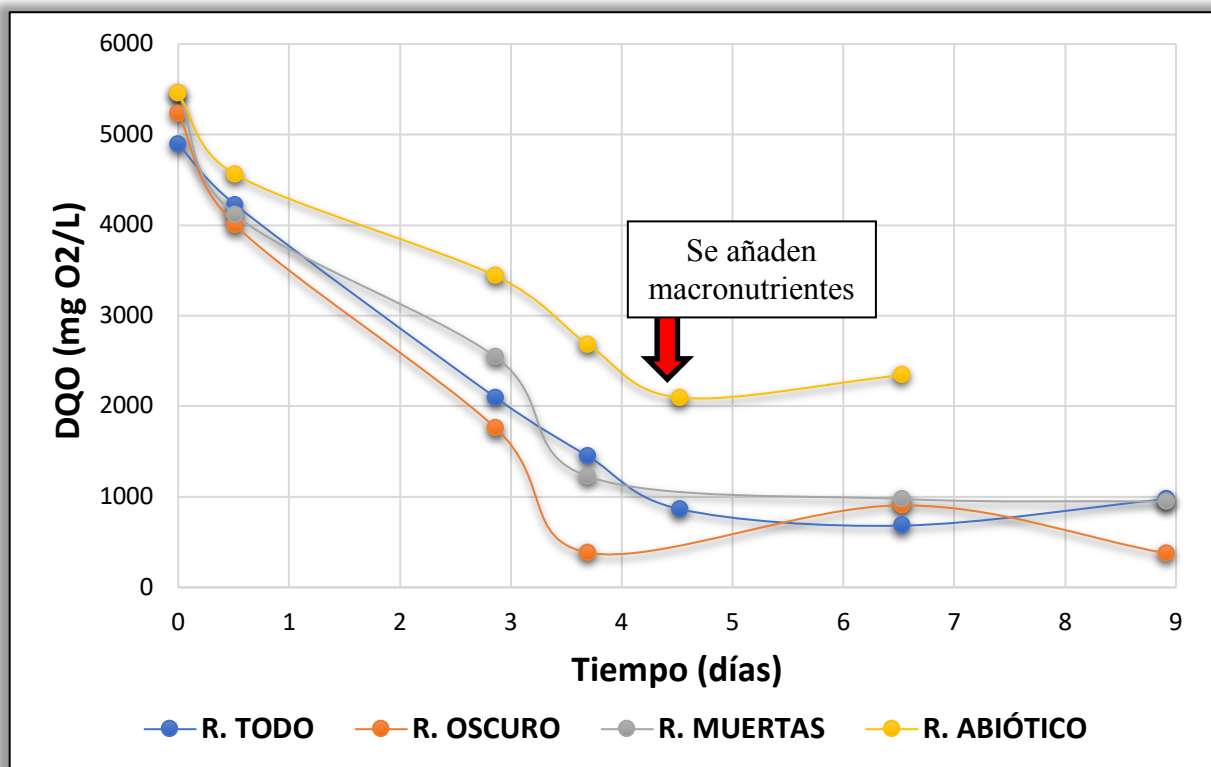


Figura 4-21 Evolución gráfica de la DQO (FE)

Tiempo	GFH	C/C ₀ (%)			
		R. TODO	R. OSCURO	R. MUERTAS	R. ABIÓTICO
T=0	17-2-22 20:20	100,00	100,00	100,00	100,00
T=1	18-2-22 8:45	86,27	76,45	75,36	83,57
T=3	20-2-22 17:00	42,79	33,62	46,61	63,04
T=4	21-2-22 14:00	29,58	7,33	22,43	49,13
T=5	22-2-22 9:00	17,62	-	-	38,40
T=7	24-2-22 9:00	13,93	17,32	17,89	42,97
T=9	26-2-22 18:15	19,94	7,15	17,38	-

Tabla 4-10 Valores porcentaje de eliminación de la DQO (FE)

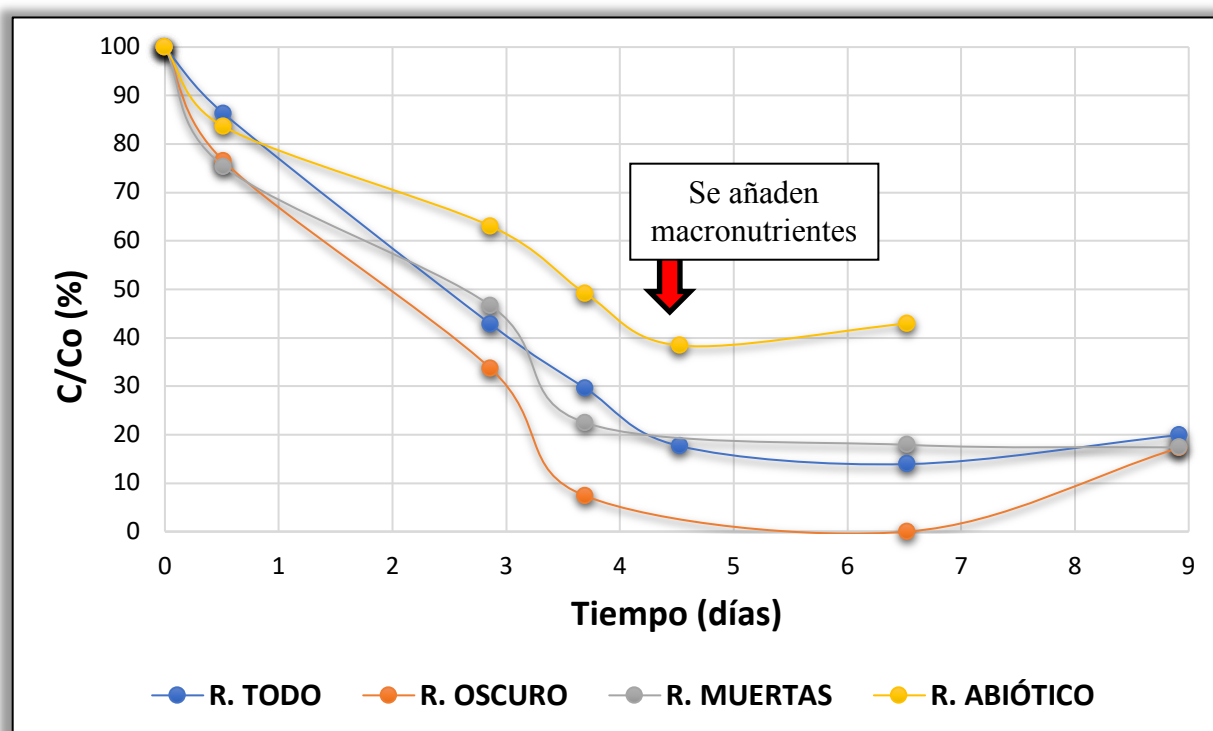


Figura 4-22 Evolución gráfica del porcentaje de eliminación de la DQO (FE)

A la vista de los resultados obtenidos en la Figura 4-22, se observa cómo la DQO disminuye en la primera fase y a continuación se estabiliza en la segunda. Este comportamiento es similar para todos los reactores, si bien es un proceso un poco más lento en el reactor ABIÓTICO. Esto se puede deber al hecho de que las fuentes de carbono, si bien fueron añadidas por el hecho de estar presentes en el agua residual, también lo fueron por potenciar el crecimiento de bacterias heterótrofas. Las algas son autótrofas, es decir, consumen CO₂ o bicarbonato (que también fue añadido como fuente de carbono inorgánica), siendo este último no medido con la DQO. Por lo tanto, se podría concluir que existen bacterias heterótrofas en todos los reactores, si bien en menor medida en el reactor ABIÓTICO, tal y como se concluye con las medidas de las clorofilas y de los SSV.

4.2.7 Evolución del ibuprofeno

El ibuprofeno supone una de las tres mediciones de los contaminantes a eliminar en este estudio. Tomando los datos de la absorbancia del IBP presentes en el Anexo V: Datos de los parámetros, y haciendo uso de la fórmula hallada mediante la recta de regresión en la Figura 3-18, se indican, junto con la fecha y hora concretas en que se analizaron las muestras, las diferentes concentraciones de IBP en la Tabla 4-11. La evolución temporal de la concentración de IBP se puede observar en la representación gráfica de la Figura 4-23.

Tiempo	GFH	Concentración IBP (mg/L)			
		R. TODO	R. OSCURO	R. MUERTAS	R. ABIÓTICO
T=0	17-2-22 20:20	22,503	21,050	23,202	20,435
T=1	18-2-22 8:45	21,888	19,038	18,451	17,082
T=2	19-2-22 15:30	15,769	18,172	17,585	16,942
T=3	20-2-22 17:00	15,601	17,250	18,339	16,607
T=4	21-2-22 14:00	15,545	15,573	17,166	17,305
T=5	22-2-22 9:00	13,645	15,461	18,395	16,663
T=6	23-2-22 18:00	12,248	14,763	16,803	15,880
T=7	24-2-22 9:00	11,214	15,042	16,160	16,355
T=8	25-2-22 18:15	10,571	-	16,691	14,707
T=9	26-2-22 18:15	9,481	-	16,830	15,266

Tabla 4-11 Valores de la concentración de IBP (FE)

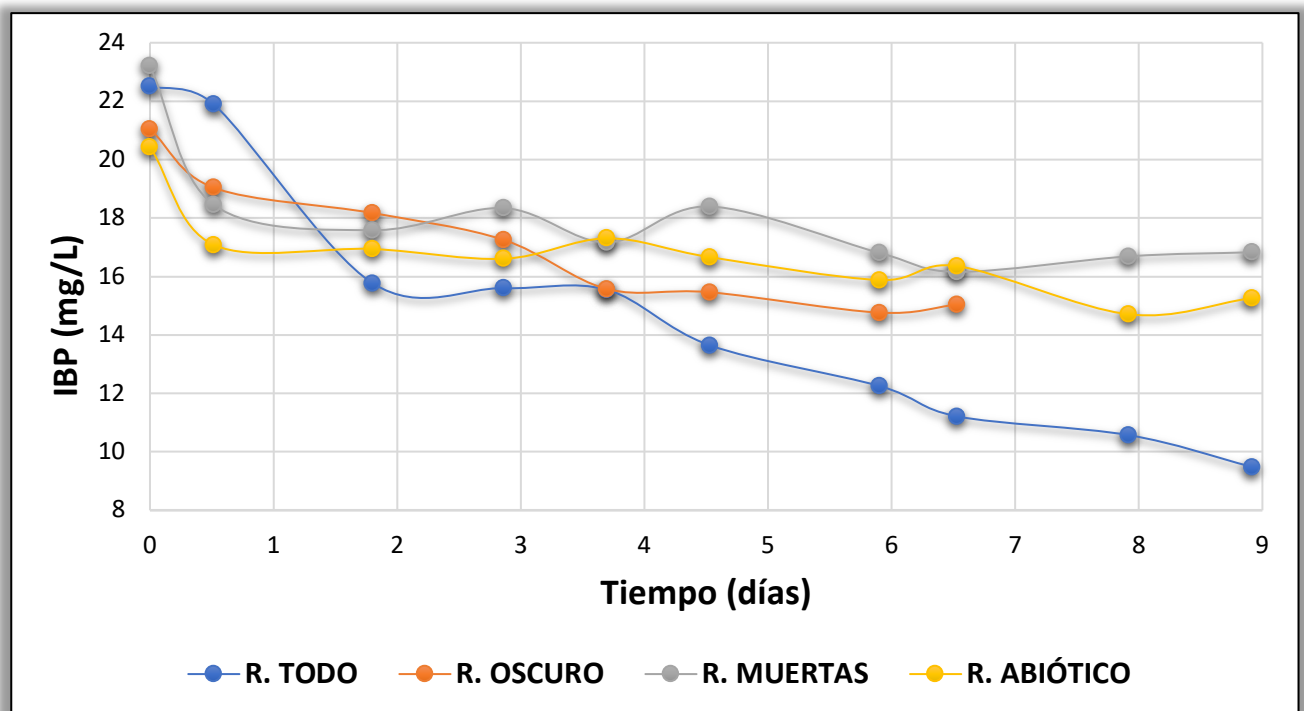


Figura 4-23 Evolución gráfica de la concentración de IBP (FE)

A la hora de valorar los datos obtenidos, hay que tener presente el experimental y del propio método espectrofotométrico. Cuando se diseñaron los reactores y se les añadieron los contaminantes, se hicieron los cálculos con el objetivo de que partieran todos con una concentración inicial de IBP de 20 mg/L. Sin embargo, y tal y como se puede apreciar en la Tabla 4-11, la primera medida en el $T=0$, aunque parecida, no es exactamente de 20 mg/L en los 4 reactores, por lo que ya se parte de un error inicial del 15%.

Los resultados obtenidos en la Figura 4-23 son acordes a lo esperado. Se puede apreciar cómo los reactores MUERTAS y ABIÓTICO no disminuyen apenas la concentración de IBP, ya que el primero no contiene organismos vivos que puedan contribuir a la mineralización del compuesto orgánico, y al segundo ni siquiera se le inocularon algas. Sin embargo, si se analizan los reactores TODO y OSCURO, se puede ver cómo, hasta la muerte de las algas en el reactor OSCURO (sobre el día 3 por falta tanto de luz como de nutrientes para seguir creciendo), la concentración de IBP fue disminuyendo. En cuanto al reactor TODO, presenta los mejores resultados de los 4 gracias a sus condiciones óptimas en las que estuvo trabajando. Este reactor disminuye la concentración de IBP de manera constante a lo largo del tiempo.

En la Tabla 4-12, se especifica el porcentaje de eliminación del IBP para cada uno de los reactores. La evolución temporal de esta eliminación se puede observar en la representación gráfica de la Figura 4-24.

Tiempo	GFH	C/Co (%)			
		R. TODO	R. OSCURO	R. MUERTAS	R. ABIÓTICO
T=0	17-2-22 20:20	100,00	100,00	100,00	100,00
T=1	18-2-22 8:45	97,27	90,44	79,53	83,59
T=2	19-2-22 15:30	70,07	86,33	75,79	82,91
T=3	20-2-22 17:00	69,33	81,95	79,04	81,27
T=4	21-2-22 14:00	69,08	73,98	73,99	84,68
T=5	22-2-22 9:00	60,64	73,45	79,28	81,54
T=6	23-2-22 18:00	54,43	70,13	72,42	77,71
T=7	24-2-22 9:00	49,83	71,46	69,65	80,04
T=8	25-2-22 18:15	46,98	-	71,94	71,97
T=9	26-2-22 18:15	42,13	-	72,54	74,70

Tabla 4-12 Valores porcentaje de eliminación de IBP (FE)

Comparando la efectividad de los distintos mecanismos de eliminación representados en la Figura 4-24, se puede observar cómo para el reactor OSCURO se produce un porcentaje de eliminación del 30 %. Este porcentaje es el mismo que el del reactor MUERTAS, a pesar de sus diferentes configuraciones operacionales. La eliminación en el primero de ellos estaría ligada, en primer lugar, al efecto de las algas en la primera fase hasta su muerte por falta de luz y nutrientes. En segundo lugar, cabe la posibilidad de que el crecimiento de diferentes bacterias heterotróficas haya influenciado también en esta cantidad. El reactor MUERTAS para justificar dicho porcentaje de eliminación cuenta con dos opciones. En un principio, gran parte de la eliminación se achacaría a los efectos de adsorción/absorción sobre las algas. Por otro lado, la posibilidad de que la inactivación de las algas no fuera del todo efectiva y éstas estuvieran eliminando parte del IBP. Finalmente, al igual que ocurre con el reactor OSCURO, es posible

que hayan crecido en este reactor bacterias heterótrofas que, aunque en menores cantidades, consumieran el IBP presente.

El reactor ABIÓTICO presenta un porcentaje de eliminación de IBP similar al de los reactores anteriormente explicados, del 25 %. Si se recuerda la particularidad de este reactor, no presentaba algas inoculadas. Sin embargo, y tal y como se comentó en el apartado 4.2.2, en este reactor estuvo creciendo de manera inintencionada un microorganismo desconocido que podría ser el responsable de esta eliminación de IBP. No se pueden descartar tampoco posibles reacciones abióticas con otros compuestos presentes en el medio de cultivo.

Por último, la efectividad del reactor TODO, fue la más notable de entre los 4 reactores, con un porcentaje de eliminación de IBP de en torno al 55 %. Esto se debe a las condiciones idóneas en las que operó. Presenta un porcentaje de eliminación diario de 6,5 mg/L. Estos resultados concuerdan con otros estudios que sitúan el porcentaje de eliminación en torno a 70 ± 20 % [67] si bien otros sitúan su efectividad en el 100 % [9].

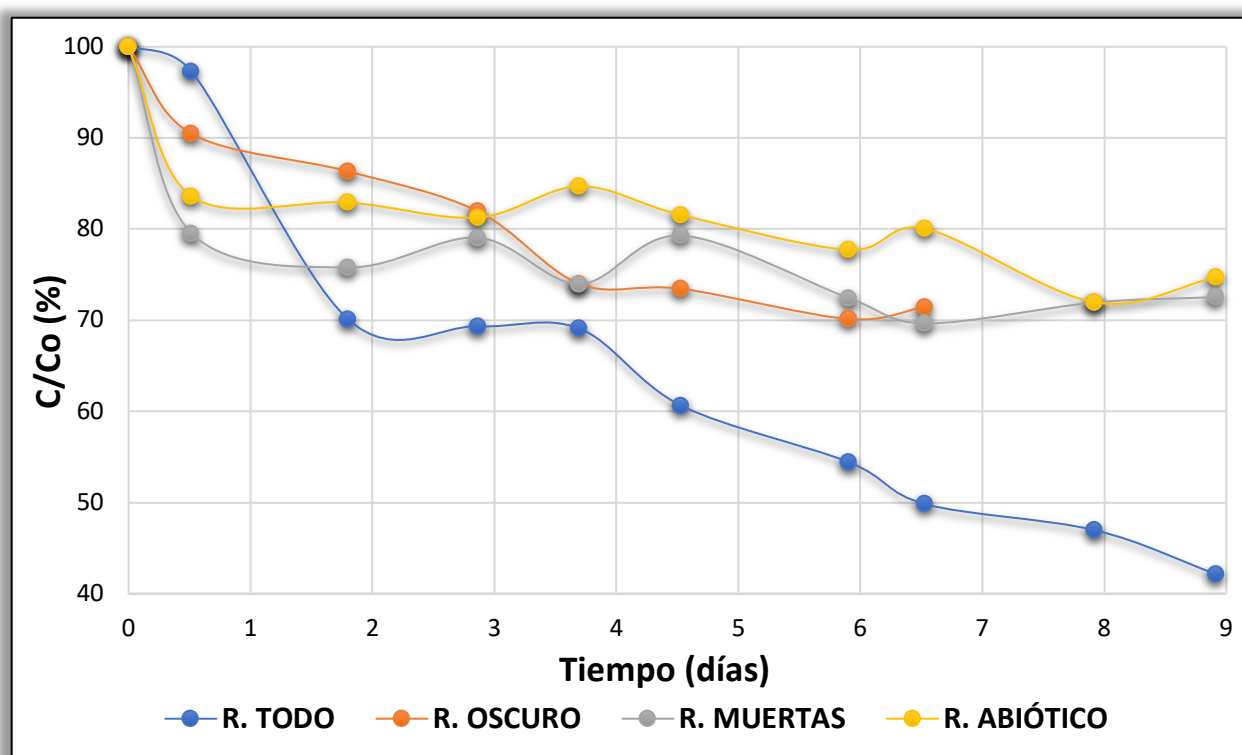


Figura 4-24 Evolución gráfica del porcentaje de eliminación de IBP (FE)

4.2.8 Evolución del nitrógeno

Al igual que el IBP, el nitrógeno forma parte de uno de los tres compuestos a eliminar en este estudio. Tomando los datos de la absorbancia del N presentes en el Anexo V: Datos de los parámetros, y haciendo uso de la fórmula hallada mediante la recta de regresión en la Figura 3-25, se indican, junto con la fecha y hora concretas en que se analizaron las muestras, las diferentes concentraciones de N en la Tabla 4-13. La evolución temporal de la concentración del N se puede observar en la representación gráfica de la Figura 4-25.

A la hora de analizar los datos de la Figura 4-25, es importante recordar que el motivo de la subida a partir del día 3 se debe a la cantidad de macronutrientes añadidos el día 4, comentado en el apartado 3.2. Una vez es tenido eso en cuenta, los valores de la gráfica tienen mayor sentido y se puede analizar la efectividad de cada uno de los reactores en la eliminación de nitrógeno durante esas dos fases (antes

y después de la adición de macronutrientes). Para facilitar la visualización de los resultados, estos se estructurarán de la misma manera.

Tiempo	GFH	Concentración N (mg/L)			
		R. TODO	R. OSCURO	R. MUERTAS	R. ABIÓTICO
T=0	17-2-22 20:20	131,494	138,402	127,656	177,550
T=1	18-2-22 8:45	91,578	100,789	113,071	151,451
T=3	20-2-22 15:00	3,303	0	55,500	102,324
T=5	22-2-22 9:00	218,234	220,536	284,248	219,001
T=7	24-2-22 9:00	122,282	228,212	265,825	189,832
T=9	26-2-22 18:15	76,226	261,987	262,755	193,670

Tabla 4-13 Valores de la concentración de N (FE)

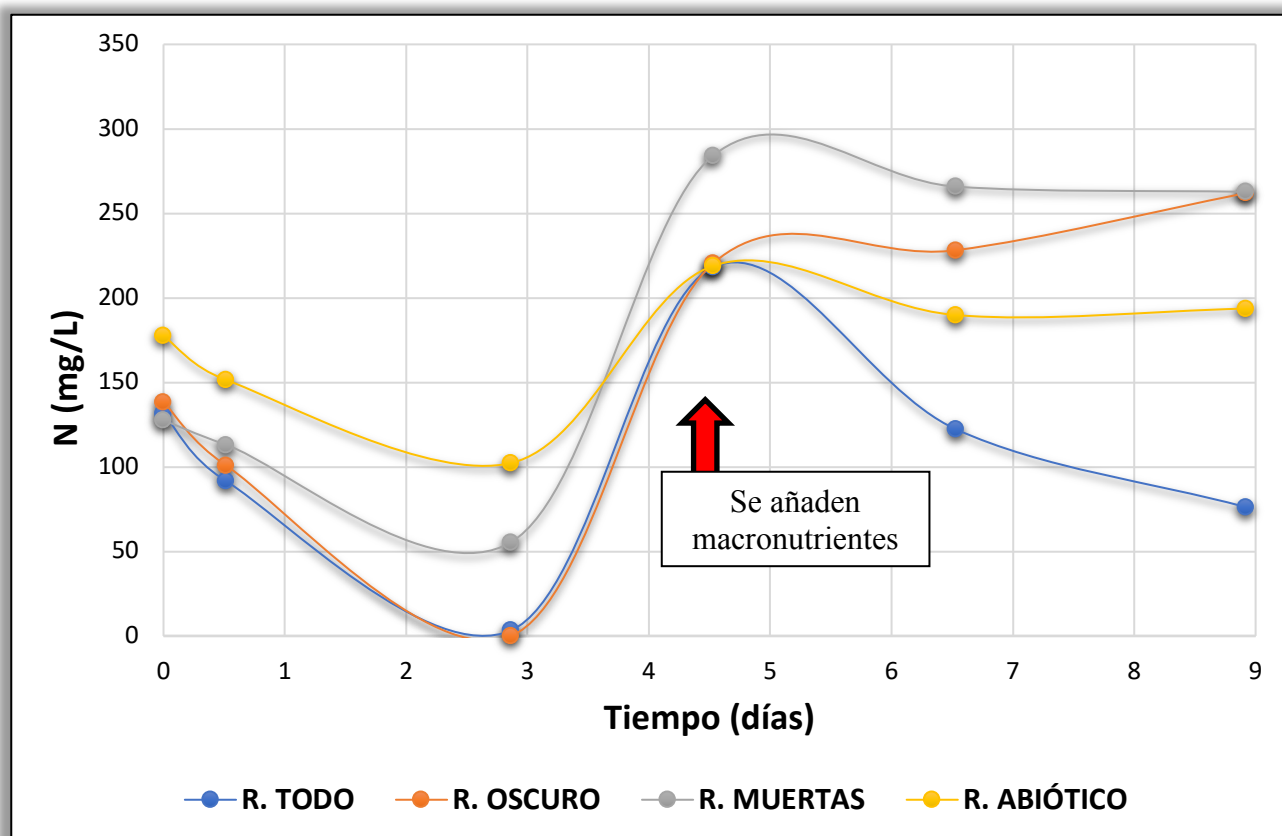


Figura 4-25 Evolución gráfica de la concentración de N (FE)

La medida del primer día, tal y como ocurre con el IBP, se calculó de tal manera que los 4 reactores partieran de la misma concentración de N. Sin embargo se puede observar en la Tabla 4-13 que, aunque parecidas, las concentraciones N en cada reactor al inicio de la FE no son las mismas, dato que tendrá que ser tenido en cuenta para el cálculo de las eficiencias de eliminación. Las de la primera fase se encuentran indicadas en la Tabla 4-14 y su evolución temporal se puede observar en la representación gráfica de la Figura 4-26. Las de la segunda fase, a su vez, se encuentran indicadas en la Tabla 4-15 y su evolución temporal se observará en la representación gráfica de la Figura 4-27.

Tiempo	GFH	Fase 1: C/C ₀ (%)			
		R. TODO	R. OSCURO	R. MUERTAS	R. ABIÓTICO
T=0	17-2-22 20:20	100,00	100,00	100,00	100,00
T=1	18-2-22 8:45	69,64	72,82	88,58	85,30
T=3	20-2-22 15:00	2,51	0,00	43,48	57,63

Tabla 4-14 Valores porcentaje de eliminación de N, Fase 1 (FE)

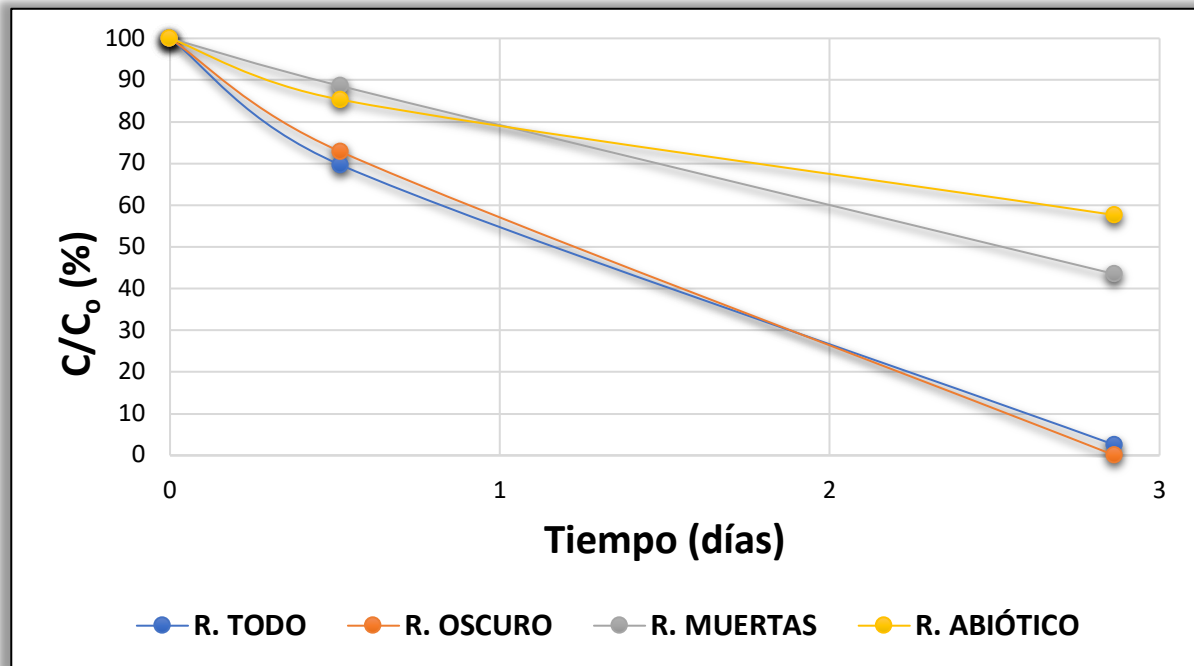


Figura 4-26 Evolución gráfica del porcentaje de eliminación de N, Fase 1 (FE)

Tiempo	GFH	Fase 2: C/C ₀ (%)			
		R. TODO	R. OSCURO	R. MUERTAS	R. ABIÓTICO
T=5	22-2-22 9:00	100,00	100,00	100,00	100,00
T=7	24-2-22 9:00	56,03	103,48	93,52	86,68
T=9	26-2-22 18:15	34,93	118,80	92,44	88,43

Tabla 4-15 Valores porcentajes de eliminación de N, Fase 2 (FE)

A partir de la Figura 4-26, se puede apreciar cómo ambos reactores TODO y OSCURO eliminan el 100% del N en la primera fase. Sin embargo, en la segunda fase, en la Figura 4-27, el reactor OSCURO pierde su efectividad debido a la muerte de sus algas. El reactor TODO mantiene la descontaminación del N logrando un porcentaje de eliminación del 65 %.

Los otros dos reactores, MUERTAS y ABIÓTICO, tienen un comportamiento muy parecido. En la primera fase (Figura 4-26), ambos eliminan N con porcentajes del 57 % y 43 %, respectivamente, y en la segunda fase (Figura 4-27), se mantienen prácticamente estables eliminando en torno al 10 %. Para el reactor MUERTAS, esto se puede deber a que las pocas algas vivas que tuviera al principio se murieran del todo, o bien porque las bacterias heterotróficas que tuviera en su interior, al no haber ya apenas DQO (como se vio en el apartado 4.2.6), no fueran capaces de trabajar con la misma eficacia. Este último

motivo es el mismo que se le achaca al reactor ABIÓTICO, que parece eliminar nitrógeno en la primera fase y luego dejar de hacerlo en la segunda.

Los resultados obtenidos relacionados con la eliminación de nitrógeno mediante el uso de microalgas coinciden con otros estudios que también concluyeron porcentajes de eliminación del 100% [101].

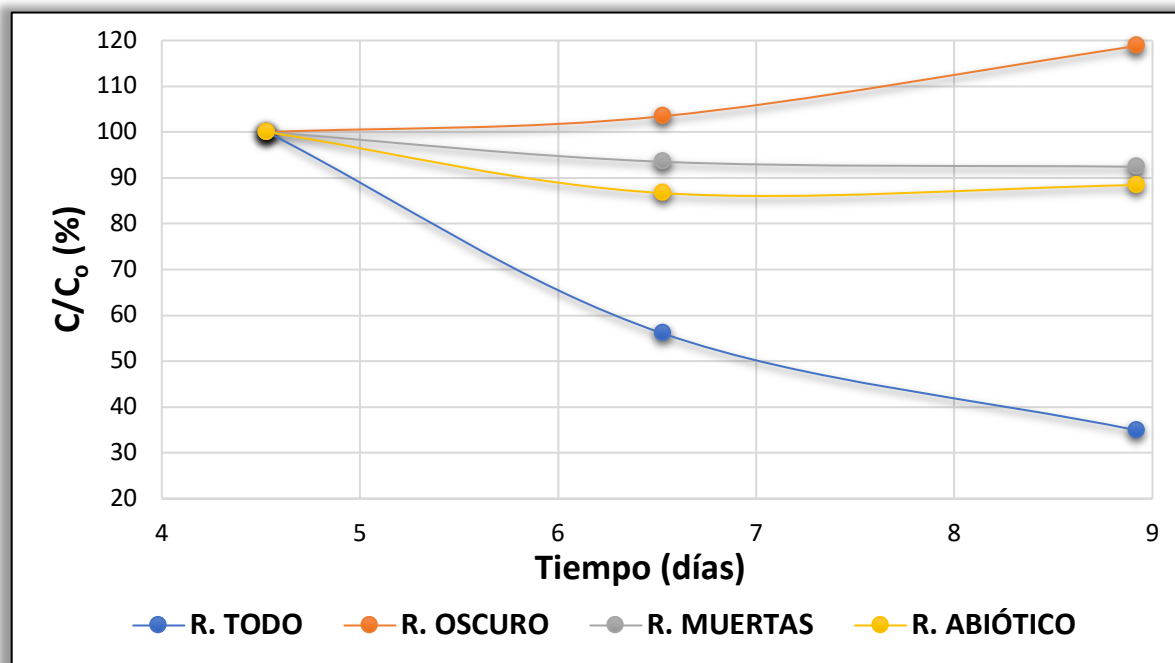


Figura 4-27 Evolución gráfica del porcentaje de eliminación de N, Fase 2 (FE)

4.2.9 Evolución del fósforo

El fósforo es, junto con el ibuprofeno y nitrógeno ya analizados, el último de los compuestos que se busca eliminar en este estudio. Tomando los datos de la absorbancia del P presentes en el Anexo V: Datos de los parámetros, y haciendo uso de la fórmula hallada mediante la recta de regresión en la Figura 3-26, se indican, junto con la fecha y hora concretas en que se analizaron las muestras, las diferentes concentraciones de P en la Tabla 4-16. La evolución temporal de la concentración del N se puede observar en la representación gráfica de la Figura 4-28.

Al igual que ocurría con el IBP y con el N, a la hora de diseñar los reactores para la FE, se calcularon unas cantidades de micronutrientes, macronutrientes y fuente de carbono de tal manera que los 4 reactores presentaran la misma concentración de P al inicio del experimento. Sin embargo, como se puede observar en la Tabla 4-16, el reactor MUERTAS se aleja mucho del valor deseado, y será importante tenerlo en cuenta a la hora de valorar el porcentaje de eliminación del P.

Antes de analizar los datos de la Figura 4-28, y tal y como ocurría con el nitrógeno, es importante recordar el motivo por el que se produce una subida a partir del día 3. Esta se debe a la cantidad de macronutrientes añadidos el día 4, comentado en el apartado 3.2. Por ello, se dividirán los resultados, al igual que se hizo en el apartado anterior, en dos fases: antes y después de añadir el fósforo.

Con el fin de descartar el efecto de las diferentes concentraciones iniciales, se realizarán las discusiones con los porcentajes de eliminación del fósforo. De esta manera, para la primera fase, se indican los porcentajes de eliminación del fósforo en la Tabla 4-17 y su evolución temporal se podrá observar en la representación gráfica de la Figura 4-29. Las de la segunda fase, a su vez, se encuentran indicadas en la Tabla 4-18 y su evolución temporal se observará en la representación gráfica de la Figura 4-30.

Tiempo	GFH	Concentración P (mg/L)			
		R. TODO	R. OSCURO	R. MUERTAS	R. ABIÓTICO
T=0	17-2-22 20:20	41,615	40,575	24,459	35,810
T=1	18-2-22 8:45	36,849	43,348	27,492	35,983
T=3	20-2-22 17:00	17,878	17,418	24,945	21,375
T=4	21-2-22 14:00	18,312	18,799	30,713	25,785
T=5	22-2-22 9:00	45,703	52,486	57,441	45,350
T=7	24-2-22 9:00	37,453	52,501	52,460	35,848
T=9	26-2-22 18:15	35,126	-	.	36,345

Tabla 4-16 Valores de la concentración de P (FE)

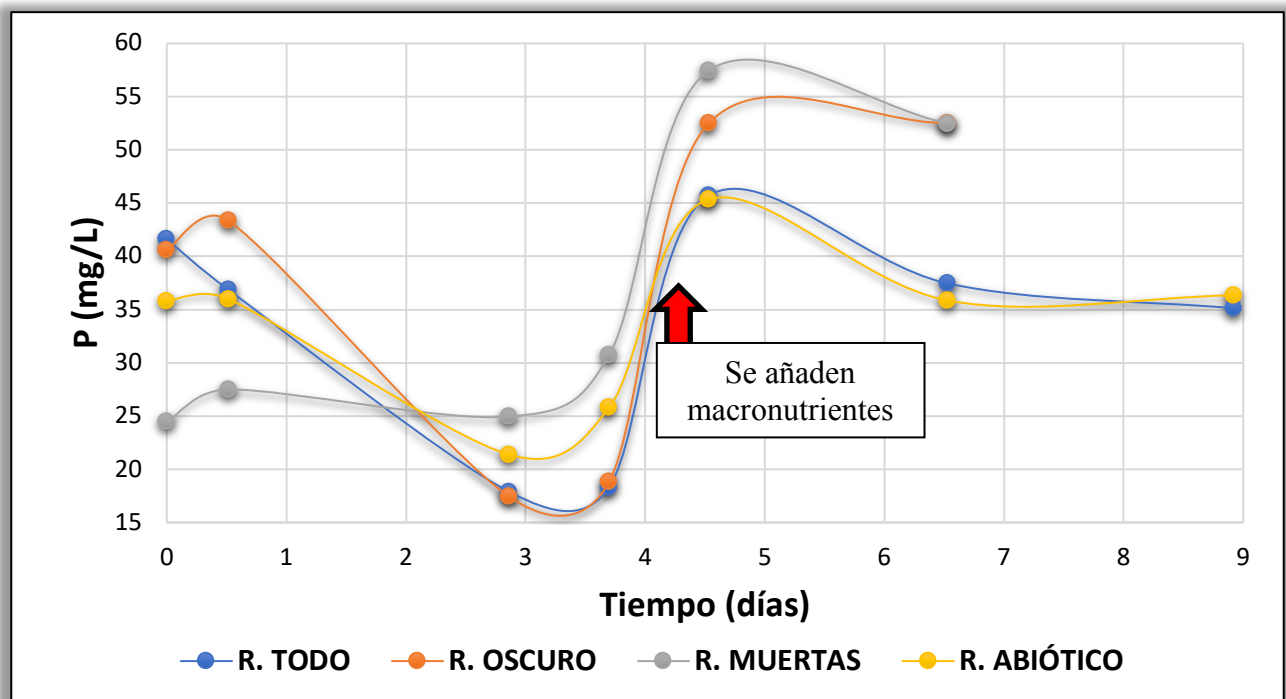


Figura 4-28 Evolución gráfica de la concentración de P (FE)

Tiempo	GFH	Fase 1: C/C ₀ (%)			
		R. TODO	R. OSCURO	R. MUERTAS	R. ABIÓTICO
T=0	17-2-22 20:20	100,00	100,00	100,00	100,00
T=1	18-2-22 8:45	88,55	106,83	112,40	100,48
T=3	20-2-22 17:00	42,96	42,93	101,99	59,69
T=4	21-2-22 14:00	44,00	46,33	125,57	72,01

Tabla 4-17 Valores porcentajes de eliminación de P, Fase 1 (FE)

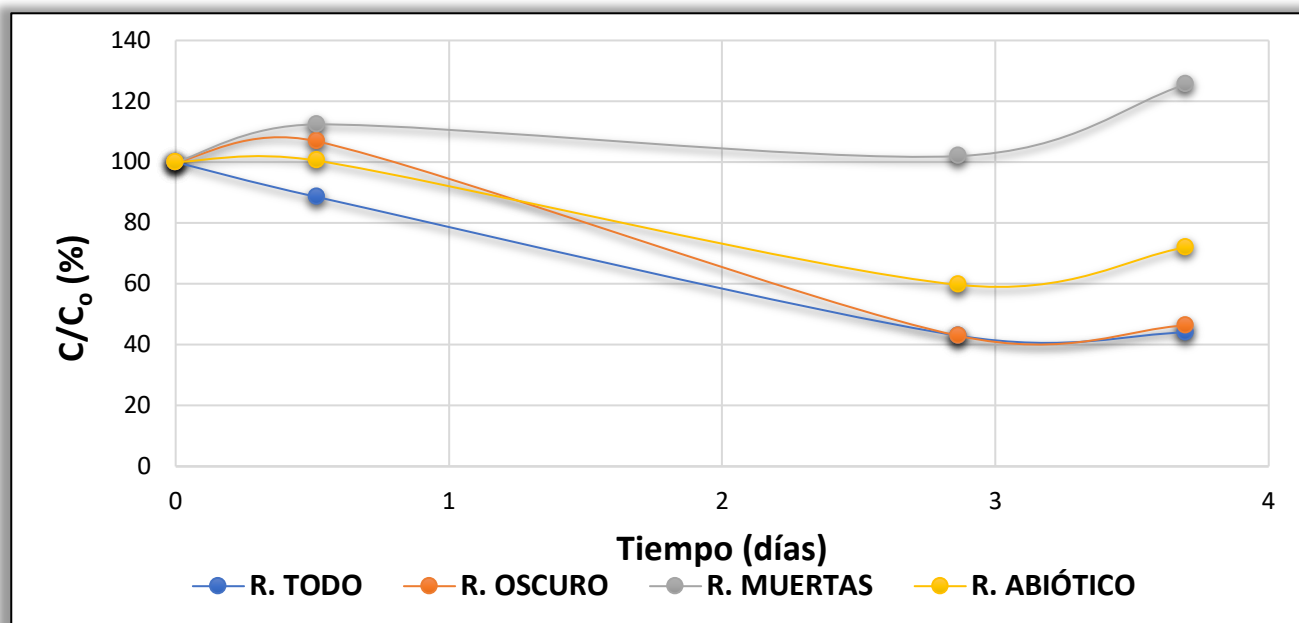


Figura 4-29 Evolución gráfica del porcentaje de eliminación de P, Fase 1 (FE)

Tiempo	GFH	Fase 2: C/C ₀ (%)			
		R. TODO	R. OSCURO	R. MUERTAS	R. ABIÓTICO
T=5	22-2-22 9:00	100,00	100,00	100,00	100,00
T=7	24-2-22 9:00	81,95	100,03	91,33	79,05
T=9	26-2-22 18:15	76,86	-	-	80,14

Tabla 4-18 Valores porcentajes de eliminación de P, Fase 2 (FE)

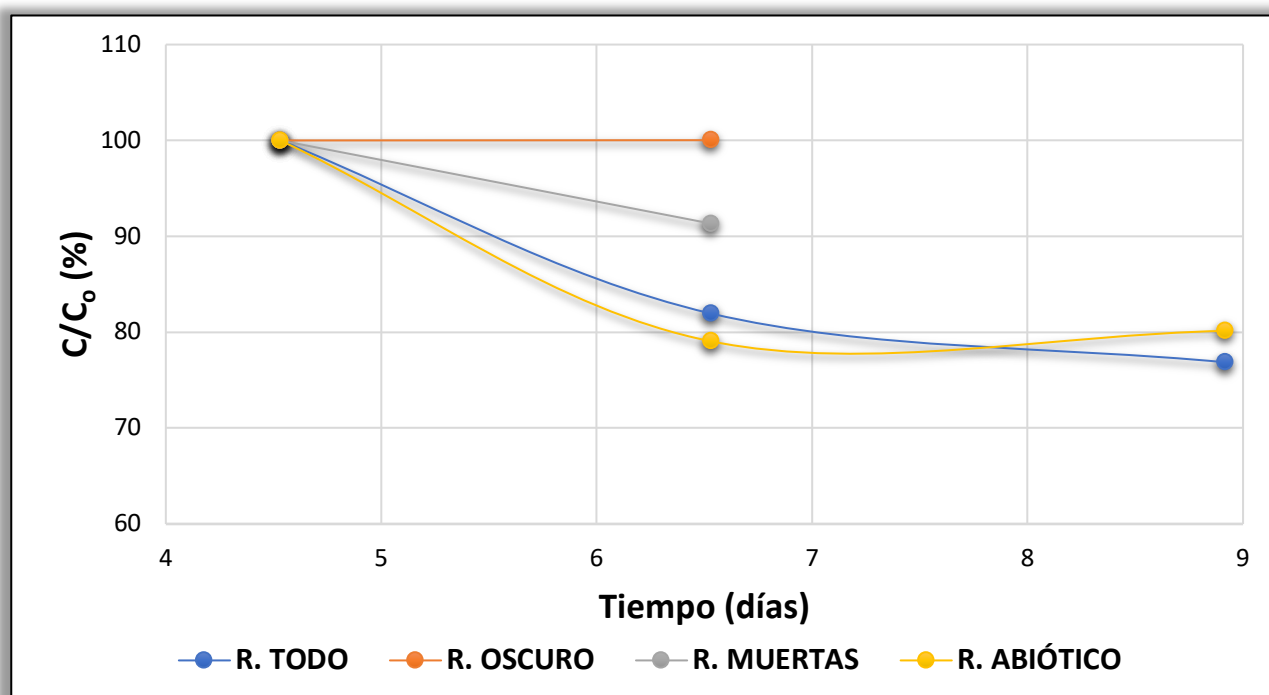


Figura 4-30 Evolución gráfica del porcentaje de eliminación de P, Fase 2 (FE)

A la vista de los resultados de la Figura 4-29, los reactores TODO y OSCURO tienen un comportamiento idéntico en la primera fase de la FE, eliminando hasta un 55 % de fósforo. Sin embargo, en la segunda fase (Figura 4-30) esta tendencia se interrumpe. El reactor TODO logra un porcentaje de eliminación del 25 % mientras que el reactor OSCURO se queda en un 0 %. Esto se debe a que, en la primera fase, el reactor OSCURO aún tenía algas vivas y en pleno funcionamiento. Una vez muertas, es incapaz de seguir eliminando fósforo.

En lo que al reactor MUERTAS respecta, éste elimina el 0 % de fósforo. De hecho, se puede observar en la Figura 4-29 como incluso aumenta, aunque más bien por fallos experimentales. En la segunda fase (Figura 4-30) aparentemente elimina el 10 %, valor que dados los errores experimentales no se puede considerar como significativo. Por último, el reactor ABIÓTICO elimina un 20 % del fósforo en ambas fases. Dada la ausencia de algas en este reactor, se podría pensar que la eliminación la están llevando a cabo los microorganismos desconocidos creciendo en su interior.

Los resultados obtenidos relacionados con la eliminación de fósforo mediante el uso de microalgas se quedan un poco por lo bajo cuando son comparados con otros estudios, los cuales afirman porcentajes de eliminación del fósforo en torno al 60-80 % [102].

4.2.10 Evolución de la fitotoxicidad

La medición de este parámetro se realizó el primer y último día de la FE. En T=0 se miden el reactor TODO (Figura 4-31) y el reactor PEQUEÑO (sin ibuprofeno, Figura 4-32) para usarlo como blanco.

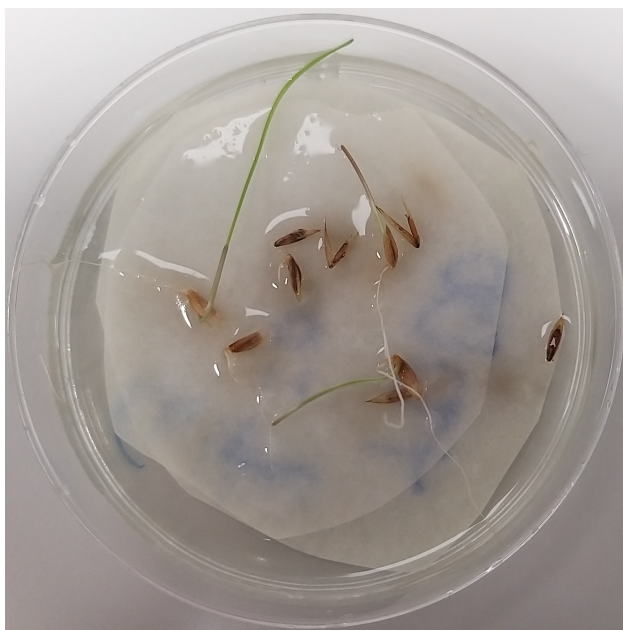


Figura 4-31 Fitotoxicidad reactor TODO T=0

Los resultados que se obtuvieron fueron, para el reactor TODO:

- 3/10 semillas germinadas
- Semilla 1: 5 cm
- Semilla 2: 1,6 cm
- Semilla 3: 1,4 cm

Existe un 30 % de semillas germinadas. La longitud total será de 8 cm, dividido entre 3 semillas germinadas, da como resultado una longitud media de las semillas germinadas en el reactor TODO en T=0 de 2,67 cm.

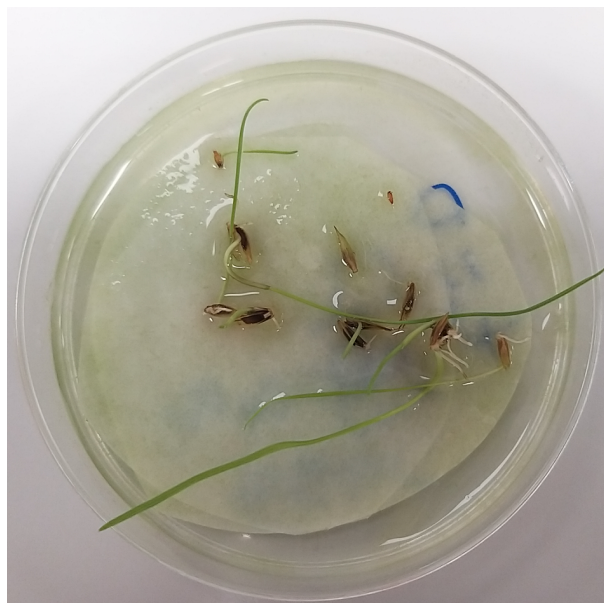


Figura 4-32 Fitotoxicidad reactor PEQUEÑO T=0

Para el reactor PEQUEÑO, se obtuvo:

- 9/10 semillas germinadas
- Semilla 1: 5,9 cm
- Semilla 2: 5,3 cm
- Semilla 3: 3,7 cm
- Semilla 4: 3 cm
- Semilla 5: 1,8 cm
- Semilla 6: 1,1 cm
- Semilla 7: 0,9 cm
- Semilla 8: 0,8 cm
- Semilla 9: 0,2 cm

Existe un 90 % de semillas germinadas. La longitud total será de 22,7 cm, dividido entre 9 semillas germinadas, da como resultado una longitud media de las semillas germinadas en el reactor PEQUEÑO en T=0 de 2,52 cm.

Haciendo uso de la Ecuación 16, se obtiene, para el reactor TODO en T=0, el siguiente índice de germinación:

$$IG = \frac{30}{90} \cdot 100 \cdot \frac{2,67}{2,52} = 35,32 \%$$

Ecuación 17 IG para el reactor TODO en T=0

Para T=9 se repite la medición de la fitotoxicidad en el reactor TODO (Figura 4-33). Se obtiene como resultado lo siguiente:

- 9/10 semillas germinadas
- Semilla 1: 4,5 cm
- Semilla 2: 4,5 cm

- Semilla 3: 3,5 cm
- Semilla 4: 3,4 cm
- Semilla 5: 2,4 cm
- Semilla 6: 1,3 cm
- Semilla 7: 0,5 cm
- Semilla 8: 0,3 cm
- Semilla 9: 0,2 cm

Existe un 90 % de semillas germinadas. La longitud total será de 20,6 cm, dividido entre 9 semillas germinadas, da como resultado una longitud media de las semillas germinadas en el reactor TODO en T=9 de 2,289 cm.

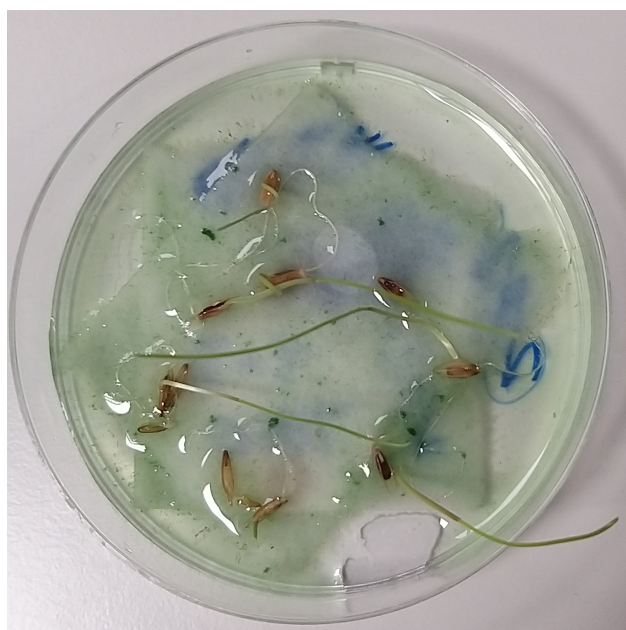


Figura 4-33 Fitotoxicidad reactor TODO T=9

Aplicando la Ecuación 16, se obtiene, para el reactor TODO en T=9, el siguiente índice de germinación:

$$IG = \frac{90}{90} \cdot 100 \cdot \frac{2,289}{2,52} = \mathbf{90,83 \%}$$

Ecuación 18 IG para el reactor TODO en T=9

A la vista de los resultados obtenidos, se puede apreciar cómo el reactor TODO al principio y, según la Ecuación 16, presentaba una alta fitotoxicidad pues $IG < 50 \%$ [98], que se puede asociar a la presencia de ibuprofeno (única diferencia entre el reactor TODO y el reactor PEQUEÑO usado como control de referencia). En cambio, repetido el experimento en T=9 y a la vista de los resultados de la Ecuación 18, se observa cómo el reactor TODO no presenta fitotoxicidad, ya que $80 \% < IG < 100 \%$. Por tanto, se puede concluir que se confirma la degradación del ibuprofeno hasta concentraciones no tóxicas.

5 CONCLUSIONES Y LÍNEAS FUTURAS

5.1 Conclusiones

La temática del presente trabajo es la eliminación total o parcial de los nutrientes, concretamente de compuestos nitrogenados y fosfatos, y del ibuprofeno presentes en las aguas residuales. Para conseguirlo, se hizo uso de un reactor con microalgas capaz de eliminar dichos compuestos. Además, se estudió el comportamiento de estas microalgas instalando otros reactores con diferentes características para valorar hasta qué punto afectaban unas y otras a la eficacia de las microalgas en la reducción de las concentraciones de los contaminantes.

5.1.1 Cultivo de algas en el reactor principal

En primer lugar, se creó un reactor principal que sirvió como cultivo de las microalgas que se utilizarían más adelante en los reactores. Su seguimiento se realizó mediante la medición de tres parámetros: el pH, la turbidez y los sólidos en suspensión. Sus resultados permiten concluir lo siguiente:

- pH: este parámetro rondó los 6,5 los primeros días de cultivo hasta que se le añadió más fitoplancton y nutrientes. A partir de ese momento, el nuevo pH de en torno a 8,5 denota el pH óptimo en el cultivo de microalgas, por lo que se puede concluir que el crecimiento era bueno y las algas estaban creciendo de la manera esperada.
- Turbidez: con este parámetro ocurre algo parecido a la evolución del pH. Tras el añadido de los compuestos, la turbidez, hasta ese momento estable, aumentó significativamente y a partir de entonces siguió creciendo. Estos resultados denotan un aumento en la cantidad de algas en el interior del reactor.
- Sólidos en suspensión: al igual que ocurría con el pH y con la turbidez, se produce un cambio significativo a partir de la adición de los compuestos. Los SSV, representantes de la biomasa en las muestras analizadas, aumentan a medida que pasan los días, lo que permite afirmar que el crecimiento de las algas era apropiado.

Durante esta fase se observó que el cultivo y las concentraciones de nutrientes iniciales no eran las apropiadas. Sin embargo, una vez aumentadas estas cantidades, se consiguió multiplicar el crecimiento por nueve en tan sólo ocho días. Los resultados positivos de estos parámetros permitieron que se tomara la decisión de comenzar con los 4 reactores objeto de estudio y la fase experimental.

5.1.2 Depuración de aguas mediante biorreactores: fase experimental

Durante los 9 días que duró el experimento se utilizaron 10 métodos diferentes de medida con el fin de realizar un seguimiento lo más exhaustivo posible del desarrollo de cada reactor. Teniendo en cuenta

los resultados obtenidos mediante todas las técnicas analíticas utilizadas, se establece la efectividad de cada uno de los reactores para eliminar el nitrógeno, fósforo e ibuprofeno de éstos de la siguiente manera:

- Reactor TODO: este reactor fue, tal y como se esperaba, el más eficaz y constante de todos en la eliminación de los contaminantes gracias a las condiciones en las que operó a lo largo de toda la fase experimental. Redujo tanto la concentración de nitrógeno como la de ibuprofeno de manera mucho más notable que el resto, reduciéndolas a niveles mucho inferiores en comparación con los demás. También destacó en la eliminación del fósforo ya que, a pesar de que el reactor OSCURO eliminó la misma cantidad que él en la primera fase, se destacó en la segunda por ser el único reactor con algas en eliminar dicho contaminante.
- Reactor OSCURO: el crecimiento de las algas en este reactor no fue constante. Si bien al crear el reactor las algas que se le introdujeron estaban sanas y eran abundantes en cantidad, al no disponer de luz, tardó aproximadamente 5 días en empezar a reducir su eficacia debido a la muerte de éstas. Tuvo un comportamiento muy similar al primer reactor y, a medida que sus algas iban muriendo, se fue reduciendo. Esto se ve de manera muy clara en la evolución temporal de los tres contaminantes estudiados. Presenta un comportamiento similar al del reactor TODO hasta los 4-5 días, momento en el que su eficacia comienza a disminuir. Esto permite confirmar la imprescindibilidad de la luz para mantener el crecimiento de las algas. Por otro lado, su eficacia no disminuye al completo, lo que sugiere la existencia de bacterias heterótrofas que, aunque en menor medida, también contribuyen a la eliminación de los contaminantes sin necesidad de luz.
- Reactor MUERTAS: la particularidad de este reactor era que las algas que se introdujeron en su interior estaban muertas y además, no tenía luz alguna incidiendo sobre él para dificultar así su crecimiento. Por ello, en los resultados obtenidos de clorofila se puede apreciar cómo no hubo crecimiento ninguno de las algas. Esto supuso que el principal elemento responsable de la eliminación de los contaminantes fuera inexistente y, por lo tanto, no se produjera una reducción de estos contaminantes al nivel del resto de reactores. Si bien no fue capaz de eliminar el fósforo, lo consiguió con el nitrógeno y el ibuprofeno, aunque fuera en menor medida. Al producirse esta reducción y no haber algas capaces de realizarla, se achaca la eliminación a la presencia de bacterias heterotróficas.
- Reactor ABIÓTICO: con el fin de estudiar la relación de los contaminantes entre sí, este reactor no presentaba algas de ningún tipo. Se produjo la particularidad de que en su interior comenzó a crecer un tipo de microorganismo desconocido responsable de los aumentos en los parámetros encargados de realizar el seguimiento del crecimiento de las algas, dando resultados que iban en contra de lo previsto. Presenta un comportamiento muy parecido al reactor MUERTAS: no elimina fósforo pero sí nitrógeno e ibuprofeno. Además, lo hace en concentraciones prácticamente iguales. Esto sugiere que las bacterias heterotróficas responsables de la eliminación en el reactor MUERTAS son las mismas que aquellas que crecieron en el reactor ABIÓTICO.

5.1.3 Conclusión final

A la vista de los resultados obtenidos, se puede concluir que, de los 4 reactores que se montaron y estudiaron para la fase experimental, el reactor TODO fue el más efectivo de todos. Esto permite concluir que la eliminación de los contaminantes se produjo gracias a las algas como tal, ya que los reactores que no las contenían, ya fuera disponer de ellas como inactivas, muertas o directamente de ninguna manera, no obtuvieron los mismos resultados. Se descarta así la posibilidad de que gran parte de la eliminación de los contaminantes se estuviera produciendo por otras causas, ya que sí es verdad que una pequeña parte ocurre por otros motivos como se ha explicado. Además, con la comparativa entre el reactor TODO y el reactor OSCURO, se reafirma la imperativa necesidad de disponer de luz en el cultivo para evitar la muerte de las algas y asegurar su crecimiento y con él la continuidad en la eliminación de los contaminantes.

Por otro lado, se concluye la eficacia de los reactores de algas en la reducción de la fitotoxicidad asociada al ibuprofeno. Ésta pasa de estar presente en altos niveles a desaparecer a los tan sólo 9 días de experimento, como se demostró en el apartado 4.2.10.

Los sistemas de depuración de agua basados en microalgas cumplen con las nuevas tendencias buscadas en los recientes métodos de depuración convencional, como son la eliminación de nutrientes y microcontaminantes, el ahorro de energía y el funcionamiento con bajas emisiones de carbono. Presentan una alta eficiencia en la eliminación de nutrientes e ibuprofeno.

5.1.4 Evaluación de los objetivos

En lo que a los objetivos se refiere, se han cumplido la mayoría de los que se preveía alcanzar mediante el presente estudio. En primer lugar, se ha analizado exhaustivamente la problemática de las aguas residuales, presentado sus variados orígenes, las categorías en las que se engloban las distintas aguas residuales y las consecuencias que éstas presentan para el medio ambiente. Asimismo, se ha desarrollado el método de depuración convencional utilizado en las estaciones de depuración de aguas residuales y destacado su ineficacia para eliminar los contaminantes estudiados, concluyendo así la importancia de un nuevo sistema de depuración de agua residual que lo complementara.

En segundo lugar, se ha hecho un estudio en profundidad acerca de los microcontaminantes emergentes, centrando el estudio en torno a los compuestos farmacéuticos y, más específicamente, el ibuprofeno. Se ha explicado el origen de éstos y su ciclo de vida, así como los actuales mecanismos y tecnologías de eliminación utilizados en la actualidad. Con este estudio se han demostrado los variados orígenes de estos compuestos, las dificultades presentadas para eliminarlos, y la necesidad de implementar un sistema que contemplara su eliminación.

En tercer lugar, se ha introducido el uso de la depuración de aguas residuales mediante microalgas como alternativa a los métodos convencionales. Se ha prestado especial atención a explicar las ventajas y desventajas de dicho sistema, así como a explicar la importancia de cada parámetro responsable de la correcta ejecución de un sistema de este tipo. Asimismo, se ha explicado el proceso químico mediante el cual las microalgas eliminan los tres contaminantes objeto de este estudio: el nitrógeno, el fósforo y los compuestos farmacéuticos. Por último, se han estudiado los tipos de biorreactores usados en esta técnica de depuración, concluyendo que el más apropiado para su uso en EDAR es el de algas en suspensión.

En cuarto lugar, se ha desarrollado toda una fase experimental en la que se buscaba la creación de un reactor que mediante el uso de microalgas fuera capaz de eliminar el nitrógeno, fósforo e ibuprofeno de un agua residual sintética. El montaje del reactor no presentó más problemas de los esperados y su correcto funcionamiento afirmó el haber alcanzado dicho objetivo presentado al inicio de este estudio.

Por último, una vez creado el biorreactor y estudiado su eficacia en la eliminación de los 3 compuestos analizados, se puede concluir que el éxito ha sido notorio, aunque no completo. La eliminación del nitrógeno e ibuprofeno ha sido acorde a lo esperado; sin embargo, la del fósforo no ha cumplido con lo que se esperaba. Por otro lado, es reseñable destacar también la capacidad de los reactores de eliminar DQO de manera bastante eficiente mediante la acción de microorganismos heterotróficos, así como de reducir los niveles de fitotoxicidad.

5.2 Líneas futuras

Mediante el presente Trabajo de Fin de Grado se ha demostrado cómo un sistema de depuración de agua residual mediante el uso de las microalgas presenta las propiedades adecuadas para la reducción de las concentraciones de nitrógeno y el ibuprofeno. Por ello, y a raíz de lo observado durante este estudio, se presentan las siguientes posibles líneas futuras:

- Repetir el proceso de los biorreactores para confirmar los datos obtenidos y haciendo especial hincapié en la eliminación del fósforo para así confirmar o desmentir la capacidad de las microalgas de eliminar dicho compuesto.
- Evaluar la eficacia de este sistema de depuración de aguas residuales haciendo uso esta vez de un biorreactor de células inmovilizadas, y estudiar si mejora los resultados en comparación con los obtenidos con un biorreactor de células en suspensión como el utilizado en este estudio.
- Realizar dicho experimento con nuevos compuestos farmacéuticos, a poder ser con un nivel de uso parecido al ibuprofeno por su relevancia en las concentraciones presentes de agua residual, como es el caso del paracetamol.
- Realizar experimentos en continuo, con una alimentación de agua residual constante (esto requeriría de usar una bomba para alimentar y extraer el agua residual tratada). De esta manera, se simularía de una manera más realista un reactor de una EDAR.
- Repetir el experimento prestando especial atención al reactor ABIÓTICO, a poder ser montándolo en condiciones estériles para evitar contaminaciones que pudieran más adelante modificar los resultados obtenidos.
- Modificar las concentraciones iniciales de los contaminantes para comprobar si pueden afectar a los resultados. Asimismo, repetir el experimento con agua residual real, obtenida tras el tratamiento primario de una EDAR.

6 BIBLIOGRAFÍA

- [1] Agua, «Agua en el planeta,» [En línea]. Available: <https://agua.org.mx/en-el-planeta/#cuanta-hay>. [Último acceso: 17 Enero 2022].
- [2] Organización Mundial de la Salud, «Agua,» 14 Junio 2019. [En línea]. Available: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/drinking-water>. [Último acceso: 17 Enero 2022].
- [3] Real Academia Española, «Diccionario RAE,» [En línea]. Available: <https://dle.rae.es/eutrofizaci%C3%B3n>. [Último acceso: 18 Enero 2022].
- [4] Conicet Mendoza, «Enciclopedia,» [En línea]. Available: <https://www.mendoza.conicet.gov.ar/portal/enciclopedia/terminos/Eutrofizac.htm>. [Último acceso: 18 Enero 2022].
- [5] T. Deblonde, C. Cossu-Leguille y P. Hartemann, «Emerging pollutants in wastewater: A review of the literature,» *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, vol. 214, nº 6, pp. 442-448, 2011.
- [6] A. Joss, H. Siegrist y T. Ternes, «Are we about to upgrade wastewater treatment for removing organic micropollutants?,» *Water Science & Technology*, vol. 57, pp. 251-255, 2008.
- [7] S. Bergeron, R. Boopathy, R. Nathaniel, A. Corbin y G. LaFleur, «Presence of antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes in raw source water and treated drinking water,» *International Biodeterioration & Biodegradation*, vol. 102, pp. 370-374, 2015.
- [8] J. M. Rodríguez, «Los pies en la tierra,» *La Verdad*, 2 Abril 2020. [En línea]. Available: <https://www.laverdad.es/lospiesenlatierra/noticias/menor-empeora-dobla-20200401205418-nt.html>. [Último acceso: 4 Febrero 2022].
- [9] J. A. Sandoval, M. A. Morales-Granados y D. Rubio, «Breve revisión del uso de microalgas para la remoción de contaminantes emergentes en aguas residuales,» *Gestión y Ambiente*, vol. 23, nº 1, pp. 127-137, 2020.
- [10] F. Rezvani, M.-H. Sarrafzadeh y S. Ebrahimi, «Nitrate removal from drinking water with a focus on biological methods: a review,» *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 26, pp. 1124-1141, 2019.

- [11] E. Arriols, «Qué son las aguas residuales y cómo se clasifican,» *Ecología Verde*, 6 Agosto 2018. [En línea]. Available: <https://www.ecologiaverde.com/que-son-las-aguas-residuales-y-como-se-clasifican-1436.html>. [Último acceso: 26 Enero 2022].
- [12] J. Vymazal, «The use constructed wetlands with horizontal sub-surface flow for various types of wastewater,» *Ecological Engineering*, vol. 35, nº 1, pp. 1-17, 2009.
- [13] shutterstock, «Industria del agua de desecho,» [En línea]. Available: <https://www.shutterstock.com/es/image-photo/waste-water-industry-551141914>. [Último acceso: 10 Marzo 2022].
- [14] Conserve Energy Future, «The Effects of Wastewater on the Environment,» [En línea]. Available: <https://www.conserve-energy-future.com/effects-wastewater-environment.php#:~:text=The%20most%20immediate%20effect%20of,the%20natural%20course%20of%20things..> [Último acceso: 1 Febrero 2022].
- [15] M. Azakir, «Tonnes of dead fish wash up on shore of polluted Lebanese lake,» Reuters, 30 Abril 2021. [En línea]. Available: <https://www.reuters.com/business/environment/tonnes-dead-fish-wash-up-shore-polluted-lebanese-lake-2021-04-30/>. [Último acceso: 10 Marzo 2022].
- [16] Organización Mundial de la Salud, «Water for health: taking charge,» 2001. [En línea]. Available: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/66717>. [Último acceso: 30 Enero 2022].
- [17] Agrifarming, «Soil degradation: causes, effects, preventive methods,» 6 Mayo 2020. [En línea]. Available: <https://www.agrifarming.in/soil-degradation-causes-effects-preventive-methods>. [Último acceso: 10 Marzo 2022].
- [18] A. García-Astillero, «Tipos de tratamiento de aguas residuales,» *Ecología Verde*, 6 Agosto 2018. [En línea]. Available: <https://www.ecologiaverde.com/tipos-de-tratamiento-de-aguas-residuales-1448.html>. [Último acceso: 1 Febrero 2022].
- [19] Conserve Energy Future, «What is Wastewater Treatment?,» [En línea]. Available: <https://www.conserve-energy-future.com/process-of-wastewater-treatment.php>. [Último acceso: 3 Febrero 2022].
- [20] AOS Treatment Solutions, «What is sedimentation in water treatment?,» 1 Mayo 2018. [En línea]. Available: <https://aosts.com/what-is-sedimentation-in-water-treatment-types-settling-tanks/>. [Último acceso: 2 Febrero 2022].
- [21] Suez Water Technologies, «Flotation Technology,» [En línea]. Available: <https://www.suezwatertechnologies.com/products/flotation-technology>. [Último acceso: 3 Febrero 2022].
- [22] Neutralac, «Neutralization,» [En línea]. Available: https://www.neutralac.com/wastewater_neutralisation.html#:~:text=Neutralization%20may%20be%20used%20in,precipitate%20and%20collecting%20the%20precipitate. [Último acceso: 3 Febrero 2022].
- [23] TAMECO, «Tipos de tratamiento de aguas residuales,» 2 Abril 2020. [En línea]. Available: <https://tameco.es/tipos-de-tratamiento-de-aguas-residuales/>. [Último acceso: 4 Febrero 2022].
- [24] iagua, «¿Qué es el proceso de lodos activados?,» 15 Febrero 2016. [En línea]. Available: <https://www.iagua.es/noticias/espana-mexico-portugal/soluciones-medioambientales-y-aguas/16/02/15/que-es-proceso-lodos>. [Último acceso: 4 Febrero 2022].

- [25] J. C. Vinagre, «Funcionamiento de una Estación Depuradora de Aguas Residuales,» aquaducto, [En línea]. Available: <https://www.aquaductoingenieria.es/plantilla-de-noticias/>. [Último acceso: 5 Febrero 2022].
- [26] Y. Xu, T. Liu, Y. Zhang, F. Ge, R. M. Steelb y L. Sun, «Advances in technologies for pharmaceuticals and personal care products removal,» 2017. [En línea]. Available: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/1996/ta/c7ta03698a/unauth>. [Último acceso: 13 Febrero 2022].
- [27] P. K. Mutiyar y A. K. Mittal, «Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) residues in water environment of India: a neglected but sensitive issue,» Marzo 2013. [En línea]. Available: https://www.researchgate.net/publication/261795740_Pharmaceuticals_and_Personal_Care_Products_PPCPs_Residues_in_Water_Environment_of_India_A_Neglected_but_Sensitive_Issue. [Último acceso: 13 Febrero 2022].
- [28] M. Carballa, F. Omil, J. M. Lema, M. Llompарт, C. García-Jares, I. Rodríguez, M. Gómez y T. Ternes, «Behavior of pharmaceuticals, cosmetics and hormones in a sewage treatment plant,» *Water Research*, vol. 38, nº 12, pp. 2918-2926, 2004.
- [29] A. Langenhoff, N. Inderfurth, T. Veuskens, G. Schraa, M. Blokland, K. Kujawa-Roeleveld y H. Rijnaarts, «Microbial Removal of the Pharmaceutical Compounds Ibuprofen and Diclofenac from Wastewater,» *Biomed Research International*, 2013.
- [30] Sistema Nacional de Salud, «Prestación Farmacéutica en el Sistema Nacional de Salud,» Ministerio de Sanidad, Madrid, 2018.
- [31] A. Ziyilan y N. H. Ince, «The occurrence and fate of anti-inflammatory and analgesic pharmaceuticals in sewage and fresh water: Treatability by conventional and non-conventional processes,» *Journal of Hazardous Materials*, vol. 187, pp. 24-36, 2011.
- [32] P. Verlicchi, M. A. Aukidy y E. Zambello, «Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater: Removal, mass load and environmental risk after a secondary treatment—A review,» *Science of Total Environment*, vol. 429, pp. 123-155, 2012.
- [33] S. Suárez, M. Carballa, F. Omil y J. M. Lema, «How are pharmaceutical and personal care products (PPCPs) removed from urban wastewaters?,» *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, vol. 7, pp. 125-138, 2008.
- [34] Knowino, «Absorption (chemistry),» Enero 2011. [En línea]. Available: [https://www.tau.ac.il/~tsirel/dump/Static/knowino.org/wiki/Absorption_\(chemistry\).html](https://www.tau.ac.il/~tsirel/dump/Static/knowino.org/wiki/Absorption_(chemistry).html). [Último acceso: 13 Febrero 2022].
- [35] A. M. Helmenstine, «What Adsorption Means in Chemistry,» ThoughtCo, 7 Agosto 2019. [En línea]. Available: <https://www.thoughtco.com/definition-of-adsorption-605820>. [Último acceso: 13 Febrero 2022].
- [36] M. Carballa, G. Fink, F. Omil, J. M. Lema y T. Ternes, «Determination of the solid–water distribution coefficient (K_d) for pharmaceuticals, estrogens and musk fragrances in digested sludge,» *Water Research*, vol. 42, pp. 287-295, 2008.
- [37] W. Schroeder, O. Lindqvist, J. Munthe y Z. Xiao, «Volatilization of mercury from lake surfaces,» *Science of The Total Environment*, vol. 125, pp. 47-66, 1992.

- [38] M. Moreno-Benito, E. Yamal-Turbay, A. Espuña, M. Pérez-Moya y M. Graells, «Optimal recipe design for Paracetamol degradation by advanced oxidation processes (AOPs) in a pilot plant,» *Computer Aided Chemical Engineering*, vol. 32, pp. 943-948, 2013.
- [39] S. A. Snyder, S. Adham, A. M. Redding, F. S. Cannon, J. DeCarolis, J. Oppenheimer, E. C. Wert y Y. Yoon, «Role of membranes and activated carbon in the removal of endocrine disruptors and pharmaceuticals,» *Desalination*, vol. 202, n° 1-3, pp. 156-181, 2007.
- [40] F. Fernández-Polanco, E. Méndez, M. Urueña, S. Villaverde y P. García, «Spatial distribution of heterotrophs and nitrifiers in a submerged biofilter for nitrification,» *Water Research*, vol. 34, n° 16, pp. 4081-4089, 2000.
- [41] S. Singh y P. Singh, «Effect of temperature and light on the growth of algae species: a review,» *Renewable and Sustainable Energy*, vol. 50, pp. 431-444, 2015.
- [42] F. Almomani, S. Judd, R. R. Bhosale, M. Shurair, K. Aljaml y M. Khraisheh, «Intergraded wastewater treatment and carbon bio-fixation from flue gases using *Spirulina platensis* and mixed algal culture,» *Process Safety and Environmental Protection*, vol. 124, pp. 240-250, 2019.
- [43] P. Chawla, A. Malik, T. R. Sreekrishman, V. Dalvi y D. Gola, «Selection of optimum combination via comprehensive comparison of multiple algal cultures for treatment of diverse wastewaters,» *Environmental Technology & Innovation*, vol. 18, p. 100758, 2020.
- [44] S. Arun, A. Sinharoy, K. Pakshirajan y P. N. Lens, «Algae based microbial fuel cells for wastewater treatment and recovery of value-added products,» *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 132, p. 110041, 2020.
- [45] M. E. Ross, K. Davis, R. McColl, M. S. Stanley, J. G. Day y A. J. Semiao, «Nitrogen uptake by the macro-algae *Cladophora coelothrix* and *Cladophora parriaudii*: Influence on growth, nitrogen preference and biochemical composition,» *Algal Research*, vol. 30, pp. 1-10, 2018.
- [46] P. G. Falkowski y J. A. Raven, «Aquatic Photosynthesis,» *2nd Edition Princeton University Press, New Jersey, USA*, 2007.
- [47] B. Guieysse, M. Plouviez, M. Coilhac y L. Cazali, «Nitrous Oxide (N₂O) production in axenic *Chlorella vulgaris* microalgae cultures: evidence, putative pathways, and potential environmental impacts,» *Biogeosciences*, vol. 10, pp. 6737-6746, 2013.
- [48] K. D. Fagerstone, J. C. Quinn, T. H. Bradley, S. K. D. Long y A. J. Marchese, «Quantitative measurement of direct nitrous oxide emissions from microalgae cultivation,» *Environmental Science and Technology*, vol. 45, pp. 9449-9456, 2011.
- [49] L. Barsanti y P. Gualtieri, *Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology*, Boca Raton: CRC Press, 2006.
- [50] A. Kumar, S. Ergas, X. Yuan, A. Sahu, Q. Zhang, J. Dewulf y F. X. Malcata, «Enhanced CO₂ fixation and biofuel production via microalgae: recent developments and future directions,» *Trends in Biotechnology*, vol. 28, pp. 371-380, 2010.
- [51] O. Pulz, «Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms,» *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 57, pp. 287-293, 2001.
- [52] H. Tamiya, «Mass Culture of Algae,» *Annual Review of Plant Physiology*, vol. 8, pp. 309-334, 1957.

- [53] E. Ansa, H. Lubberding, J. Ampofo y H. Gizijen, «The role of algae in the removal of *Escherichia coli* in a tropical eutrophic lake,» *Ecological Engineering*, vol. 37, pp. 317-324, 2011.
- [54] E. Awuah, F. Anohene, K. Asante, H. Lubberding y H. Gijzen, «Environmental conditions and pathogen removal in macrophyte- and algal-based domestic wastewater treatment systems,» *Water Science & Technology*, vol. 44, pp. 11-18, 2001.
- [55] E. Awuah, «Pathogen Removal Mechanisms in Macrophyte and Algal Waste Stabilization Ponds,» 2006. [En línea]. Available: <https://www.proquest.com/docview/2564852248?pq-origsite=gscholar&fromopenview=true>. [Último acceso: 12 Febrero 2022].
- [56] A. D. Glass, «Regulation of Ion Transport,» *Annual Review of Plant Physiology*, vol. 34, pp. 311-326, 1983.
- [57] H. Znad, A. M. Alketife y S. Judd, «Synergistic effects and optimization of nitrogen and phosphorus concentrations on the growth and nutrient uptake of a freshwater *Chlorella vulgaris*,» *Environmental Technology*, vol. 38, pp. 94-102, 2017.
- [58] N. T. Eriksen, «The technology of microalgal culturing,» *Biotechnology Letters*, vol. 30, pp. 1525-1536, 2008.
- [59] T. Cai, S. Y. Park y Y. Li, «Nutrient recovery from wastewater streams by microalgae: Status and prospects,» *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 19, pp. 360-369, 2013.
- [60] J. Glass, F. Wolfe-Simon y A. Anbar, «Coevolution of metal availability and nitrogen assimilation in cyanobacteria and algae,» *Geobiology*, vol. 7, pp. 100-123, 2009.
- [61] C. Crofcheck, E. Xinyi, A. Shea, M. Montross, M. Crocker y R. Andrews, «Influence of media composition on the growth rate of *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus acutus* utilized for CO₂ mitigation,» *Journal of Biochemical Technology*, vol. 4, pp. 589-594, 2012.
- [62] A. L. Gonçalves, J. C. Pires y M. Simões, «A review on the use of microalgal consortia for wastewater treatment,» *Algal Research*, vol. 24, pp. 403-415, 2017.
- [63] M.E.Martínez, J. Jiménez y F. E. Yousfi, «Influence of phosphorus concentration and temperature on growth and phosphorus uptake by the microalga *Scenedesmus obliquus*,» *Bioresource Technology*, vol. 67, pp. 233-240, 1999.
- [64] S. S., «Fosforilacion oxidativa,» [En línea]. Available: https://www.academia.edu/7347177/Fosforilacion_oxidativa. [Último acceso: 13 Febrero 2022].
- [65] J. Feher, *Quantitative Human Physiology*, Academic Press, 2017.
- [66] QUIMICA, «Fotofosforilación,» [En línea]. Available: <https://www.quimica.es/enciclopedia/Fotofosforilaci%C3%B3n.html>. [Último acceso: 13 Febrero 2022].
- [67] R. Liu, S. Li, Y. Tu y X. Hao, «Capabilities and mechanisms of microalgae on removing micropollutants from wastewater: A review,» *Journal of Environmental Management*, vol. 285, p. 112149, 2021.
- [68] C. Ugwu, H. Aoyagi y H. Uchiyama, «Photobioreactors for mass cultivation of algae,» *Bioresource Technology*, vol. 99, pp. 4021-4028, 2008.

- [69] C. Posten y G. Schaub, «Microalgae and terrestrial biomass as source for fuels—A process view,» *Journal of Biotechnology*, vol. 142, pp. 64-69, 2009.
- [70] C. Posten, «Design principles of photo-bioreactors for cultivation of microalgae,» *Engineering in Life Sciences*, 30 Julio 2009. [En línea]. Available: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/elsc.200900003>. [Último acceso: 12 Febrero 2022].
- [71] O. Pulz, «Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms,» *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 57, pp. 287-293, 2001.
- [72] Y.-K. Lee, «Microalgal mass culture systems and methods: Their limitation and potential,» *Journal of Applied Phycology*, vol. 13, pp. 307-315, 2001.
- [73] L. Xu, P. J. Wseathers, X.-R. Xiong y C.-Z. Liu, «Microalgal bioreactors: Challenges and opportunities,» *Engineering in Life Sciences*, 30 Julio 2009. [En línea]. Available: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/elsc.200800111>. [Último acceso: 12 Febrero 2022].
- [74] AGUASRESIDUALES.INFO, «Tratamiento y valorización de aguas residuales mediante microalgas,» 27 Juio 2016. [En línea]. Available: <https://www.aguasresiduales.info/revista/articulos/tratamiento-y-valorizacion-de-aguas-residuales-mediante-microalgas>. [Último acceso: 9 Marzo 2022].
- [75] I. Moreno-Garrido, «Microalgae immobilization: Current techniques and uses,» *Bioresource Technology*, vol. 99, pp. 3949-3964, 2008.
- [76] N. Qureshi, B. A. Annous, T. C. Ezeji, P. Karcher y I. S. Maddox, «Biofilm reactors for industrial bioconversion processes: employing potential of enhanced reaction rates,» *Microbial Cell Factories*, 25 Agosto 2005. [En línea]. Available: <https://microbialcellfactories.biomedcentral.com/articles/10.1186/1475-2859-4-24>. [Último acceso: 12 Febrero 2022].
- [77] Z. Yu, H. Pei, Y. Li, Z. Yang, Z. Xie, Q. Hou y C. Nie, «Inclined algal biofilm photobioreactor (IABPBR) for cost-effective cultivation of lipid-rich microalgae and treatment of seawater-diluted anaerobically digested effluent from kitchen waste with the aid of phytohormones,» *Bioresource Technology*, vol. 315, p. 123761, 2020.
- [78] Z. Yang, H. Pei, Q. Hou, L. Jiang, L. Zhang y C. Nie, «Algal biofilm-assisted microbial fuel cell to enhance domestic wastewater treatment: Nutrient, organics removal and bioenergy production,» *Chemical Engineering Journal*, vol. 332, pp. 277-285, 2018.
- [79] Y. Su, A. Mennerich y B. Urban, «The long-term effects of wall attached microalgal biofilm on algae-based wastewater treatment,» *Bioresource Technology*, vol. 218, pp. 1249-1252, 2016.
- [80] Badis, «Fitoplancton Microfauna, Lunaqua,» [En línea]. Available: <https://badis.es/catalogo/9259-fitoplancton-microfauna-lunaqua.html>. [Último acceso: 9 Febrero 2022].
- [81] Seleok, «Abono Para Plantas Versol 500ml,» [En línea]. Available: <https://www.seleok.es/abono-para-plantas8423537002927.html>. [Último acceso: 8 Febrero 2022].
- [82] EHEIM, «EHEIM air100,» [En línea]. Available: https://eheim.com/es_ES/acuariofilia/tcnica/bombas-de-aire/air/air100. [Último acceso: 4 Marzo 2022].
- [83] J. I. Angulo Terry, *Estudio comparativo de iluminación con luz incandescente y luz led en el cultivo de gyrophila*, Huaraz, Ancash, 2020.

- [84] Utex, «BG-11 Medium Recipe,» Marzo 2009. [En línea]. Available: <https://utex.org/products/bg-11-medium?variant=30991786868826>. [Último acceso: 6 Febrero 2022].
- [85] S. F. Mohsenpour, S. Hennige, N. Willoughy, A. Adeloye y T. Gutierrez, «Integrating microalgae into wastewater treatment: A review,» *Science of The Total Environment*, vol. 752, p. 142168, 2021.
- [86] M. &. Eddy, *Wastewater Engineering: Treatment and Resource Recovery*. 5th Edition, Nueva York: McGraw-Hill, 2014.
- [87] H. N. P. Vo, H. H. Ngo, W. Guo, K. H. Nguyen, S. W. Chang, D. D. Nguyen, Y. Liu, Y. Liu, A. Ding y X. T. Bui, «Micropollutants cometabolism of microalgae for wastewater remediation: Effect of carbon sources to cometabolism and degradation products,» *Water Research*, vol. 183, p. 115974, 2020.
- [88] J. Manrique y F. Martínez, «Solubility of Ibuprofen in Some Ethanol + Water Cosolvent Mixtures at Several Temperatures,» *Latin American Journal of Pharmacy*, vol. 26, nº 3, pp. 344-354, 2007.
- [89] akralab, «Turbidímetro portátil XS TN3024,» [En línea]. Available: <https://www.akralab.es/producto/turbidimetro-portatil-xs-tn3024/>. [Último acceso: 20 Febrero 2022].
- [90] Britannica, «chlorophyll,» [En línea]. Available: <https://www.britannica.com/science/chlorophyll>. [Último acceso: 20 Febrero 2022].
- [91] R. Devesa, A. Moldes, F. Díaz-Fierros y M. Barrala, «Extraction study of algal pigments in river bed sediments by applying factorial designs,» *Talanta*, vol. 72, nº 4, pp. 1546-1551, 2007.
- [92] Britannica, «pH,» [En línea]. Available: <https://www.britannica.com/science/pH>. [Último acceso: 20 Febrero 2022].
- [93] HANNA Instruments, «EDGE Dedicated, pHmetro pH/ORP,» [En línea]. Available: https://www.hannainst.es/parametros/4252-edge-ph-orp-temperatura.html#/560-electrodo-usos_generales_vidrio_hi11310. [Último acceso: 20 Febrero 2022].
- [94] S. Sunaric, M. Petkovic, M. Denic, S. Mitic y A. Pavlovic, «Determination of ibuprofen in combined dosage forms and cream by direct UV spectrophotometry after solid-phase extraction,» *Acta Poloniae Pharm. Drug Res.*, vol. 70, pp. 403-411, 2013.
- [95] labbox, «Trypticasein Soy Agar (TSA) BAC PH. EUR.,» [En línea]. Available: <https://ien.labbox.com/product/trypticasein-soy-agar-tsa-bac-ph-eur/>. [Último acceso: 3 Febrero 2022].
- [96] BATTLE, «Césped Universal Multiusos,» [En línea]. Available: <https://semillasbatlle.com/productosbatlle/cespedes/semillas-cespedes/cesped-universal-multiusos/>. [Último acceso: 4 Marzo 2022].
- [97] F. Zucconi, A. Monaco, M. Forte y M. D. Bertoldi, «Phytotoxins during the stabilization of organic matter,» *Composting of agricultural and other wastes*, pp. 73-86, 2013.
- [98] R. Devesa, A. B. Moldes, F. Díaz-Fierros y M. .. Barral, «Toxicity of Anllóns River Sediment Extracts Using Microtox and the Zucconi Phytotoxicity Test,» *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 80, pp. 225-230, 2008.

- [99] J. Dafonte, H. Dopico, J. Samper, L. Montenegro, B. Pisani, A. Mon y A. Naves, «Drenaje ácido de aguas lixiviadas desde el terraplén del aparral de la autovía AG-64 (As Pontes, A Coruña),» Noviembre 2019. [En línea]. [Último acceso: 14 Marzo 2022].
- [100] C. Bennouna, «The pH, a major parameter for your microalgae cultures,» Synoxis-algae, 16 Abril 2019. [En línea]. Available: <https://www.synoxis-algae.com/the-ph-a-major-parameter-for-your-microalgae-cultures/>. [Último acceso: 10 Marzo 2022].
- [101] L. Delgadillo-Mirquez, F. Lopes, B. Taidi y D. Pareau, «Nitrogen and phosphate removal from wastewater with a mixed microalgae and bacteria culture,» *Biotechnology Reports*, vol. 11, pp. 18-26, 2016.
- [102] K. Larsdotter, J. I. C. Janser y G. Dalhammar, «Phosphorus removal from wastewater by microalgae in Sweden – a year-round perspective,» *Environmental Technology*, vol. 31, nº 2, pp. 117-123, 2010.
- [103] ICASA, «Tira LED RGB con carcasa rígida plástica,» [En línea]. Available: <https://www.icasa.com/producto/tira-led-rgb-con-carcasa-rigida-plastica/>. [Último acceso: 8 Marzo 2022].
- [104] M. Carballa, F. Omil, J. M. Lema, M. Llompart, C. García-Jares, I. Rodríguez, M. Gómez y T. Ternes, «Behavior of pharmaceuticals, cosmetics and hormones in a sewage treatment plant,» *Water Research*, vol. 28, pp. 2918-2926, 2004.
- [105] M. Clara, B. Strenn, O. Gans, E. Martinez, N. Kreuzinger y H. Kroiss, «Removal of selected pharmaceuticals, fragrances and endocrine disrupting compounds in a membrane bioreactor and conventional wastewater treatment plants,» *Water Research*, vol. 29, pp. 4797-4807, 2005.
- [106] M. Hijosa-Valsero, V. Matamoros, R. Sidrach-Cardona, J. Martín-Villacorta, E. Bécares y J. Bayona, «Comprehensive assessment of the design configuration of constructed wetlands for the removal of pharmaceuticals and personal care products from urban wastewaters,» *Water Research*, vol. 44, pp. 3669-3678, 2010.
- [107] R. Salgado, R. Marques, J. P. Noronha, J. T. Mexia, G. Carvalho, A. Oehmen y M. A. M. Reis, «Assessing the diurnal variability of pharmaceutical and personal care products in a full-scale activated sludge plant,» *Environmental Pollution*, vol. 159, pp. 2359-2367, 2011.

ANEXO I: MEDICIÓN DEL N



Figura A1-0-1 Medición N (Parte 1)

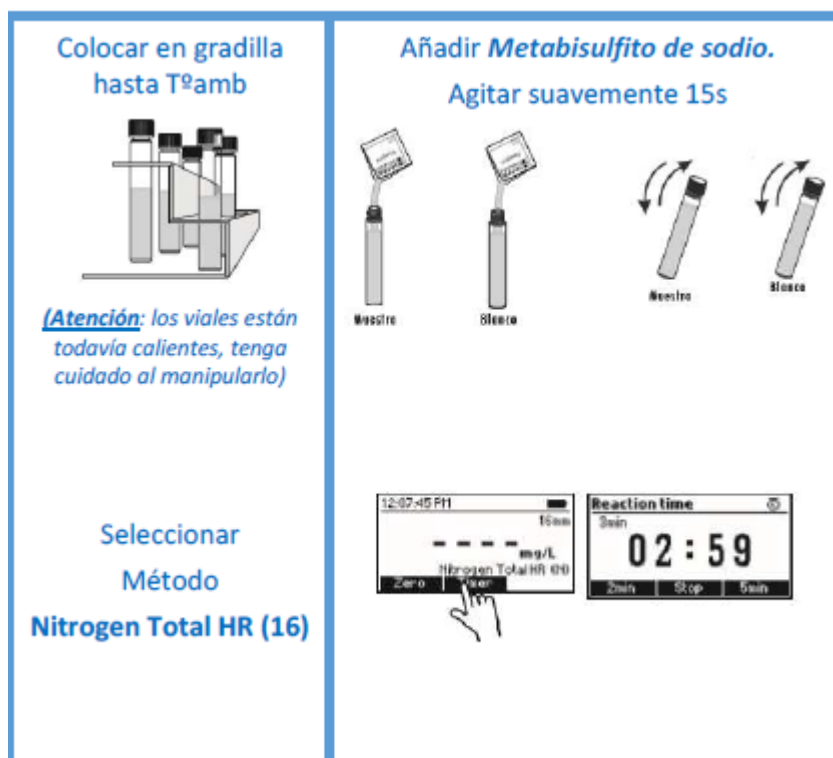


Figura A1-0-2 Medición N (Parte 2)



Figura A1-0-3 Medición N (Parte 3)

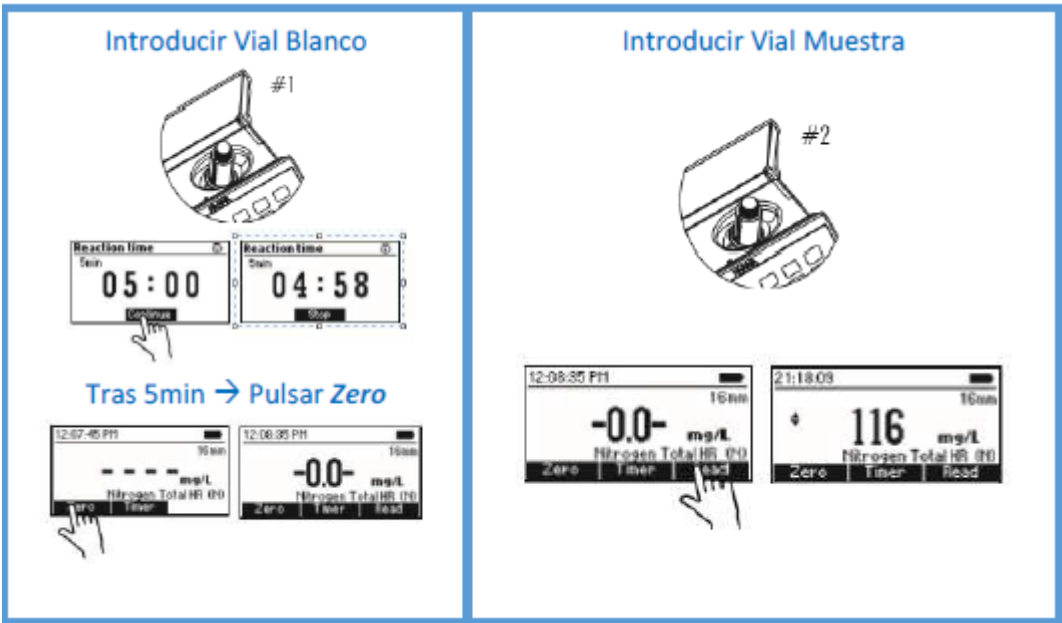


Figura A1-0-4 Medición N (Parte 4)

ANEXO II: AIREADOR EHEIM AIR100

Este anexo especifica las características y propiedades del aireador EHEIM air100 (Figura A2-0-1).

Con el EHEIM air se ha conseguido crear un compresor de aire con un funcionamiento muy silencioso, algo esperado por muchos desde hace ya mucho tiempo. Existen 3 modelos con un rendimiento de la bomba de 100, 200 (2x 100) y 400 (2x200) L/h. El empleado en el estudio ha sido el más pequeño, el air100. Este viene con tan solo una salida de aire regulable. De acuerdo con eso, existe un difusor EHEIM y una válvula antirretorno dentro del embalaje. La cantidad de aire por salida se puede regular directamente en el aparato, así como en el propio difusor. De esta manera, es posible adaptar la salida de aire y el tamaño de las burbujas a gusto del consumidor. Además, gracias a los pies de goma anti-vibraciones de los que dispone la bomba de aire se consigue que ésta se mantenga quieta en el sitio en el que se fije y no se mueva, así como que su funcionamiento sea silencioso. Se puede colocar en la pared con la práctica tira de goma.



Figura A2-0-1 Aireador EHEIM air100 [82]

Entre las ventajas de este aireador, cabe destacar:

- ✓ Funcionamiento muy silencioso
- ✓ Larga vida útil, óptima calidad
- ✓ Cantidad de aire por salida individualmente regulable en el aparato
- ✓ Cantidad de aire y tamaño de burbujas regulables en el difusor EHEIM
- ✓ Equipado completamente con, en el caso del aire100:
 - ❖ 1 difusor
 - ❖ 1 manguera de aire
 - ❖ 1 válvula antirretorno
 - ❖ Pies de goma anti-vibraciones
 - ❖ Práctica tira para colgar en la pared
 - ❖ Difusor con almohadilla reemplazable

El aireador presenta, asimismo, las siguientes características:

- ✓ Potencia bomba (50Hz): 100 L/h
- ✓ Altura bombeo (50Hz): 2 m
- ✓ Consumo eléctrico (50Hz): 3,5 W

- ✓ Diámetro manguera de salida: 4 mm
- ✓ Alto: 150 mm
- ✓ Ancho: 92 mm
- ✓ Fondo: 76 mm
- ✓ Agua dulce: Sí
- ✓ Agua salada: Sí

ANEXO III: KIT LED CARCASA RÍGIDA ICA

Este anexo especifica las características y propiedades del Kit LED carcasa rígida ICA (Figura A3-0-1).

Las nuevas tiras LED RGB han sido diseñadas pensando en los requisitos lumínicos específicos de las plantas para proporcionales todo el espectro necesario para que crezcan saludablemente y realcen sus colores. ICA ha decidido renovarse y adaptarse a lo que es el futuro de la acuariofilia apostando por el LED, destacando, entre otros aspectos, su bajo consumo 5 veces menor comparado a otros sistemas de iluminación similares, pero que no ofrecen la misma potencia.

Estas tiras sirven tanto para aumentar la potencia de nuestro acuario como para complementar otra pantalla que se tenga. Su tecnología LED se basa en el RGB, RED (rojo), GREEN (verde) y BLUE (azul). Cada uno de los LED de la tira es individual y no triple como de costumbre, lo que proporciona mayor potencia a la tira.

Su envoltente carcasa rígida cuenta con una placa de aluminio interna que disipa el calor del LED mejorando la vida útil de los componentes. Su sellado completo le da seguridad y evita que entre agua en su interior, tanto humedad como si se llegara a caer dentro del acuario. El kit para colgar viene con cintas de doble cara ultra resistentes y unos clips que permiten engancharla con facilidad.

Aunque especialmente diseñado para plantas, estas tiras sirven también para acuarios de agua salada, sobre todo son realmente beneficiosas en refugios de algas, donde crecerán con mayor rapidez.

CONTIENE: Adaptador Input 240VAC Output 12VDC, interruptor ON/OFF, tira de LED en placa de aluminio, carcasa rígida plástica, colgantes y cinta adhesiva de doble cara.



Figura A3-0-1 Luz LED carcasa rígida ICA [103]

ANEXO IV: CÁLCULOS DE SÓLIDOS EN SUSPENSIÓN

Cálculo SS en el reactor principal: en primer lugar se hallan los diferentes pesos del filtro en cada etapa, presentados en la Tabla A4-0-1.

Muestra	Fecha	Hora	Filtro LIMPIO [g]	Filtro SECADO [g]	Filtro QUEMADO [g]
M1	2/02/2022	17:00:00	2,0244	2,0254	2,0252
M2	3/02/2022	17:00:00	2,0378	2,0383	2,0382
M3	4/02/2022	17:00:00	2,0433	2,0439	2,0433
M4	5/02/2022	17:00:00	2,0405	2,0408	2,0406
M5	7/02/2022	14:00:00	2,0527	2,053	2,0541
M6	8/02/2022	14:00:00	2,0317	2,0322	2,0317
M7	9/02/2022	19:00:00	2,0245	2,0263	2,0254
M8	11/02/2022	18:30:00	2,0393	2,0449	2,0413
M9	14/02/2022	13:00:00	2,0448	2,0511	2,0461
M10	17/02/2022	10:00:00	2,0519	2,0634	2,0552

Tabla A4-0-1 Valores del filtro de los SS (RP)

Para estos datos, se han tomado un par de consideraciones, ambas debidas a la mínima cantidad de SS durante los primeros días del cultivo y el muy pequeño margen de error. En primer lugar, para los valores en rojo claro se asumió que el peso del filtro limpio y el del filtro quemado eran el mismo en ambos casos. En segundo lugar, están los datos de la muestra M5, en rojo oscuro. Estos datos se decidieron descartar, ya que carecían de sentido al presentar el filtro un supuesto mayor peso tras quemarse que antes de hacerlo. A continuación, y haciendo uso de las fórmulas explicadas en el apartado 3.3.2, se hallan los SST, SSV y SSI, expresados en la Tabla A4-0-2.

Muestra	SST [g]	SSV [g]	SSI [g]
M1	0,0010	0,0002	0,0008
M2	0,0005	0,0001	0,0004
M3	0,0006	0,0006	0,0000
M4	0,0003	0,0002	0,0001
M5	0,0003	-0,0011	0,0014
M6	0,0005	0,0005	0,0000
M7	0,0018	0,0009	0,0009
M8	0,0056	0,0036	0,0020
M9	0,0063	0,005	0,0013
M10	0,0115	0,0082	0,0033

Tabla A4-0-2 Valores de los SS en gramos (RP)

Cálculo SS en la fase experimental: al igual que en el caso anterior, en primer lugar se hallan los diferentes pesos del filtro en cada etapa, presentados en la Tabla A4-0-3.

		Filtro LIMPIO [g]	Filtro SECADO [g]	Filtro QUEMADO [g]
T=0	R. Todo	2,0389	2,0452	2,0404
	R. Oscuro	2,0434	2,0491	2,0452
	R. Muertas	2,0396	2,0466	2,0434
	R. Abiótico	-	-	-
T=2	R. Todo	2,0248	2,0366	2,0263
	R. Oscuro	2,0322	2,0409	2,0333
	R. Muertas	2,0472	2,0513	2,0479
	R. Abiótico	-	-	-
T=4	R. Todo	2,0391	2,0542	2,0413
	R. Oscuro	2,0448	2,0598	2,0478
	R. Muertas	2,0401	2,0455	2,0410
	R. Abiótico	2,0527	2,0544	2,0529
T=6	R. Todo	2,0248	2,0346	2,0259
	R. Oscuro	2,0312	2,038	2,0324
	R. Muertas	2,0475	2,0521	2,0495
	R. Abiótico	2,0634	2,0647	2,0635
T=8	R. Todo	2,0386	2,0490	2,0397
	R. Oscuro	2,0442	2,0501	2,0446
	R. Muertas	2,0401	2,0436	2,0414
	R. Abiótico	2,0520	2,0532	2,0522
T=9	R. Todo	2,0242	2,0342	2,0249
	R. Oscuro	2,0318	2,036	2,0324
	R. Muertas	2,0476	2,0498	2,048
	R. Abiótico	2,0629	2,0642	2,0632

Tabla A4-0-3 Valores del filtro de los SS (FE)

Como se puede observar en la tabla anterior, los SS se midieron los días pares del experimento y el último día. Además, se decidió comenzar a medir los SS en el reactor ABIÓTICO una vez apreciado el crecimiento del compuesto desconocido dentro del mismo.

Haciendo uso de las fórmulas explicadas en el apartado 3.3.2, se obtienen los valores indicados en la Tabla A4-0-4.

		SST [g]	SSV [g]	SSI [g]
T=0	R. Todo	0,0063	0,0048	0,0015
	R. Oscuro	0,0057	0,0039	0,0018
	R. Muertas	0,0070	0,0032	0,0038
	R. Abiótico	-	-	-
T=2	R. Todo	0,0118	0,0103	0,0015
	R. Oscuro	0,0087	0,0076	0,0011
	R. Muertas	0,0041	0,0034	0,0007
	R. Abiótico	-	-	-
T=4	R. Todo	0,0151	0,0129	0,0022
	R. Oscuro	0,0150	0,012	0,0030
	R. Muertas	0,0054	0,0045	0,0009
	R. Abiótico	0,0017	0,0015	0,0002
T=6	R. Todo	0,0098	0,0087	0,0011
	R. Oscuro	0,0068	0,0056	0,0012
	R. Muertas	0,0046	0,0026	0,002
	R. Abiótico	0,0013	0,0012	0,0001
T=8	R. Todo	0,0104	0,0093	0,0011
	R. Oscuro	0,0059	0,0055	0,0004
	R. Muertas	0,0035	0,0022	0,0013
	R. Abiótico	0,0012	0,001	0,0002
T=9	R. Todo	0,01	0,0093	0,0007
	R. Oscuro	0,0042	0,0036	0,0006
	R. Muertas	0,0022	0,0018	0,0004
	R. Abiótico	0,0013	0,001	0,0003

Tabla A4-0-4 Valores de los SS en gramos (FE)

ANEXO V: DATOS DE LOS PARÁMETROS

En el presente anexo se recogen diferentes datos relacionados con los parámetros medidos durante la fase experimental. Entre estos datos se encontrarán las absorbancia del ibuprofeno, nitrógeno y fósforo, así como la cantidad de FAS requerida en el proceso de medición de la demanda química de oxígeno.

En la Tabla A5-0-1 aparecen indicadas las absorbancias del IBP. Se descartan aquellos valores en rojo ya que siguen una tendencia anómala en comparación con los anteriores, pudiendo estar sujetos a algún error experimental.

Tiempo	GFH	Absorbancia IBP			
		R. TODO	R. OSCURO	R. MUERTAS	R. ABIÓTICO
T=0	17-2-22 20:20	0,845	0,793	0,870	0,771
T=1	18-2-22 8:45	0,823	0,721	0,700	0,651
T=2	19-2-22 15:30	0,604	0,690	0,669	0,646
T=3	20-2-22 17:00	0,598	0,657	0,696	0,634
T=4	21-2-22 14:00	0,596	0,597	0,654	0,659
T=5	22-2-22 9:00	0,528	0,593	0,698	0,636
T=6	23-2-22 18:00	0,478	0,568	0,641	0,608
T=7	24-2-22 9:00	0,441	0,578	0,618	0,625
T=8	25-2-22 18:15	0,418	0,459	0,637	0,566
T=9	26-2-22 18:15	0,379	0,457	0,642	0,586

Tabla A5-0-1 Valores de la absorbancia del IBP (FE)

En la Tabla A5-0-2, aparecen indicadas las absorbancias del N.

Tiempo	GFH	Absorbancia N			
		R. TODO	R. OSCURO	R. MUERTAS	R. ABIÓTICO
T=0	17-2-22 20:20	0,242	0,251	0,237	0,302
T=1	18-2-22 8:45	0,190	0,202	0,218	0,268
T=3	20-2-22 15:00	0,075	0,070	0,143	0,204
T=5	22-2-22 9:00	0,355	0,358	0,441	0,356
T=7	24-2-22 9:00	0,230	0,368	0,417	0,318
T=9	26-2-22 18:15	0,170	0,412	0,413	0,323

Tabla A5-0-2 Valores de la absorbancia del nitrógeno (FE)

En la Tabla A5-0-3, aparecen indicadas las absorbancias del P. Se descartan aquellos valores en rojo ya que siguen una tendencia anómala en comparación con los anteriores y pueden estar sujetos a algún error experimental (tener en cuenta las disoluciones).

Tiempo	GFH	Absorbancia P			
		R. TODO	R. OSCURO	R. MUERTAS	R. ABIÓTICO
T=0	17-2-22 20:20	0,394	0,382	0,196	0,327
T=1	18-2-22 8:45	0,339	0,414	0,231	0,329
T=3	20-2-22 17:00	0,574	0,557	0,835	0,440
T=4	21-2-22 14:00	0,590	0,608	1,048	0,866
T=5	22-2-22 9:00	1,039	1,206	1,328	0,472
T=7	24-2-22 9:00	1,758	2,499	2,497	1,679
T=9	26-2-22 18:15	1,211	1,196	1,386	1,256

Tabla A5-0-3 Valores de la absorbancia del fósforo (FE)

En la Tabla A5-0-4, aparecen indicadas las cantidades de FAS requeridas por cada reactor para la medición de la DQO. Se descartan aquellos valores en rojo por ser demasiado similares al valor del blanco.

Tiempo	GFH	FAS (mL)			
		R. TODO	R. OSCURO	R. MUERTAS	R. ABIÓTICO
T=0	17-2-22 20:20	6,3	6	5,8	5,8
T=1	18-2-22 8:45	6,9	7,1	7	6,6
T=3	20-2-22 17:00	8,8	9,1	8,4	7,6
T=4	21-2-22 14:00	5,5	9,3	6,3	1,1
T=5	22-2-22 9:00	9,9	10,6	10,3	8,8
T=7	24-2-22 9:00	5,8	4,2	3,7	2,3
T=9	26-2-22 18:15	3,7	8	3,9	7,8

Tabla A5-0-4 Valores de cantidad de FAS requerida por cada reactor (FE)