

## **LÍNEA DE INVESTIGACIÓN 2.**

Estudio de la viabilidad técnica y económica de la aplicación de salmueras procedentes de desaladoras para distintos usos (control de heladas, usos industriales, producción de salmueras y sal, etc.). Valorización de salmueras

### **Objeto de la línea de investigación**

Se pretende determinar la viabilidad técnica y económica de la aplicación de salmueras procedentes de desaladoras para distintos usos (Control de heladas, usos industriales, producción de salmueras y sal, etc.) procediendo de este modo a su valorización. Algunas posibles aplicaciones de estas salmueras podrían ser;

- A) para la producción de sal de mesa en salinas de agua de mar
- B) para recuperación ambiental de humedales
- C) para usos industriales (regeneración de resinas, electrocloración, etc.)
- D) para control de heladas
- E) obtención de productos químicos y sales

Para este Línea de Investigación se cuenta con la participación del Instituto del Agua y de las Ciencias Ambientales de la Universidad de Alicante, así como personal propio de Sadyt y Sacyr. Por parte de la Universidad de Alicante, está dirigiendo el proyecto el Prof. Dr. D. Daniel Prats Rico, Director del Instituto del Agua y de las Ciencias Ambientales y persona de reconocido prestigio en el sector del agua en general y el de la desalación en particular.

Durante el año 2007 se realizó una recopilación bibliográfica de todos los posibles usos de salmueras con el objetivo de diseñar alguna experiencia o proceso aplicado de recuperación o utilización.

En 2008 se inició un nuevo estudio en esta línea de investigación por la Universidad de Alicante (Instituto del Agua) sobre el uso de microalgas para aprovechamiento/tratamiento de salmueras, que se presenta completo en el ANEJO 4 del presente documento.

## **Situación actual del proyecto. Estado de desarrollo alcanzado**

Como resultado de los trabajos realizados coordinados por la universidad de Alicante, ya se presentó en el año 2007 el informe de la recopilación bibliográfica / estudio de mercado, en un documento muy bien documentado en el que se estudian las diferentes opciones de gestión. Este estudio no se presenta en este documento, ya que se presentó en el informe anual del año 2008.

En este estudio se analizaron los siguientes aspectos;

1. Uso de la salmuera como fuente de minerales. Balsas de evaporación
2. Uso de la salmuera para acuicultura
3. Uso de la salmuera para la obtención de energía. Balsas solares

En este estudio se analizó de forma preliminar el interés de la utilización de cultivo de microalgas en medios altamente salinos como la salmuera con el objeto de generar compuestos de interés en diversas aplicaciones.

Como consecuencia del citado estudio, y en espera de obtener resultados en otras líneas de investigación que pudieran abrir posibilidades de mercado a algunas de las opciones anteriores, se decidió en 2008 abrir una nueva línea de trabajo basada en el cultivo de microalgas y su capacidad para la reducción de nutrientes y/o sales.

### **Los objetivos principales planteados fueron:**

1. Eliminación de nitratos de la salmuera de desaladora mediante cultivo de microalgas.
2. Posible utilización comercial de las microalgas producidas (suplementos alimenticios, cosmética, celulosa, vitaminas, antioxidantes....)

Para su desarrollo se completaron diferentes etapas:

1. Selección de especies.
2. Optimización del cultivo en laboratorio.
3. Escalado a volúmenes de 2 L en condiciones controladas.

4. Simulación del proceso en exterior en reactores de volumen intermedio
5. Desarrollo de estudios en planta piloto

Durante la anualidad 2008 se llevaron a cabo las etapas 1 a 4, seleccionando las especies mejor adaptadas en condiciones de laboratorio, y realizando la experimentación a escala laboratorio, cuyos resultados preliminares se presentaron ya en el informe técnico correspondiente a dicha anualidad (2008).

De todas las especies investigadas (aisladas en salmuera, en agua marina y agua dulce), solo algunas se consiguieron adaptar al medio altamente salino, y de estas se seleccionaron tres (*Nannochloropsis*, *Scenedesmus* y *Mychonastes*), de las que se observa mayor crecimiento. Posteriormente en los estudios realizados en exterior con salmuera se desarrollaron de forma espontánea otras especies que mostraron unas mejores condiciones de adaptación. *Tetraselmis suecica* fue la especie con la que mejores resultados se obtuvieron en eliminación de nitratos (46,84%) y la cantidad de biomasa obtenida fue bastante importante. Es la especie de mayor tamaño y aunque presenta algunos problemas de sedimentación tiene muchas aplicaciones industriales y ha sido estudiada ampliamente.

En estos estudios preliminares se observó la importancia del factor pH, observándose experimentalmente que el pH sube durante el experimento hasta 9,2. Se vió que este efecto podría minimizarse mediante agitación, o mediante aporte controlado de CO<sub>2</sub>. Se evidenció la pérdida de agua por evaporación que afecta a la salinidad. Se seleccionó la especie *Tetraselmis suecica* para el estudio en planta piloto ya que consigue las mayores tasas de eliminación de nitratos.

De los ensayos llevados a cabo en laboratorio en condiciones controladas, con las especies previamente seleccionadas se extrajeron una serie de conclusiones preliminares que se expusieron en el informe del año 2008, y que sirvieron de base para la planificación de los experimentos a realizar a escala piloto.

Durante la anualidad 2009, se desarrolló el desarrollo de la planta piloto en exterior y se realizaron los estudios experimentales en la misma. El volumen de la planta piloto fue de 120 L.

Se tuvieron en cuenta los principales factores determinantes de la producción masiva de microalgas, que son: Iluminación, concentración de CO<sub>2</sub> disuelto y pH, agitación y concentración de Nitrógeno y fósforo



*Figura 1. Imagen de la planta piloto pre-industrial*

En la planta piloto se realizaron 3 pruebas, que se complementaron con otros 3 experimentos en laboratorio

#### En Planta Piloto

Con el objetivo de estudiar los factores de influencia **en el estanque raceway construido (planta piloto)** se realizaron 3 pruebas:

1. Cultivo en discontinuo/semicontinuo en exterior en planta piloto
2. Optimización de las condiciones de cultivo en interior en planta piloto
3. Cultivo en continuo en interior en planta piloto

#### En cámara de cultivos en el laboratorio

4. Con agua residual procedente de un terciario de MBR como única fuente de nutrientes
5. Con salmuera y agua residual como aporte de fósforo

6. *Dunaliella salina* con salmuera de mar y agua residual

**Resultados en planta piloto.**

En el mes de junio, se puso en marcha un experimento en el exterior de la planta desaladora de la Universidad de Alicante con la especie *Oocystis* que había crecido espontáneamente en el tanque y que fue aislada en el laboratorio y sembrada como monocultivo para iniciar este experimento, alcanzando una densidad máxima de  $5 \cdot 10^6$  y una **reducción de Nitratos del 42%**. La tasa de crecimiento fue de  $0,38 \text{ d}^{-1}$ , y la tasa de dilución óptima fue **40%** por día para mantener el cultivo en su máximo nivel de productividad. Durante la fase de experimentación en exterior se observaron una serie de problemas:

**a- Aumento del pH en el medio:** Debido al consumo de  $\text{CO}_2$  por la producción de algas se eleva el pH a niveles por encima de 9, que produce un efecto de inhibición por la sensibilidad de las algas a un medio demasiado básico y produce precipitación de sales: fosfatos y *sulfatos* dado el alto contenido en iones  $\text{Ca}^{2+}$  de la salmuera. Se obtiene como conclusión la necesidad de controlar el pH

**b- Alta tasa de evaporación:** Debido a las altas temperaturas alcanzadas (max.  $35^\circ$ ) se ha registrado una elevada tasa de evaporación (3 litros por día). Esta tasa de evaporación favorece, junto con el incremento del pH, la precipitación de las sales. Sería necesario añadir agua dulce para compensar la evaporación.

Con el fin de conseguir unas condiciones ambientales menos extremas, comprobar el efecto de la intensidad de iluminación y evitar el problema de evaporación se trasladó la *balsa raceway* al interior del laboratorio, para mantener unas condiciones controladas.



Figura 2: Instalación de la planta piloto en el interior del laboratorio.

Se realizaron una serie de experimentos para evaluar los efectos de variación de la intensidad lumínica (tiene gran efecto sobre el crecimiento por tratarse de un proceso fotosintético, aunque a altas tasas de radiación puede producir el efecto de fotoinhibición) y el tipo de **agitación**. Se midió el crecimiento algal a tres intensidades lumínicas distintas: 20, 30 y 70 W/m<sup>2</sup> que son, en cualquier caso inferiores a los 150 que se alcanza de media en exterior en los meses de verano. No obstante, con la de 70 W/m<sup>2</sup> se alcanza una tasa de crecimiento similar y fue la intensidad seleccionada.

En paralelo, se mantuvieron cultivos de *Tetraselmis* y de *Oocystis* en el exterior con el fin de estudiar el efecto del control de la temperatura y luz controladas. En exterior el crecimiento fue más rápido (mayor intensidad lumínica) y se alcanzó una densidad celular mayor que en interior, resultados que se comprobaron para las dos especies testadas

Tabla 1. Resumen resultados de experimentos en exterior

Especie	Densidad celular máxima (células/ml)	Concentración microalgas máxima (g/l)	Peso celular (pg/célula)	Diámetro (micras)	Nitratos eliminados (mg/l)
<i>Oocystis</i>	629.000	0,054	85,9	2-5	24,5
<i>Tetraselmis</i>	426.000	0,106	196,2	5-10	62,3

Aunque con *Oocystis* se consiguieron densidades celulares mayores su tamaño es menor que el de *Tetraselmis* y la cantidad de biomasa que se obtuvo es también menor así como la eliminación de nitratos. A partir de la tasa de reacción se determinó el tiempo de retención necesario y con éste se calculó el volumen de reactor necesario para tratar un determinado volumen de salmuera.

**La agitación** de la suspensión celular es uno de los requerimientos más importantes en el cultivo que implica una serie de efectos positivos (Anejo 4), por lo que se realizó la agitación del reactor mediante recirculación. Además, se inyectó aire en el medio de cultivo a través de difusores con una bomba de aireación. De esta forma durante los experimentos el pH se mantuvo dentro del rango óptimo (7-9)

Una vez que las condiciones de luz, dilución y agitación fueron optimizadas, se pusieron en marcha los experimentos en continuo, en el interior del laboratorio, que se prolongaron durante 35 días con *Oocystis sp* y 21 días con ***Tetraselmi***. Los resultados se muestran a continuación:

Tabla 2: Resumen de resultados para las dos especies

Espece	Densidad celular media (células/ml)	Biomasa algal media (g/l)	Caudal salida F (l/día)	Producción diaria g/día	Productividad por área g/(m <sup>2</sup> día)	Productividad por área Tm/(ha año)
<i>Oocystis</i>	720000	0,049	46,04	2,25	3,93	14,36
<i>Tetraselmis</i>	305000	0,072	33,46	2,4	4,18	15,25

### **Resultados obtenidos respecto a eliminación de nutrientes**

La eliminación de P y N se basa en que son nutrientes esenciales para la producción de biomasa algal, por lo que su reducción será proporcional a la producción de biomasa.

#### **Fósforo**

Por lo que respecta al **fósforo** la concentración en la salmuera es menor de la necesaria, por lo que fue preciso aportarlo como nutriente. Así, se dosificó fósforo soluble en una concentración de 1 mg/l, que se había determinado

previamente como dosis necesaria. Se realizó un seguimiento de la eliminación del fósforo aportado, siendo la reducción del fósforo soluble superior al 90% al tercer día. Es preciso tener en cuenta posibles precipitaciones de fosfato cálcico (sobre todo a medida que el pH crece por encima de 8,5).

Se ha contemplado la posibilidad de aportar los nutrientes necesarios mediante mezcla con efluente de depuradora, que cuente con un contenido en nutrientes residual. Para ello se realizó un experimento utilizando permeado de una depuradora de tipo Bioreactor de membranas, que contaba con una concentración de fósforo total de 17,52 ppm. Inicialmente se realizó la adaptación de las especies a las nuevas condiciones de cultivo, y a continuación se realizó la dilución correspondiente a 1 mg P /l. En todos los experimentos se dispuso un control con aporte de reactivo de fósforo. El experimento se realizó en condiciones controladas de laboratorio durante 15 días. Tanto para *Tetraselmis* como para *Oocystis* el crecimiento fue mayor en la salmuera con agua residual que en el control. Así pues, como conclusión, se puede extraer que es posible utilizar agua residual como aporte de fósforo.

### **Nitrógeno**

Al igual que fósforo, las algas necesitan nitrógeno para formar su biomasa celular, en una proporción entre el 8-12% de la biomasa, y son capaces de utilizar cualquier fuente de nitrógeno (amonio, nitrito y nitrato) prefiriendo en primer lugar el amonio.

En este caso la única fuente de nitrógeno que pueden utilizar es el nitrato, ya que otras formas de nitrógeno son despreciables en la salmuera.

De los resultados obtenidos se deduce que la eliminación de nitratos es proporcional a la cantidad de algas presentes en el cultivo oscilando en torno al 50% de la biomasa algal presente y siempre que no haya limitación por otros factores como el fósforo o la luz.

La mayor eliminación de nitratos se ha obtenido con la especie *Oocystis sp* en exterior con una reducción de un **42%**, que permitiría, reducir los nitratos por debajo del límite de vertido. Para eliminarlos completamente se necesitaría una mayor densidad de células, alrededor de 1 g/l, que solo se pueden alcanzar en



sistemas cerrados con control de temperatura e inyección de CO<sub>2</sub>. Realizando el proceso en dos etapas se podría mejorar el rendimiento.

Como resumen se muestra la siguiente tabla con los resultados obtenidos:

Tabla 3. Resumen de los resultados obtenidos

Espece	Operación	DCM* (células/ml)	Conc. microalgas máxima (g/l)	Nitratos elimin. (mg/l)	% Nitratos elimin.
<i>Oocystis</i>	Disc. y Semicontinuo	5,06*10 <sup>6</sup>	0,405	136,65	42%
<i>Oocystis</i>	Discontinuo	820000	0,066	31,96	10%
<i>Oocystis</i>	Continuo	720000	0,058	28,06	8%
<i>Tetraselmis</i>	Discontinuo	426000	0,085	41,53	12%
<i>Tetraselmis</i>	Continuo	506000	0,101	49,32	14%

\*DCM: Densidad Celular Máxima

### Separación de las microalgas:

Para completar el proceso de depuración de nutrientes y poder reutilizar la biomasa es necesario separar las microalgas en suspensión del efluente. En general los sistemas de producción de microalgas en los que prima la utilización de la biomasa se utiliza floculación química para concentrar la biomasa y posteriormente la centrifugación.

Puesto que en este caso el objetivo principal es la eliminación de nutrientes, es necesario optar por procesos de separación de bajo coste y que no supongan añadir reactivos químicos que encaren el proceso de depuración y suponen añadir contaminantes al efluente. Es por ello que se han realizado experimento de sedimentación y filtración.

En lo que respecta a los ensayos de **sedimentación** que se han llevado a cabo con conos Imhoff, la microalga *Oocystis* tiene mayor tendencia a la sedimentación que *Tetraselmis*, aunque este proceso sigue siendo lento, por lo que habría que intentar mejorar la velocidad de sedimentación con decantadores lamelares, etc.

Para algunos tipos de microalgas y para aprovechar la biomasa se suele recurrir a la filtración tangencial. También se están desarrollando algunas

patentes novedosas como son los filtros banda con floculación previa. La otra opción más viable y práctica es la utilización de **filtros de lecho granular** con la que se conseguiría un efluente limpio de microalgas, pero la recuperación de éstas requeriría un posterior contralavado y centrifugación. Se han hecho ensayos en el laboratorio como se muestra en la Figura 3.



*Figura 3: Filtración de Oocystis mediante lecho granular*

Se realizaron algunos experimentos de filtración de la especie *Oocystis* con resultados bastante prometedores. Con este tipo de filtración se consigue separar las microalgas del efluente. Posteriormente con el lavado a contracorriente se podrían retirar las microalgas que quedan retenidas en el lecho de arena. Aunque los resultados fueron prometedores, todavía hay que trabajar el sistema de recuperación de las microalgas.

### **Aplicaciones de las microalgas**

En lo que respecta a las aplicaciones de la biomasa hay varias posibilidades, que van desde su no aprovechamiento, enviándolo a vertedero o a gestión del residuo, la utilización de biomasa algal como fertilizante, en alimentación animal... La opción más sencilla y que no exige cumplir normativas específicas es la utilización de la biomasa como energía. Otras aplicaciones interesantes de *Tetraselmis* es en acuicultura, para alimentación de larvas. Para llevar a cabo su comercialización habría que incluir la liofilización del producto. También hay referencias para producción de vitamina E que se encuentra en proporciones de 0,2-1 mg/g peso seco.

## **Resultados y Conclusiones LÍNEA DE INVESTIGACIÓN 2.**

### **Posibles usos y valorización de las salmueras**

Las conclusiones más importantes del proyecto son;

- existen numerosas aplicaciones para las salmueras que pueden ser rentables dependiendo de;
  - o calidad exigida
  - o grado de sequedad
  - o distancia entre productor y usuario
  
- El uso de microalgas como biomasa para la eliminación de ciertas sales (en general nutrientes), se abre como una buena posibilidad de tratamiento de estas salmueras. Los resultados obtenidos, con eliminaciones de nitratos superiores al 45% son realmente esperanzadores. Debe, sin embargo, seguirse trabajando en la línea de búsqueda de aplicaciones de esta biomasa una vez utilizada en la eliminación de nutrientes.