

UNIVERSIDAD DE ALMERIA

ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR

MÁSTER EN INFORMÁTICA INDUSTRIAL

ASPECTOS PRÁCTICOS DE LA PRODUCCIÓN
DE MICROALGAS: OBJETIVOS Y NECESIDADES.

Curso 20011/2012

Alumno/a:

Tomás Lafarga Poyo

Director/es:

José Luis Guzmán Sánchez
José Carlos Moreno Úbeda



UNIVERSIDAD DE ALMERÍA
ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR
Departamento de Lenguajes y Computación



TRABAJO FIN DE MÁSTER
MÁSTER EN INFORMÁTICA INDUSTRIAL
POSGRADO EN INFORMÁTICA

ASPECTOS PRÁCTICOS DE LA PRODUCCIÓN DE
MICROALGAS: OBJETIVOS Y NECESIDADES.

Tomás Lafarga Poyo

Dirigida por: Dr. José Luis Guzmán Sánchez y Dr. José Carlos Moreno Úbeda

Almería, Septiembre 2012

TRABAJO FIN DE MÁSTER
MÁSTER EN INFORMÁTICA INDUSTRIAL
POSGRADO EN INFORMÁTICA



ASPECTOS PRÁCTICOS DE LA PRODUCCIÓN DE
MICROALGAS: OBJETIVOS Y NECESIDADES

por
Tomás Lafarga Poyo

Para la obtención del
Título del Máster en Informática Industrial
Posgrado en Informática

Director

Director

Autor

Dr. José Luis Guzmán Sánchez

Dr. José Carlos Moreno Úbeda

Tomás Lafarga Poyo

*Este trabajo está dedicado a todas
aquellas personas que me han apoyado,
en especial a mi familia y a mis
directores José Carlos y José Luis a
quienes espero haberles respondido*

Aspectos prácticos de la producción de microalgas: objetivos y necesidades

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	PÁGINA 1
II. OBJETIVOS	PÁGINA 3
<i>A. Biorremediación</i>	PÁGINA 4
<i>B. Industria Alimentaria</i>	PÁGINA 6
<i>C. Biocombustibles</i>	PÁGINA 8
III. ESTADO ACTUAL DE LA PRODUCCIÓN	PÁGINA 13
<i>A. Microalgas más comunes</i>	PÁGINA 13
<i>B. Fases del crecimiento microbiano</i>	PÁGINA 14
<i>C. Factores que afectan el crecimiento</i>	PÁGINA 15
<i>D. Modo de operación: Biorreactores</i>	PÁGINA 18
<i>E. Recolección y cosecha</i>	PÁGINA 22
IV. VENTAJAS	PÁGINA 22
V. NECESIDADES	PÁGINA 24
VI. CONCLUSIONES	PÁGINA 26
VII. AGRADECIMIENTOS	PÁGINA 27
VIII. REFERENCIAS	PÁGINA 27

Aspectos Prácticos de la Producción de Microalgas: Objetivos y Necesidades.

Tomás Lafarga Poyo

Máster en Informática Industrial

Postgrado en Informática

Universidad de Almería.

Abstract- Algae technology has attracted scientific interest worldwide during the last years for food production, pharmaceutical and cosmetic industries, cleaning of the environment, bioremediation, or obtaining expensive products such as amino acids, vitamins or biofuels. In order to optimize the biomass production and the potentials of algae, an exhaustive control of the process is needed and in most of the cases, the use of efficient photobioreactors is required. In this work, some of the most common microalgae used in large scale cultivations and their most important products are explained. Algae production, its evolution during the last years, and its future potential applications are discussed.

Resumen-La biotecnología de microorganismos marinos ha tomado gran importancia en el mercado actual, desde sectores como la industria alimentaria, cosmética, farmacéutica, el control medioambiental o la bioremediación hasta la producción de compuestos de elevado valor comercial como aminoácidos, vitaminas o biocombustibles. Para optimizar la producción, así como las características de estos microorganismos y de sus productos, es necesario un amplio control del proceso, por lo que la utilización de fotobiorreactores eficientes es, en la mayoría de los casos, indispensable. En este trabajo se introducirán algunas de las microalgas más utilizadas comercialmente, así como sus principales productos derivados y se discutirá la producción de este tipo de microorganismo desde un punto de vista teórico, su evolución a lo largo de los últimos años y sobre las posibilidades reales de aplicación de este tipo de tecnología de cara al futuro.

Keywords- Algae, biodiesel, biomass, photobioreactors, mass cultivation.

Palabras Clave- Microalgas, biomasa, biodiesel, fotobiorreactores.

I. INTRODUCCIÓN

Puede parecer contradictorio a primera vista decir por un lado, que los procesos de producción de microalgas tienen más de 50 años de antigüedad, y por otro que son uno de los procesos industriales más modernos y con mayor proyección. Esto se debe al amplio rango de posibilidades que esta tecnología presenta, el gran avance de este tipo de tecnología con respecto a otras en los últimos años y a la gran cantidad de productos que se puede obtener a partir de éstas.

Antes de comenzar a estudiar procesos biotecnológicos, hay una serie de conceptos básicos imprescindibles a tener en cuenta y que se describirán a continuación. En primer lugar, se puede definir la biotecnología como el empleo de células vivas para la obtención y mejora de productos útiles, como alimentos, compuestos químicos de interés o medicamentos [1]. A pesar de ser un término actual, la humanidad utiliza la biotecnología desde hace miles de años, aunque hasta la época moderna se utilizaba de un modo empírico y sin base científica. Hasta el desarrollo de la biología moderna, e incluso hasta el siglo XIX, la base de muchos procesos biotecnológicos seguía siendo desconocida. Incluso hasta bien avanzado el siglo XX, con el material genético ya descubierto, las posibilidades que había para actuar sobre éste eran limitadas. En la década de los 70, con el surgimiento de la Ingeniería Genética, y con la posibilidad de crear combinaciones entre organismos no existentes en la naturaleza, se abre un abanico de nuevas posibilidades que lleva a la biotecnología a lo más alto de las nuevas tecnologías de interés industrial.

Dentro del grupo de microorganismos más utilizados en biotecnología, se encuentra el de los organismos fotosintéticos que incluye a plantas, algas y a las bacterias fotosintéticas. Estos microorganismos llevan a cabo la fotosíntesis, que es la manera de transformar la energía solar en energía útil para la vida orgánica en el medioambiente. Dichos organismos usan la energía del sol para combinar agua y CO₂ con el fin de crear sustancias orgánicas generando simultáneamente oxígeno. Tienen, entre otras, la importante función de restaurar el equilibrio de compuestos esenciales como el CO₂ y el O₂ en la biosfera. Se espera que

Tabla 1. Productos obtenidos a partir de Microalgas [18].

Producto	Principal Uso	Valor (dólar/Kg)	Mercado Mundial (Mill. \$)
Phycobiliproteins	Investigación	10000	1-10
	Colorante	100	
β -Caroteno	Provitamina A	500	1-10
	Colorante	300	
Xantofilas	Alimentación	200-500	10-100
Vitamina C	Vitamina	10	10-100
Vitamina E	Vitamina	50	10-100
Polisacáridos	Viscosificante	5-10	10-1000
Aminoácidos			
Prolina		5-50	1-10
Arginina		50-100	1-10
Ácido Aspártico	Adhesivo	2-5	100-1000
Proteínas	Alimentación	10-20	100-2000

la fotosíntesis sea un proceso alternativo eficiente en varios campos; por ejemplo, las microalgas están siendo ampliamente estudiadas porque producen una gran variedad de metabolitos, como los antibióticos.

El presente trabajo se centrará en el estudio de la producción de microalgas: plantas microscópicas, generalmente muy pequeñas para ser detectadas a simple vista, que crecen en pantanos, lagos, océanos, ríos o cualquier sitio donde haya humedad y luz suficiente. Hasta el momento decenas de miles de especies han sido identificadas en todo el mundo, pertenecientes a numerosas familias, clases, órdenes y géneros. Seguramente queden muchísimas por descubrir o reconocer aun. Incluso para una misma especie, hay una enorme diversidad de cepas en respuesta a condiciones ambientales como la intensidad de la luz, pH, temperatura o nutrientes [2]. Las distintas características de cada una de éstas, junto con las ventajas de las actuales técnicas de ingeniería genética, demuestra el amplio radio de posibilidades que estos microorganismos presentan. En la Tabla 1 se presenta un resumen de algunos de los principales productos obtenidos mediante la utilización de estos microorganismos y su valor de mercado dando una idea de la importancia actual de estos procesos biotecnológicos en el mercado mundial.

A pesar de que las microalgas llevan a cabo la fotosíntesis, muchas pueden además usar sustratos orgánicos (e.g. glucosa, ácido acético, fructosa, etc.) en ambientes con luz o hasta en la oscuridad y algunas incluso han evolucionado a no-fotosintéticas y viven permanentemente en la oscuridad [2]. Esta característica puede resultar de gran interés en algunos casos, aunque este trabajo se centrará únicamente en las microalgas fotosintéticas. A continuación, se describen algunas de las principales aplicaciones que estos organismos presentan en la actualidad.

Las emisiones de CO₂ de los países industrializados y el aumento de su concentración en la biosfera son uno de los temas de mayor actualidad y de mayor preocupación en la sociedad actual. Las emisiones de efecto invernadero provocadas por el ser humano, de las cuales el CO₂ ocupa alrededor del 68%, son las responsables del cambio climático global [3]. La combustión de combustibles fósiles genera alrededor de un 66% de la electricidad mundial y

produce aproximadamente un 33% de las emisiones globales de CO₂. En 1997, las Naciones Unidas promovieron la firma del Protocolo de Kioto en Japón, donde más de 170 países se comprometieron a reducir en un 5,2% las emisiones globales de gases de efecto invernadero en comparación con las emisiones de 1990. Se están realizando grandes esfuerzos desde entonces en el desarrollo de métodos para reducir el nivel de CO₂. Básicamente estos se pueden dividir en tres grandes estrategias distintas: la primera basada en reacciones químicas, como el lavado con soluciones alcalinas [4]; la segunda basada en la inyección directa y almacenamiento del CO₂ bajo tierra [5] o bajo el océano [6]; y por último, la más interesante para este proyecto, la eliminación biológica o bioeliminación, utilizando organismos fotosintéticos. A diferencia de la creencia popular, la reducción de CO₂ debido a plantas terrestres contribuye solo en un 3-6%, mientras que las microalgas y cianobacterias que crecen mucho más rápido tienen un rendimiento de fijación de CO₂ 10-50 veces mejor [8]. Durante la década de los 90 por ejemplo, el Gobierno Japonés aprobó un programa para la captura de CO₂ y gases de efecto invernadero mediante microalgas, con una inversión mayor a \$250 millones de dólares. Precisamente, la gran aportación de las microalgas a la reducción de la concentración de CO₂, es uno de las tantas características que hacen que tengan un gran apoyo popular y que hacen de éstas uno de los temas de investigación con mayor crecimiento en la actualidad. Las microalgas han sido históricamente utilizadas como fertilizante, y como fuente de alimentación para humanos y animales [9]. También son utilizadas para el tratamiento secundario de aguas residuales: eliminación de fósforo y nitrógeno, aunque una de sus principales aplicaciones en la industria, y posiblemente la de mayor interés a nivel industrial debido al valor de sus productos, es la de obtención de biocombustibles, componentes químicos o farmacéuticos a partir de su biomasa. La investigación y el desarrollo de los cultivos de microalgas han ido variando en los últimos años, desde temas como los ya explicados a la exploración espacial y a la producción de nuevos biocombustibles [2].

Desde un punto de vista de su composición química, los tres componentes mayoritarios de la biomasa de microalgas son como en cualquier otro organismo vivo, proteínas, carbohidratos y aceites. Durante la Segunda Guerra Mundial,

en Alemania, se observó que muchas especies de algas verdes cuando crecían en un ambiente con limitación de nitrógeno, acumulaban aceite en sus células, llegando a alcanzar concentraciones de aproximadamente un 70% del peso seco [10]. En la Tabla 2, se muestran algunos ejemplos de cultivos con elevadas concentraciones de lípidos. Aunque se probó que la producción de biomasa con altas concentraciones de aceite era posible, la productividad del proceso era relativamente baja. La biosíntesis de aceite hasta obtener concentraciones de interés era muy lenta, pudiendo tardar días o incluso semanas. Desde entonces se han realizado numerosos estudios (especialmente en Estados Unidos), aunque el problema de obtener altos rendimientos en la producción de lípidos a partir de microalgas es aún un problema sin resolver y una de las áreas de investigación de mayor interés. La razón de este gran interés por obtener altas concentraciones de aceite se debe a que éste puede ser utilizado para la producción de biodiesel. El biodiesel se produce a partir de aceites vegetales y/o grasas animales y metanol o etanol. Las materias primas más comúnmente utilizadas son aceites vegetales usados, aceite de soja, aceite de colza, de maíz o girasol. La utilización de materias primas de consumo humano para la producción de biodiesel y el dramático aumento de precios que esto ha provocado [11], llevó al debate “Comida Vs. Combustibles”, a partir del cual, la utilización de microalgas para la producción de biodiesel cobró gran importancia.

Tabla 2. Contenido de lípidos en distintas microalgas [19].

Microorganismo	Lípidos (% peso seco)
<i>Botryococcus braunii</i>	25-75
<i>Chlorella sp.</i>	28-32
<i>Cryptocodinium cohnii</i>	20
<i>Cylindrotheca sp.</i>	16-37
<i>Dunaliella primoleta</i>	23
<i>Isochrysis sp.</i>	25-33
<i>Monallanthus salina</i>	>20
<i>Nannochloris sp.</i>	20-35
<i>Nannochloropsis sp.</i>	31-68
<i>Neochloris oleoabundans</i>	35-54
<i>Nitzschia sp.</i>	45-47
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	20-30
<i>Schizochytrium sp.</i>	50-77
<i>Tetraselmis suecica</i>	15-23
<i>B. braunii</i>	25-75

Otro producto de gran valor comercial obtenido a partir de microalgas es el bioetanol, donde las microalgas se utilizan como materia prima en el proceso de fermentación. Las microalgas producen carbohidratos (en forma de glucosa, almidón u otro polisacárido) y proteínas que pueden ser utilizados como fuente de carbono en una fermentación con bacterias o levaduras [12]. Una de las ventajas más importantes a nivel industrial que presenta la producción de bioetanol es que el proceso requiere menor consumo energético que el de producción de biodiesel. Por otro lado, el CO₂ producido como subproducto en el proceso de fermentación puede ser reutilizado como materia prima en el cultivo de microalgas reduciendo por lo tanto la emisión de gases de efecto invernadero. La cantidad de productos de

elevado valor añadido obtenido a partir de estos microorganismos, la gran cantidad de estudios que se están llevando a cabo en la actualidad en todo el mundo, junto con la cantidad de desafíos que se presentan al llevar a cabo este tipo de procesos han sido la principal motivación para la realización de este trabajo. A pesar de que puede parecer un problema relativamente sencillo, en el cultivo de microalgas se plantean una serie de desafíos realmente difíciles e interesantes como (i) impedir o minimizar la contaminación, por microorganismos o sustancias ajenas al medio, (ii) proporcionar un suministro eficiente de CO₂ y de luz (iii) controlar correctamente las condiciones del reactor, (iv) reducir el capital invertido así como los costes de operación, y por último, (v) la reducción de los requisitos de espacio. El objetivo de este trabajo es dar a conocer estos microorganismos y sus sistemas de producción desde un punto de vista teórico, viendo cómo ha evolucionado la biotecnología de microalgas en los últimos años hasta el estado actual de la producción, sus ventajas e inconvenientes y dar una idea de cuáles son las posibles aplicaciones reales de este tipo de tecnología de cara al futuro.

En primer lugar, se describirán en detalle los principales productos y las principales aplicaciones a nivel industrial de la biomasa de microalgas centrándose en la producción de biocombustibles, en especial del biodiesel. Es muy importante tener en cuenta que existe una relación directa entre el producto que se desea obtener, la especie, e incluso la cepa de microalga utilizada y el tipo de reactor en que se cultiva. En segundo lugar, se analizará el estado actual de la producción, los biorreactores más comunes a nivel industrial y de investigación, y sus características más significativas. Por último, se presentarán las principales ventajas de este tipo de tecnología, desde un punto de vista económico y de variedad de productos, así como un resumen de la tendencia actual de la investigación y sus posibles aplicaciones en el futuro.

II. OBJETIVOS

El objetivo de todo proceso industrial es el de la obtención de ganancias económicas, lo cual se obtiene generando un producto de elevado valor en el mercado a partir de materias primas más baratas. Como se ha explicado anteriormente, la gran variedad de cepas existentes y la posibilidad de modificar sus características controlando las condiciones del proceso o bien mediante técnicas de ingeniería genética, hacen que la variedad de productos que se pueden obtener a partir de microorganismos, y en especial de microalgas, sea realmente impresionante. Sus usos, como ya se ha descrito con anterioridad, varían desde la agricultura, nutrición humana, alimentación animal, la industria farmacéutica o la biorremediación, hasta la obtención de compuestos orgánicos complejos como el biodiesel.

En este apartado se verán algunos de los principales productos, algunas de las aplicaciones más importantes obtenidas mediante biotecnología y algunos datos de interés

Tabla 3. Comparación entre las características de crecimiento y fijación de CO₂ para distintas especies de microalgas [3].

Especie	CO ₂ (%)	Temp (°C)	NO _x /SO _x (mg/L)	Tasa de crecimiento (1/d)	Productividad de biomasa (mg/L.día)	Tasa de consumo de CO ₂ (mg/L.día)
<i>Nannochloris sp.</i>	15	25	0/50	-	350	658
<i>Nannocloropsis sp.</i>	15	25	0/50	-	300	564
<i>Chlorella sp.</i>	50	35	60/20	-	950	1790
<i>Chlorella sp.</i>	20	40	-	5.76	700	1316
<i>Chlorella sp.</i>	50	25	-	-	386	725
<i>Chlorella sp.</i>	15	25	0/60	-	1000	1880
<i>Chlorella sp.</i>	50	25	-	-	500	940
<i>Chlorogleopsis sp.</i>	5	50	-	0.65	40	20.45
<i>Hot spring algae</i>	15	50	-	3	266,7	501,3
<i>Chlorocuccum littorale</i>	50	22	-	0.95	44	82

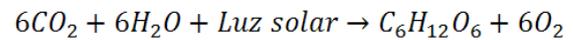
sobre las aplicaciones de estos microorganismos y del estado actual de la producción.

A. Biorremediación

Actualmente se está viviendo una etapa de cambio a nivel global en la que desaparecen alrededor de 30.000 especies anualmente debido a la actividad humana y la alteración de los procesos biogeoquímicos que esta genera en la biosfera [31]. Cada vez son más las empresas utilizando la biotecnología en el área de la prevención, con el fin de reducir el impacto ambiental. El constante aumento de la población lleva asociado un aumento en la producción y a su vez un aumento en la contaminación de los ecosistemas. Las emisiones de CO₂ de los países industrializados y el continuo aumento de su concentración en el medioambiente son uno de los temas de mayor preocupación en la sociedad actual. El CO₂ ocupa alrededor del 68% de las emisiones de gases de efecto invernadero, las responsables del cambio climático global [3]. Las microalgas y cianobacterias marinas juegan un papel importantísimo en el control del cambio climático y en la descontaminación del medioambiente. Las microalgas son utilizadas en la actualidad en infinidad de procesos de biorremediación, entre los que destacan el tratamiento de aguas residuales, la reducción del CO₂ y el saneamiento de ecosistemas marinos contaminados.

Un gran número de trabajos e investigaciones durante los últimos años tienen como fin la reducción de las emisiones de CO₂ que en 2010 llegaron a su techo histórico. Como se ha comentado anteriormente, las estrategias de reducción de CO₂ se pueden clasificar en tres grupos: (i) lavado con soluciones alcalinas o carbón activo, (ii) inyección directa bajo tierra o directamente en el océano o (iii) la utilización de microorganismos que transformen biológicamente, mediante la fotosíntesis, por ejemplo, el CO₂ en otros componentes orgánicos más complejos. Mediante la utilización de microorganismos, se utiliza el CO₂ emitido al medio como fuente de carbono y es transformado en sustancias como medicamentos, cosméticos, alimentos o biocombustibles que alcanzan elevados precios en el mercado. Se puede combinar esta tecnología con el tratamiento de aguas residuales que se tratarán más adelante para obtener productos de elevado valor añadido utilizando materias primas gratuitas [48] y favoreciendo a la reducción de la contaminación. La fotosíntesis ha existido y acondicionado el medioambiente durante los últimos 3.500

millones de años [3]. Plantas y microorganismos fotosintéticos como las microalgas o cianobacterias convierten la energía solar en energía química mediante la siguiente reacción:



Esta reacción es compleja y se lleva a cabo en 2 etapas, reacciones que solo se llevan a cabo con presencia de luz, y reacciones de fijación del CO₂ que suceden en presencia y en ausencia de luz. Además de la intensidad lumínica, la calidad de la luz es importante en el proceso y será uno de los parámetros más determinantes. Los cultivos de microalgas se utilizan para transformar carbono inorgánico (Ci) y CO₂ en energía química. La principal ventaja de estos métodos es la velocidad con que se reproducen estos microorganismos y su posibilidad de producir compuestos con valor comercial. Dentro de las microalgas y cianobacterias más comunes utilizadas para el control de las emisiones de CO₂ se encuentran *Botryococcus braunii*, *Chlorella vulgaris*, *Chlorella kessleri*, *Chlorocuccum littorale*, *Scenedesmus sp.*, *Chlamydomonas reinhardtii* y *Spirulina sp* [3]. En la Tabla 3 se presenta una comparación de las características de crecimiento y de fijación de CO₂ operando con diferentes concentraciones de CO₂, temperatura y contenidos de NO_x y SO_x. Ya que la fijación del CO₂ depende del crecimiento fotoautotrófico de las células, la capacidad de fijación de las especies se puede correlacionar con su crecimiento celular y con la eficacia de la captación solar. Es decir, las especies que pueden crecer correctamente con ciclos de luz natural día-noche pueden ser utilizadas para grandes cultivos al aire libre en sistemas abiertos de producción, como se analizara más adelante. Se suelen utilizar además especies que pueden utilizar el gas de emisión de las industrias directamente sin necesidad de tratamientos previos [50]. Algunas especies pueden presentar inhibición por CO₂ o componentes tóxicos como NO_x o SO_x [3], tal como se observa en la Tabla 3. Algunos cultivos de *Chlorella* y de cianobacterias pueden crecer correctamente en concentraciones relativamente altas de CO₂ sin presentar inhibición en su crecimiento y obteniendo productividades de biomasa y de consumo de CO₂ altas. El factor más limitante en este tipo de procesos es la luz. La relación de luz recibida y captada por las células tiene una relación directa con la cantidad de CO₂ retenido [3], por lo tanto, maximizando la utilización de la luz se

podrá maximizar la utilización del CO₂. La elección correcta de microalga (hay microorganismos modificados genéticamente para optimizar la captación de luz), y de biorreactor optimizando la recepción de la luz y minimizando la pérdida de energía es indispensable para que los procesos de captación de CO₂ sean rentables económicamente y se lleven a cabo. En la Figura 1 se presenta una imagen de una planta piloto para la captura de CO₂ en la central eléctrica de *Endesa* en Carboneras, Almería.



Figura 1. Planta piloto para la captura de CO₂ mediante microalgas de *Endesa* en Carboneras (Almería)

Para la utilización del CO₂ en una corriente gaseosa, los fotobiorreactores cerrados tienen una gran cantidad de ventajas frente a los sistemas abiertos: mayor captación de CO₂, mayor productividad de biomasa, facilidad para controlar el proceso y una alta eficiencia fotosintética [49]. El principal inconveniente de tratar las emisiones industriales mediante estos métodos es su elevado coste, especialmente si se trabajan con biorreactores cerrados, y su dificultad para escalar el proceso [3], de hecho, la absorción de CO₂ en sistemas cerrados de gran escala no ha sido tratada aún [51]. Una solución a este problema es utilizar varios reactores de menor tamaño en serie, aunque esta conlleva un aumento considerable del precio del proceso. En resumen, la biofijación del CO₂ mediante microalgas es una alternativa muy prometedora a las técnicas más comunes de fijación actuales. Es una técnica con poco impacto ambiental y gran sostenibilidad, aunque aún continúa siendo relativamente cara. A medida que se optimicen los biorreactores y medios de cultivo y que se endurezcan las multas por emisiones, este método se irá convirtiendo en una potente fuente de reducción del CO₂ en la atmósfera.

Otra aplicación de las microalgas dentro de este sector es el del tratamiento de las aguas residuales producidas y que requieren una especial atención por parte de los investigadores y de la población en general debido a los serios problemas de contaminación colateral que producen y a su papel en el ciclo hidrológico. Existe una gran diversidad de métodos destinados a mejorar la calidad de las aguas residuales. En un tratamiento primario, se separan los sólidos mediante métodos de sedimentación, flotación o neutralización. El tratamiento secundario, donde mediante lagunas de oxidación, lagunas de estabilización, de lodos

activos y de filtros biológicos, se lleva a cabo una degradación bacteriana de la materia orgánica. El inconveniente de esta etapa del tratamiento es la concentración de nutrientes como amonio y fosfatos, o la acumulación de patógenos por lo que es necesario aplicar un tratamiento terciario que posibilite la devolución de las aguas al medio natural disminuyendo en mayor medida su impacto ambiental [35]. Los tratamientos terciarios más comunes consisten en procesos fisicoquímicos como la precipitación, el intercambio iónico, ozonización, cloración u osmosis inversa. Estos procesos son realmente costosos y requieren de una gran inversión inicial y tienen elevados costes de mantenimiento y de operación. Las microalgas utilizadas en el tratamiento de efluentes pueden ser consideradas como una alternativa interesante al tratamiento terciario [35]. Las microalgas llevan a cabo una conversión de la energía solar, eliminando la materia orgánica de los efluentes y aumentando en éstos la concentración de oxígeno posibilitando la devolución de las aguas residuales al medioambiente. El cultivo de microalgas se presenta como una de las mejores alternativas para el tratamiento de efluentes, debido a su efectividad y a su bajo coste. Se mejora mediante este método la calidad del efluente con un bajo coste, se aprovechan nutrientes que de otro modo serían desechados para la producción de la biomasa con la consecuente generación de oxígeno. El resultado global de este proceso es la remoción de sales, el aumento del pH de los efluentes (favoreciendo la precipitación de ortofosfatos y eliminando nitrógeno amoniacal), la disminución de la demanda biológica de oxígeno, la oxigenación del agua, la oxidación continua de la materia orgánica, la recuperación de CO₂ y la reducción de microorganismos patógenos [35], [36]. La eficacia de este proceso depende de varios factores como del tipo de efluente y de contaminantes ya que estos pueden afectar la producción y la composición de la biomasa, de factores físicos como la temperatura o la incidencia lumínica en el medio o bien de la geometría de los estanques y de los mecanismos de agitación utilizada [35]. Hay que tener en cuenta todos estos parámetros a la hora de diseñar un proceso de tratamiento terciario de efluentes. Las microalgas utilizadas para este tipo de procesos deben soportar elevadas concentraciones de nutrientes ya que se cultivaran en aguas residuales con concentraciones de nutrientes elevadas y variables, una actividad metabólica elevada y una capacidad de adaptación y de resistencia a variaciones ambientales importantes [36]. La tabla 4 presenta los principales géneros de microalgas utilizadas en el tratamiento de efluentes.

A la hora de diseñar el reactor, hay que tener en cuenta que se trabajaran con cantidades enormes de agua, y que en la mayoría de los casos no se requiere obtener una concentración de producto en concreto ni es el objetivo principal del proceso la producción de biomasa. Existen diferentes tipos de sistema de tratamiento de aguas residuales mediante la utilización de microalgas, los cuales se presentan a continuación: (i) Piletas no aireadas: son sistemas muy simples de poca profundidad y que permiten combinar el tratamiento secundario comentado anteriormente con el terciario. Su coste es relativamente bajo aunque se obtienen bajas productividades de biomasa y la recuperación

de las algas es compleja [35]. (ii) Piletas aireadas: son sistemas de oxidación más complejos similares a los anteriores salvo por un mecanismo de aireación, que aumenta la aireación del medio facilitando la recuperación del producto y aumentando la productividad del proceso. (iii) Lagunas de oxidación: son estanques con altura inferior a 60 cm [35] con mecanismos de aireación y mecanismos físicos de agitación.

Tabla 4. Microalgas más comunes utilizadas para el tratamiento biológico de efluente, [35].

Grupo	Géneros más representativos	% de aplicación
Diatomeas	<i>Cyclotella</i> , <i>Gomphonema</i> , <i>Nitzschia</i>	10
Flageladas	<i>Chlamydomonas</i> , <i>Euglena</i> , <i>Cryptomonas</i>	25
Algas Verdes	<i>Ankistrodesmus</i> , <i>Chlorella</i> , <i>Scenedesmus</i>	50
Algas Verde-Azules	<i>Anacystis</i> , <i>Anabaena</i> , <i>Oscillatoria</i>	15

Esto favorece la transferencia de materia, lo que implica un mayor crecimiento microbiano y una mayor eficiencia global del proceso. Estos sistemas suelen utilizarse para la producción de biomasa con fines comerciales para alimentación animal o para la obtención de productos de elevado valor añadido, especialmente de pigmentos [35]. Algunos de los mayores biorreactores que utilizan el agua residual como medio de cultivo se encuentran en la India, Israel, Brasil, Estados Unidos y Asia. En Israel por ejemplo, se obtiene una productividad de 44.2 g.m²/día utilizando *Scenedesmus*, *Euglena* y *Chlorella* en aguas residuales domésticas o en Estados Unidos, cultivando *Chlorella* en un medio procedente del estiércol del ganado una productividad de 30 g.m²/día [38].



Figura 2. Fotografía de las costas gallegas en el año 2002 tras el accidente del *Prestige*.

Otra aplicación importante de la biotecnología desde el punto de vista de la biorremediación es la del saneamiento de sistemas marinos contaminados. El gran aumento de la industria petrolera durante los últimos años ha aumentado la contaminación en los sistemas marinos, por ejemplo, durante la Guerra del Golfo Pérsico en 1991 se calcula que se

vertieron alrededor de 460 mil toneladas de crudo al mar [40]. Otros vertidos importantes fueron por ejemplo la colisión del buque petrolero *Exxon Valdez* en 1989 (40-50 mil toneladas de crudo) la del *Amoco Cádiz* en 1978 (227 mil toneladas de crudo), la del petrolero *Prestige* en 2002 afectando a más de 1900 Km de costas francesas y españolas (63 mil toneladas – ver Figura 2) o el incontrolado vertido de petróleo en el Golfo de México que duro más de 60 días tras el hundimiento de la plataforma *Deep Horizon* en 2010, en el que se vertieron más de 300 mil toneladas de petróleo crudo. Esto provoca efectos realmente devastadores en las zonas afectadas a corto, medio y largo plazo. La eliminación natural de algunos compuestos puede tardar años o incluso no llegar a producirse, por lo que la utilización de microorganismos marinos para la aceleración de la limpieza de estos medios resulta, en algunos casos, imprescindible [39].

La biodegradación del petróleo es un proceso que sucede de forma natural, aunque demora meses o incluso años, dependiendo de la composición química del combustible, de su cantidad y de las condiciones ambientales [40]. La atmósfera, la filtración natural, los ríos, las escorrentías urbanas o las refinerías de petróleo son las principales fuentes de contaminación. Las técnicas de biorremediación ambiental se pueden dividir en dos grandes grupos, *in situ* y *ex situ* en función de si el proceso se realiza en el lugar donde se encuentra la contaminación o de si es necesario el traslado de las aguas o los suelos a los biorreactores. La biodegradación del petróleo es un proceso realmente complejo en el que intervienen una gran cantidad de microorganismos y de parámetros físicos que no se estudiarán en este trabajo. Un extenso rango de microorganismos que se encuentran en la naturaleza utilizan diferentes hidrocarburos como fuente de carbono, aunque se encuentran en pequeñas concentraciones. Con el propósito de favorecer el crecimiento de los microorganismos que intervienen en el proceso, se han creado una serie de bioproductos y fertilizantes que modifican el medio y favorecen el crecimiento celular. A pesar de que se suelen utilizar bacterias y hongos, dentro de las algas más comunes utilizadas en este tipo de técnica se encuentran las del género *Chlamydomonas sp.*, *Dunaliella sp.*, y *Chlorella sp.* [39] y suelen utilizarse *in situ* una vez que se ha retirado el crudo mediante métodos físicos.

B. Industria Alimentaria

Normalmente el principal objetivo en la producción de alimento vivo es establecer una cadena alimenticia controlada, es decir, el cultivo de microalgas para alimentar organismos zooplanctónicos que a su vez servirán de alimento a peces u otros animales [41]. Desde el punto de vista nutricional, las microalgas son fuente de macronutrientes, micronutrientes y de ácidos grasos esenciales, tal como se observa en la Tabla 2 y en la Tabla 5. La tendencia actual de la industria alimentaria es producir productos más baratos y saludables.

La presencia de ingredientes como ácidos grasos poliinsaturados o pigmentos antioxidantes da al producto un

valor añadido difícil de conseguir. El gran contenido de proteínas y polisacáridos de varias especies de microalgas es una de las principales características de interés alimenticio y las convierte en una nueva fuente de proteínas. Además, los aminoácidos obtenidos a partir de microalgas salen favorecidos al compararlos con los obtenidos a partir de otras proteínas alimenticias [42]. Las microalgas producen un gran número de polisacáridos como el agar, de gran importancia a nivel industrial. La mayoría de las microalgas producen polisacáridos y muchos de ellos tienen aplicaciones industriales importantes. Un factor importante que favorece la utilización de los polisacáridos obtenidos a partir de la biotecnología es que las posibilidades de controlar el proceso son muy altas, y la velocidad de crecimiento y de producción son idóneas [42].

Tabla 5. Contenido de proteínas y carbohidratos de varias especies de microalgas [44].

Microorganismo	Proteínas (%ms)	Carbohidratos (%ms)
<i>Scenedesmus obliquus</i>	50-56	10-17
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	47	-
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	8-18	21-52
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	48	17
<i>Chlorella vulgaris</i>	51-58	12-17
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	57	32
<i>Spirogyra sp</i>	6-20	33-64
<i>Dunaliella salina</i>	57	32
<i>Porphyridium cruentum</i>	28-45	40-57
<i>Spirulina máxima</i>	28-39	13-16

Un ejemplo es la *Chlamydomonas mexicana*, que expulsa el 25% de su producción orgánica como polisacáridos extracelulares y que se utilizan como acondicionadores del suelo en algunas zonas de Estados Unidos [58]. Las microalgas pueden biosintetizar, metabolizar, acumular y secretar una gran diversidad de metabolitos primarios y secundarios de los cuales muchos tienen posibles aplicaciones en la industria alimentaria, farmacéutica o cosmética. Dentro de las especies más frecuentes se encuentran las del género *Skeletonema costatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Phaeodactylum tricorutum*, *Chaetoceros calcitrans*, *pavlova lutheri*, *dunaliella salina* y *Spirulina sp.* [41] cuyas características se tratarán en el próximo apartado en detalle. Estas son utilizadas comercialmente como suplementos alimenticios o como aditivos a los alimentos animales. La biotecnología de microalgas es similar a la agricultura tradicional, pero ha generado una gran atención en las últimas décadas y en la actualidad, ya que se pueden obtener productividades realmente altas, y se puede trabajar durante todo el año y en

zonas geográficas en las que normalmente no se pueden utilizar con fines agrícolas. Como ya se ha visto, una característica importante de estos productos es que su composición química no es una constante intrínseca y varía en función del medio de cultivo y de las condiciones químicas en que se cultivan. En el siguiente apartado se analizará de qué manera, factores medioambientales como la temperatura, la iluminación, la concentración de CO₂ o la densidad de población pueden afectar la composición química del cultivo. Los alimentos pueden ser formulados variando estas condiciones y obtener así la composición deseada que dependerá del grupo animal donde serán utilizados. La alimentación es el factor exógeno más importante en la salud animal, y también el más costoso, por lo que la utilización de proteínas de alta calidad a un bajo coste favorecerá la utilización de microalgas en la industria alimenticia. Es más, en la actualidad el 30% de la biomasa de microalgas producida en todo el mundo es utilizada como suplemento alimenticio para animales [37].

Utilizando pequeñas concentraciones de biomasa de microalgas, se puede afectar positivamente la fisiología del animal, mejorando su respuesta inmunológica, su resistencia antivírica y antibiótica, el control del peso, e incluso su apariencia obteniendo una piel y pelo de mejor calidad [42]. Se han realizado diferentes estudios en alimentación aviar utilizando diferentes concentraciones de *Clorella*, *Euglena*, *Oocystis*, *Scenedesmus*, *Spirulina* normalmente hasta un 10% sin observar ninguna diferencia en la producción de huevos ni en la calidad (tamaño, peso, índice de albumina, etc) y reduciendo considerablemente los costes de alimentación [42]. La utilización de microalgas en la alimentación de las aves permite obtener el color deseado en los huevos, gracias a los pigmentos que estas presentan (carotenoides), mejorando así su calidad [42]. También se ha conseguido reducir la concentración de colesterol, alimentando a las aves con *Porphyridium sp.* [43].

Las microalgas son también utilizadas en la alimentación porcina, especialmente *Chlorella* y *Scenedesmus* sin observarse ninguna diferencia en la eficiencia de la producción, y disminuyendo al igual que en el caso de la producción aviar los costes en alimentación. Sin embargo, el principal sector donde se utilizan las microalgas como complemento alimenticio es en la alimentación de animales marinos, en especial de *fitoplancton*, que como ya se ha dicho anteriormente se utiliza para alimentar a otros animales de mayor tamaño. Las microalgas poseen nutrientes esenciales como los carotenoides, que determinan la calidad de las especies marinas, lo que demuestra la importancia de estas en el sector. En la Tabla 6, se presentan las principales microalgas comercializadas en la actualidad para consumo humano. Los mayores productores son China, Estados Unidos, Australia y Alemania.

La biomasa debe tener una composición exacta, y unas características físicas concretas, por lo que para cultivar microalgas destinadas al consumo humano o animal se utilizan biorreactores cerrados, que como se tratará más adelante permiten controlar todos los parámetros del proceso y el riesgo de contaminación es menor. Además del elevado contenido de proteínas, polisacáridos, vitaminas y minerales

presentes en la biomasa de microalgas, se comentarán a continuación con más detalle los principales pigmentos y ácidos grasos obtenidos a partir de ésta, y que les dan un valor añadido de gran interés comercial.

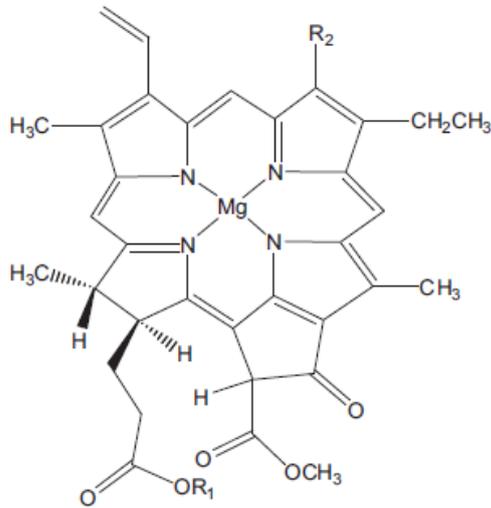


Figura 3. Estructura química de la Clorofila-a [42].

Una de las características más obvias y significativas de las microalgas es su color. En general, cada familia tiene su propia combinación de pigmentos y un color en particular [42]. Además de la clorofila, las microalgas producen un gran número de pigmentos dentro de los que destacan un amplio rango de carotenoides. Están consideradas como una excelente fuente de colorantes naturales. Estos pigmentos naturales son capaces de optimizar la eficiencia de la absorción de luz de las algas y protegerlas de los efectos de la radiación solar [42]. Su función como antioxidantes en las algas presenta un paralelismo interesante con su potencial uso como antioxidante en alimentos para humanos. Todas las algas poseen al menos un tipo de clorofila, siendo la *clorofila-a* (ver Figura 3) la más común. Además de su uso como colorante alimentario y farmacéutico, los derivados de la clorofila han sido utilizados tradicionalmente como medicamentos debido a su capacidad antiinflamatoria así como de control de cristales de oxalato y deodorización interna [54].

Los carotenoides son los pigmentos responsables de los diferentes colores de las frutas y las verduras y otras plantas [55]. Son pigmentos derivados del licopeno que van normalmente del amarillo al rojo. En los animales, los carotenoides obtenidos mediante la dieta son producidos mediante microorganismos y están presentes en carne, huevos, pescado e hígado, entre otros. El consumo de una dieta rica en carotenoides ha sido relacionado con una disminución del riesgo de varios problemas de salud como arterioesclerosis, cataratas, degeneración muscular debido a la edad y cáncer [56]. Se conocen alrededor de 600 carotenoides, aunque en la actualidad solo se comercializa un pequeño porcentaje. El más común producido por microalgas es el β -caroteno, obtenido a partir de *Dunaliella salina* y el astaxanthin, obtenido a partir de *Haematococcus pluvialis* [42]. El β -caroteno es un nutriente esencial y tiene una gran demanda en el mercado como colorante alimentario

natural, y como aditivo en cosmética. Se utiliza en bebidas, quesos, mantequillas o margarinas [42]. A la astaxantina, se le atribuyen una gran cantidad de beneficios tales como prevención del envejecimiento de la piel, protección de la piel de los rayos UVA, mejora de la visión e incluso de la fuerza muscular [42]. Es un colorante fuerte y se ha sugerido que posee una capacidad de lucha contra los radicales libre 500 veces superior a la de la vitamina E [57].

Tabla 6. Principales microalgas comercializadas para consumo humano [42].

Microorganismo	Principales Productos	Producción mundial [T/año]
<i>Spirulina</i> (<i>Arthrospira</i>)	En polvo, tabletas, extractos, pasta, extracto líquido...	3000
<i>Chlorella</i>	Polvo, tabletas, néctar...	2000
<i>Dunaliella salina</i>	Polvo, β -caroteno...	1200
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	Capsulas, polvo, cristales...	500

Otros productos de gran interés producidos por las microalgas son los ácidos grasos, en especial el γ -ácido linolénico (GLA, 18:3 ω 6), ácido araquidónico (AA, 20:4 ω 6) ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5 ω 3) y ácido docosahexaenoico (DHA, 22:6 ω 3), que se pueden observar en la Figura 4. Los ácidos grasos insaturados de larga cadena (más de 18 carbonos) como los previamente nombrados, no pueden ser sintetizados por plantas superiores y animales. Son sintetizados únicamente por microalgas, por lo que su adquisición debe realizarse mediante la dieta. Los animales marinos y los aceites de animales marinos son el principal aporte de este tipo de sustancias a la dieta humana. La producción de ácidos grasos mediante biotecnología está cobrando gran importancia en la actualidad. DHA es una sustancia esencial para la nutrición infantil, importante en el desarrollo del cerebro y de la retina, que está siendo producida a gran escala a partir de *Cryptocodinium* y *Ulkenia*, y está disponible actualmente a través de Martesk (USA) y Nutrinova (Alemania), ambas empresas dedicadas a comidas para niños, suplementos alimenticios y alimentos funcionales [42]. Ha sido demostrado que la deficiencia alimentaria de ácidos grasos de larga cadena omega3 está relacionada directamente con el incremento del nivel de colesterol en la sangre y con la muerte por enfermedades cardiovasculares.

C. Biocombustibles

El aumento constante de la demanda mundial de combustibles y el aumento de la concienciación de la población y de sus representantes con el cuidado del medioambiente (especialmente con los gases de efecto invernadero) han motivado a los científicos y técnicos de todo el mundo, especialmente de los Estados Unidos (ver

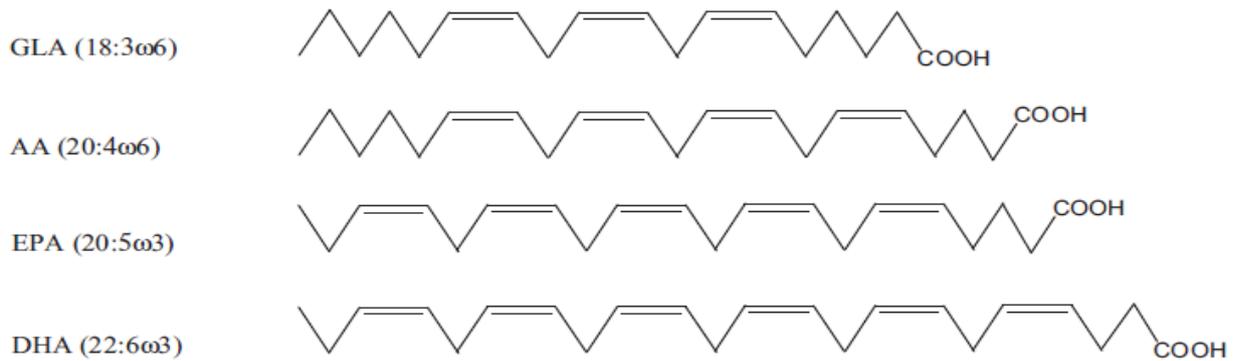


Figura 4. Estructura química de ácidos grasos poliinsaturados con gran valor nutricional y farmacéutico [42].

Figura 5) a buscar alternativas y soluciones a estos problemas. Los biocarburantes o biocombustibles son combustibles que se generan a partir de procesos biológicos, y a diferencia de los combustibles convencionales, estos son de origen biológico no fosilizado. Al tratarse de recursos inagotables, son excelentes para reemplazar los combustibles que se producen en base al petróleo, el cual escasea y produce grandes efectos contaminantes en la atmósfera. Este tipo de biocombustibles, están caracterizados por la posibilidad de utilizarlos en los motores de combustión interna actuales.

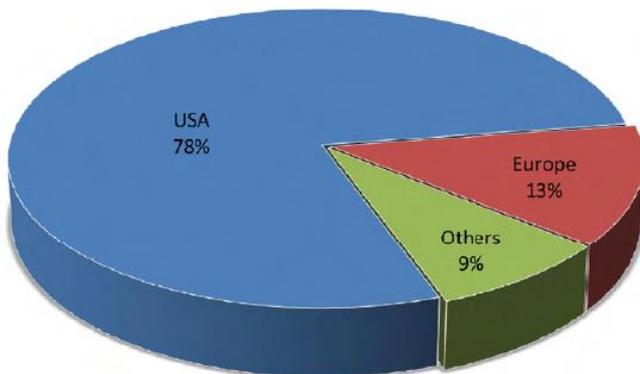


Figura 5. Localización de las compañías alrededor del mundo produciendo biocombustibles a partir de microalgas [45].

A pesar de que la utilización de microalgas para la obtención de biocombustibles viene siendo discutida desde hace más de 50 años [46], fue a partir de la crisis energética de la década de los 70 cuando se comenzó a tomar más en serio esta propuesta. En los últimos años, se han realizado infinidad de investigaciones relacionadas con este problema, y se ha llegado a la conclusión de que la obtención de biocombustibles a partir de biomasa podría ser una solución a este gran problema. La biomasa (obtenida a partir de desechos alimenticios, aguas residuales, desechos de la agricultura, etc.) puede ser transformada en combustibles líquidos o gaseosos. Cuando se habla de biomasa de microalgas, se habla en general de organismos unicelulares y pluricelulares incluyendo a microalgas procariotas, eucariotas, cianobacterias, algas verdes, rojas y diatomeas. La principal ventaja de utilizar microalgas para la producción de biocombustibles, frente a la utilización de otras materias

primas, es que estas pueden ser cultivadas durante todo el año y en zonas donde no es posible cultivar plantas terrestres. Otra gran ventaja es su rápido crecimiento, así como la gran cantidad de especies que dependiendo de las condiciones en que se cultive pueden llegar a alcanzar concentraciones de aceite de un 20-50% en peso seco.

El crecimiento exponencial que estas presentan permite doblar la cantidad de microalgas en el medio en periodos de 3,5h [45]. Otra gran ventaja es que a pesar de crecer en medios acuosos, se produce un mejor aprovechamiento del agua que en los cultivos de plantas terrestres y se evita el debate sobre la utilización de alimentos para la obtención de biocombustibles [45].

No se requieren herbicidas o pesticidas para su cultivo, y se pueden obtener productos de elevado valor añadido tras la extracción de lípidos que se utilizan para la producción de fertilizantes, alimentación o biocombustibles como el bioetanol o biometano [45]. Los lípidos obtenidos a partir de la biomasa son transformados en biodiesel mediante transesterificación o en biogás mediante fermentación aeróbica [47]. Se analizarán a continuación algunos de los biocombustibles más comunes, el hidrógeno, el bioetanol y el biodiesel.

i. Bioetanol

El bioetanol es el producto de una fermentación alcohólica de diversos materiales orgánicos, como biomasa o cereales, a través de la acción de microorganismos. En la Figura 6 se presenta una imagen de la planta de bioetanol en Rotterdam, Holanda, perteneciendo a la compañía *Abengoa Bioenergy*, y que con una producción de 480 millones de litros anuales es la más importante de Europa. Actualmente, esta misma compañía se encuentra construyendo una planta de producción de bioetanol de segunda generación a partir de biomasa en Kansas, EEUU, con una producción prevista de 100 millones de litros anuales. El continuo aumento de los precios del petróleo está provocando una búsqueda exhaustiva de nuevas energías y la utilización de bioetanol es una de ellas. La producción de bioetanol está creciendo rápidamente en los últimos años, tal como se observa en la Tabla 7. Un dato significativo es el aumento aproximado de la producción en la Unión Europea de 11,34M en 2007 a

Tabla 7. Mayores productores mundiales de bioetanol (Millones de barriles equivalentes de petróleo por día) [66].

País	2000	2002	2004	2006	2009
EE.UU	106	140	221	319	713
Brasil	184	217	252	306	466
China	0	5	7,2	24,1	37
Francia	2	2	1,7	5	22
Canadá	3,7	4	4	4,4	18,7
Alemania	0	0	0,4	7,4	14
Tailandia	0	0	0,1	2,2	7
India	2,9	3,2	3,5	4,1	5,8

17,97M de barriles equivalentes en 2008 [66]. El bioetanol puede ser utilizado como biocombustible sustituyendo a muchos productos derivados del petróleo. Mezclas de etanol con gasolina (hasta aproximadamente un 20%) pueden ser utilizadas en motores a gasolina actualmente en uso. Con el objeto de oxigenar la combustión y aumentar el octanaje, la mayoría de las gasolinas contienen alrededor de un 5% de etanol [59]. El bioetanol es una fuente de combustible renovable que reduce la dependencia del petróleo, emite entre un 40 y un 80% menos de gases de efecto invernadero, mejora la calidad del aire en zonas urbanas, no contamina el agua y reduce los residuos. Otra característica importante de este biocombustible es su facilidad de producción y de almacenaje comparada con la del biodiesel.



Figura 6. Vista aérea de la planta de bioetanol de Abengoa Bioenergy en Rotterdam, Holanda, con una producción de bioetanol de 480M l obtenidos a partir de cereales.

Para poder utilizar el bioetanol como combustible puro en los vehículos de motor es necesario llevar a cabo varias modificaciones en el mismo, por lo que su utilización a corto y medio plazo se supone poco probable. El problema actual del bioetanol obtenido a partir de microalgas es que a partir de ellas se obtienen diversos productos de precios elevados por lo que la obtención de un producto relativamente económico como el etanol no es prioritaria [65]. Actualmente, el bioetanol se produce a partir de la fermentación del azúcar, que a su vez se puede obtener mediante hidrólisis del almidón. En la actualidad se trabaja fundamentalmente en la búsqueda de materias primas más baratas, que sustituyan a las tradicionales materias azucaradas como melazas, productos secundarios de la producción de azúcar o zumos a la vez que se busca mejorar

la eficiencia de los procesos fermentativos y en la recuperación y la purificación del alcohol.

La ventaja de las microalgas es su gran capacidad de generación de biomasa, algo que no sucede con las plantas terrestres que pueden tardar muchos meses e incluso años en crecer. Se han detectado especies con concentraciones superiores al 50% de almidón, y mediante nuevas técnicas la celulosa y hemicelulosa se transforman en azúcares aumentando aún más el porcentaje de la célula fermentable [52].

El proceso de producción de etanol a partir de microalgas se basa fundamentalmente en la fermentación de los azúcares y engloba diversas etapas. En primer lugar se produce el crecimiento de las algas en el medio de cultivo obteniendo concentraciones elevadas de biomasa. En segundo lugar, se produce la recolección de las algas y el inicio de la descomposición. Se produce la ruptura de la pared celular y la liberación de los polisacáridos. Tras la sacarificación del almidón, se produce la fermentación de la biomasa. Para ello se utilizan normalmente las levaduras de la cerveza *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces uvarum* o bacterias genéticamente modificadas para esta función [65]. Por último, se separa el etanol del medio restante. Una ventaja de utilizar microalgas para la producción de bioetanol es la ausencia de lignina, facilitando la retirada del alcohol una vez realizada la fermentación. Algunas de las especies con mayor cantidad de carbohidratos y que se utilizan para este proceso son *Sargassum*, *Glacilaria*, *Prymnesium parvum* y *Euglena gracilis* [65]. Por otro lado, la composición de las microalgas suele ser más uniforme y consistente que la biomasa de plantas terrestres normalmente utilizada, y las paredes celulares de las algas están formadas por polisacáridos que pueden ser hidrolizados a azúcares fermentables [53]. El dióxido de carbono resultante del proceso de fermentación puede a su vez ser realimentado al medio de cultivo y ser utilizado como materia prima para las microalgas.

En la actualidad, cuatro gasolineras españolas (dos en Vitoria, una en Valencia – ver Figura 7, y una en San Sebastián) suministran bioetanol en tres mezclas diferentes: e5 (5% de bioetanol), e10 (10% de bioetanol) y la mezcla máxima llamada e85 (bioetanol al 85% y gasolina normal al 15%). Esta última mezcla puede ser utilizada solo en vehículos denominados flexibles, y cuyos motores han sido modificados para ello. Ford, Saab y Volvo ya disponen de

motores adaptados, mientras que Renault, Peugeot y Citroën han anunciado que pronto dispondrán de ellos.



Figura 7. Primera gasolinera ecológica de Valencia, permitiendo el repostaje de coches eléctricos, bioetanol, biodiesel, GLP, GLC e hidrógeno.

ii. Biodiesel

El biodiesel consiste en monoalquilésteres de alcoholes de cadena corta, usualmente etanol y metanol, con ácidos grasos de cadena larga obtenidos a partir de biomasa renovable y que es técnicamente capaz de sustituir al diesel derivado de petróleo como combustible [60]. A diferencia del diesel convencional obtenido a partir del petróleo, la principal ventaja del biodiesel es que es una fuente de energía renovable y biodegradable (hasta cuatro veces más rápido) y produce menos emisiones contaminantes al medioambiente (CO, hidrocarburos, aromáticos policíclicos, óxidos de azufre,...) durante su combustión debido a su estado oxigenado [60].

En la actualidad se utilizan lípidos obtenidos a partir de biomasa de microalgas para la producción de biodiesel, ya que es una alternativa que asegura satisfacer o reemplazar la demanda global de diesel obtenido a partir del petróleo. Esta tecnología presenta una serie de ventajas en contraste con las plantas oleaginosas, como una mayor eficiencia fotosintética, eficiencia superior en la asimilación de nutrientes, periodos cortos de producción, y la posibilidad de obtener subproductos con elevado valor añadido. Como ya se ha dicho anteriormente, los cultivos de microalgas no dependen de la estación del año y se puede cultivar en zonas donde normalmente no se pueden cultivar plantas oleaginosas. Requiere menor cantidad de agua de cultivo, son flexibles ante la calidad y el tipo de agua que se utilice y tienen un crecimiento exponencial, imposible de alcanzar por ningún vegetal terrestre. Se calcula que para reemplazar todo el combustible de transporte consumido en los Estados Unidos con biodiesel, son necesarios 530M m³ de biodiesel anuales, un volumen imposible de alcanzar utilizando plantas terrestres ya que para obtener solo un 50% del volumen requerido se necesitaría sembrar cerca de un 69% del territorio norteamericano [61]. Es evidente por lo tanto que en un futuro inmediato, la utilización de plantas oleaginosas no alcanzará a reemplazar a los combustibles fósiles. Si se lograra implantar el uso de microalgas para producir biodiesel, se calcula que solo con cultivar entre un 1 y un 3% del total del área de cultivo de los Estados Unidos sería

suficiente para satisfacer el 50% del combustible necesitado anualmente [62]. La ventaja competitiva más importante del biodiesel de microalgas consiste, tal como se observa en la Tabla 2, en los rendimientos lipídicos por unidad de área, considerablemente superiores a los obtenidos por plantas oleaginosas [61]. Como se puede observar en la Tabla 8, el rendimiento anual de biodiesel obtenido a partir de microalgas duplica los rendimientos obtenidos a partir de plantas terrestres. Se presenta una comparación entre distintas fuentes de materia prima para la producción de biodiesel en México. Se indican las proporciones de suelo fértil y de superficie total del país necesarias para reemplazar con biodiesel el 100% de la demanda de diesel derivado del petróleo en este país. Las fracciones de superficie total solo se enseñan para materias primas que no precisan suelos fértiles.

Como se ha tratado en la sección anterior, el contenido en lípidos, hidrocarburos y otros aceites complejos de la biomasa depende del microorganismo utilizado y de las condiciones de cultivo. Los lípidos de las microalgas son principalmente ésteres de glicerol formados por ácidos grasos con cadenas constituidas entre 14 y 20 átomos de carbono. Es precisamente la presencia de estos ácidos grasos poliinsaturados como los ya vistos en la Figura 4, lo que hace más interesante el cultivo de estos microorganismos. Aproximadamente el 80% del total de la fracción lipídica corresponde a los triglicéridos que se acumulan en forma de gotas dentro del citoplasma celular [63]. El resto corresponde principalmente a lípidos polares dentro de los que destacan los fosfolípidos y galactolípidos.

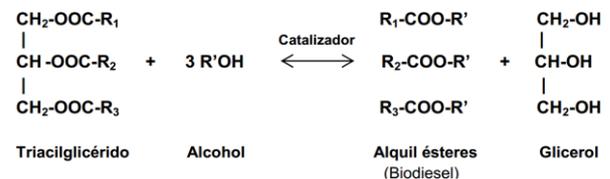


Figura 8. Reacción de formación de biodiesel mediante transesterificación.

Existen diversos métodos para la producción de biodiesel, de los cuales cuatro han sido estudiados exhaustivamente: el uso directo de aceites o mezclas de estos con diesel fósil, microemulsiones, pirolisis y la ya mencionada transesterificación (ver Figura 8) [60]. Los tres primeros métodos no han resultado satisfactorios ya que el producto obtenido provoca problemas en los motores probados tales como obstrucción de los inyectores, formación de depósitos de carbono, daño del lubricante, desgaste excesivo del motor y combustión incompleta. En la actualidad, la mayoría del biodiesel es producido mediante transesterificación alcalina a causa de su rapidez y condiciones moderadas que la caracterizan [60].

Tabla 8. Comparación de distintas fuentes de materia prima para la producción de biodiesel en México [60].

Materia prima	Productividad de biodiesel (l/ha/año)	Superficie equivalente requerida (ha.10 ⁶)	Porcentaje equivalente de la superficie fértil requerida	Porcentaje equivalente de la superficie total requerida*
Jatropha	1892	12,490	50,75	6,43
Palma	5950	3,972	16,14	--
Colza	1190	19,859	80,69	--
Girasol	952	24,823	100,90	--
Soja	446	52,986	215,30	--
Microalgas ^a	12000	1,969	8,00	1,01
Microalgas ^b	20000	1,181	4,80	0,61

^a Rendimiento conservador de productividad de biodiesel microalgal

^b Productividad de biodiesel microalgal asequible a través de la tecnología actualmente disponible

* No necesariamente fértil

Cuando la biomasa de microalgas es utilizada para obtener biodiesel, se debe procurar obtener un incremento de los triglicéridos respecto a las otras fracciones lipídicas, ya que el producto de partida de la transesterificación son los triglicéridos. Las elevadas productividades lipídicas, la velocidad de crecimiento sumado a la eficiencia metabólica y la robustez del microorganismo, son parámetros importantes a la hora de seleccionar un microorganismo. Los principales factores que influyen en el proceso son la relación molar alcohol:glicéridos, el tipo de catalizador utilizado, la temperatura, el tiempo de reacción, el contenido en agua y la cantidad de ácidos grasos libres en la materia prima. A pesar de que la biomasa de microalgas es idónea para la producción de biodiesel, el potencial de las microalgas para producir biodiesel ha sido sobreestimado por muchas empresas y gobiernos que aseguraban productividades iguales e incluso mayores al máximo teórico [64].

El biodiesel obtenido a partir de microalgas, al igual que los combustibles derivados de combustibles fósiles, necesitan cumplir con estándares existentes según el país. En los Estados Unidos por ejemplo el ASTM Biodiesel D 6751 es el más relevante, mientras que en la Unión Europea existen estándares diferentes diferenciando el biodiesel utilizado para el transporte, EN 14214, y el destinado a calefacción, EN 14213 [63]. Para cumplir estas disposiciones se precisa que el biodiesel sea enriquecido en ácidos grasos de cadena larga lo más insaturados posible permitiendo disminuir las emisiones tóxicas y mejorar las propiedades del biocombustible sin comprometer sus características de flujo, viscosidad y lubricidad. La Unión Europea con una producción cercana a los 8.800M l es el líder mundial en la industria del biodiesel, con Alemania como mayor productor con casi 3.200M l anuales [60]. Se estima un mercado de biodiesel de 168.200M de litros para el 2016 (European Biodiesel Board, US Biodiesel Board). Países en desarrollo como Malasia, China, Colombia, Argentina, Indonesia y especialmente Brasil son prometedores en la industria del biodiesel y de los biocombustibles.

Debido a la necesidad de reducir contaminantes de la atmósfera, surge la necesidad de buscar nuevas soluciones al problema energético que contribuyan al cuidado del medioambiente sin recurrir a limitaciones en la producción de energía. Una posible solución a este problema sería cambiar la base energética, utilizando un combustible que

reduzca o elimine las emisiones de contaminantes como el hidrógeno.

iii. Hidrógeno

El metabolismo de H₂ de las microalgas fue descubierto a principios de la década de los años 40 por Hans Gaffron [73]. El hidrógeno se considera en la actualidad como un combustible de enorme potencial. Su combustión produce agua y una gran cantidad de energía (27 kcal/g), por lo que resulta idóneo para múltiples aplicaciones en la industria, el transporte y el hogar.

Además de tener como producto final agua, el hidrógeno ofrece grandes ventajas frente a otros combustibles convencionales. Es transportable (a diferencia de las baterías eléctricas, tiene una baja relación peso/energía) y se produce a partir de radiación solar. Debido a esto, la realización de un proceso tecnológico para la producción de hidrógeno a partir de luz, agua, dióxido de carbono y algas, será la mayor fuente biológica de energía renovable y sustentable, sin emisiones de gases contaminantes ni contaminación medioambiental.

La producción de hidrógeno mediante microorganismos, conocida como biofotólisis, se basa en la utilización de la energía solar para la disociación del agua y la consecuente transferencia de los electrones a través de una cadena transportadora, tanto para cianobacterias como para microalgas. En la membrana de estas estructuras está la serie de proteínas y compuestos que en último término transportan los electrones desde el agua hacia moléculas como NADH y el H₂ [73]. La biofotólisis requiere un período que va desde varios minutos hasta unas horas de incubación anaerobia en ausencia de luz. En estas condiciones, los científicos consideran que se induce la formación de la hidrogenasa junto con otra enzima metabolizante, o bien se activa, permitiendo así que se produzca el H₂. El O₂ de la fotosíntesis produce un efecto inhibitorio en la hidrogenasa, por lo que la producción de H₂ en una única etapa no es posible en la actualidad. A pesar de ser un proceso complejo y de que no se abordará en este trabajo, la Figura 9 presenta una gráfica donde la producción de hidrógeno se realizó a escala de laboratorio mediante mediante *Chlamydomonas Reinhardtii*, donde se puede observar que la producción se lleva a cabo en etapas de aproximadamente 70h [73].

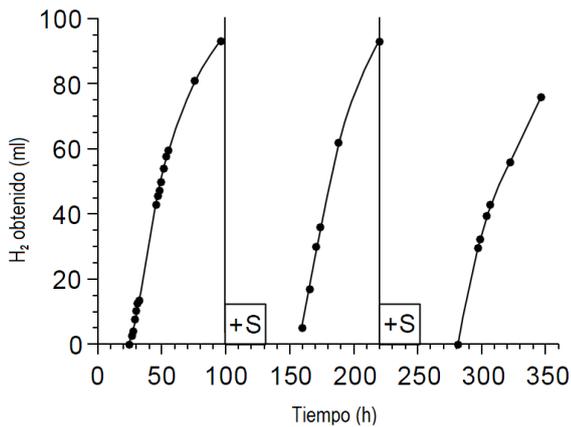


Figura 9. Producción de H₂ a escala de laboratorio mediante *Clamydomonas Reinhardtii* [73].

El hidrógeno producido fue recogido invirtiendo un grupo de tubos de ensayo. Antes de la producción de Hidrógeno, se midió la cantidad de azufre en forma de Sulfatos al inicio y tras un período de 72 horas, en el que las algas habrían consumido todo el Azufre presente. Al finalizar este tiempo se determinó de nuevo el contenido de Azufre para garantizar su ausencia en el medio. Una vez superado ese período, las algas comienzan con la descomposición del agua generando O₂ e H₂.

A pesar de la alta eficiencia de conversión del sustrato y la elevada pureza del H₂ producido (superior al 99%) mediante biofotólisis es necesario obtener mayores productividades de los bioprocesos fotoquímicos, debido a la baja eficiencia fotoquímica que presentan la mayoría de las microalgas [74]. El problema se ha resuelto en parte, mediante el diseño de fotobiorreactores que permitan una irradiación de la luz adecuada y la transferencia óptima de energía entre las células y hacia los sistemas fotosintéticos relacionados. Se investiga también el uso de nuevas cepas de microalgas y de cianobacterias [74]. Durante esta última década se han realizado avances significativos en este campo, tanto en la caracterización bioquímica de los microorganismos que producen hidrógeno bajo condiciones adecuadas, como en el manejo fisiológico de los cultivos.

III. ESTADO ACTUAL DE LA PRODUCCIÓN

En la sección anterior se han tratado algunos de los principales productos obtenidos a partir de microalgas, y algunas de sus principales aplicaciones. En el presente capítulo se analizará la manera en la que se lleva a cabo el cultivo de estos microorganismos para obtener una biomasa de calidad con las características bioquímicas idóneas que favorezcan su utilización en los procesos posteriores. Es importante recordar que el producto deseado va a condicionar la utilización de un microorganismo y de un biorreactor en concreto. En primer lugar se verán algunas de las microalgas cultivadas a gran escala con fines comerciales

más comunes y sus características más importantes. La composición química final de la biomasa depende de las condiciones en que se cultiven las microalgas, por lo que se explicarán los principales factores de los que depende el cultivo. Estos valores varían la composición final de la biomasa de manera diferente en un tipo de microalga u otra, por lo que solo se comentará su efecto en el crecimiento. Estos factores se basan en determinadas características o propiedades bioquímicas que les dan un elevado valor añadido a la biomasa o bien al producto que se obtiene a partir de ellas. Más adelante se tratarán los biorreactores más comunes y sus características principales así como algunos de los procesos industriales más importantes del mundo.

A. Microalgas más comunes

A pesar de las decenas de miles de especies de microalgas que se han detectado en la actualidad, la dificultad de cultivarlas a gran escala conduce a que solo un pequeño porcentaje de especies se utilicen en la actualidad con fines comerciales. Dentro de las más comunes, destacan las que se presentan a continuación:

Nannochloropsis sp.

Esta especie pertenece a la Clase Eustigmatophyceae. Es una pequeña alga en torno a 2-4µm, usada ampliamente en la industria de la acuicultura, y para cultivar zooplancton, tal como la alimentación de rotíferos. Es también utilizada para alimentar corales y otros consumidores filtradores. Carece de flagelos por lo que no tiene movilidad en el medio donde se cultiva. Una de sus características más significativas es que presenta un 15-20% de contenido lipídico en condiciones normales, destacando sobre otras especies similares. Este microorganismo es una fuente potencial de ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5ω3), que como se ha visto anteriormente, tiene un elevado interés industrial [70]. Durante los últimos años, ha aumentado considerablemente el interés en optimizar la producción de EPA mediante microalgas optimizando los cultivos, y *Nannochloropsis sp.* está llamada a ser más importante en este sentido.

Botryococcus braunii

Esta microalga pertenece al orden Chlorococcales y a la clase Chlorophyceae. Crece principalmente en agua dulce aunque se ha encontrado incluso en medios con agua salada. Es un alga colonial que flota en la superficie debido a la gran cantidad de hidrocarburos que presenta. En fase de reposo contiene hidrocarburos hasta en un 86% del peso seco. Cuando se extraen estos con hexano tienen un color anaranjado debido a los carotenoides que los acompañan. Se caracteriza por su capacidad para producir hidrocarburos, especialmente en forma de triterpenos, por lo que es considerada una fuente de combustibles renovables [71]. Su extracción es difícil, pero pueden ser transformados químicamente en petróleo. Después de la eliminación de los carotenoides y pigmentos que acompañan a los hidrocarburos, queda un líquido viscoso claro compuesto

principalmente de isoprenoides: dos triterpenoides tetrametilados lineales isoméricos, botriococeno e isobotriococeno. Por otro lado, en la fase verde del alga se encontraron hasta siete hidrocarburos olefínicos lineales diferentes.

Spirulina sp.

Microorganismo filamentososo perteneciente al grupo de las cianobacterias no heterocísticas del género de las Oscillatoriaceae, clase Cyanophyceae (ver Figura 10). Es relativamente grande y su tamaño ronda los 13-25 μm . Habita naturalmente en lagos alcalinos y es utilizada para consumo humano, dadas por sus funciones medicinales debidas a sus características químicas. Se utiliza en tratamientos de alergias, anemias, enfermedades cardiovasculares y virales. Juegan un papel importantísimo en los ciclos biogeoquímicos de los cuerpos de agua, en donde a veces son responsables de toda la producción primaria [75]. Tiene una gran cantidad de proteínas, vitaminas y minerales y su elevada digestibilidad la hace idónea para el consumo.

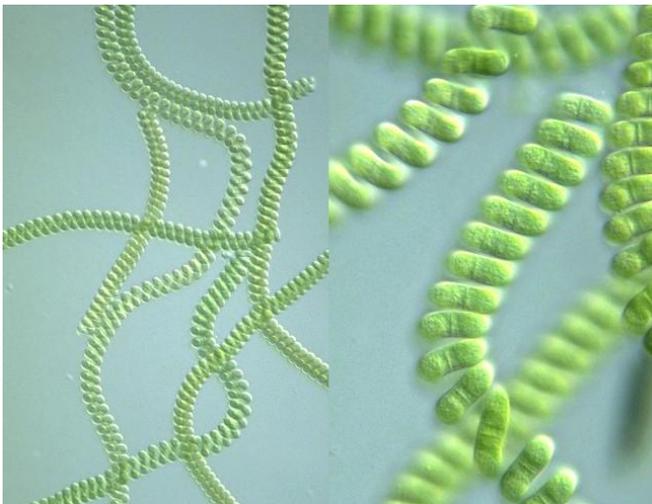


Figura 10. Fotografía de *Spirulina sp.* [33].

Es utilizada como alimento por diversidad de animales, desde insectos, crustáceos, peces, aves, ganado vacuno, porcino y por el ser humano. No ha sido utilizado ampliamente como alimento en la acuicultura debido al elevado coste de esta microalga frente a otros alimentos. Muchas de sus propiedades son consecuencia de la presencia de pigmentos como las ficobiliproteínas y los carotenoides, así como de otros compuestos como polisacáridos, ácidos grasos (especialmente el ácido gama linoléico), proteínas, vitaminas y minerales [72]. El principal pigmento que contiene la *Spirulina sp.* es la clorofila-a y varias ficobiliproteínas como pigmentos accesorios, como carotenos, ficocianina, ficoeritrina y aloficocianina [75].

Chlorella sp.

Pertenece al orden Chlorococcales, y a la clase Chlorophyceae, también llamadas algas verdes. Fue la primera especie en ser aislada y cultivada. Su tamaño varía entre 2 y

10 μm y no posee flagelo. Se consideran un grupo muy variado, y se encuentran naturalmente tanto en medios marinos como de agua dulce. Está siendo estudiada en el ámbito de la genética debido a su gran interés en el área de la alimentación humana. Tiene un elevado contenido en proteínas y otros nutrientes esenciales para el ser humano: en seco contiene cerca de 45% de proteína, 20% de lípidos, 20% de carbohidratos, 5% de fibra y un 10% de vitaminas y minerales [76].

B. Fases del crecimiento microbiano

Como ya se ha comentado anteriormente, el estado fisiológico de las algas depende en parte de las condiciones ambientales en que se encuentre. Así por ejemplo, en un ambiente pobre en nitrógeno, se ha observado una reducción en la concentración de clorofila A y por lo tanto, una reducción en su tasa fotosintética. Las variaciones en la intensidad lumínica, temperatura, etc., inducen igualmente a cambios en la población de algas. Normalmente, los cultivos de microalgas se componen de una población axénica (sólo una especie de microorganismos) en los que todas las células se encuentran en la misma fase celular dentro del ciclo vital. Los organismos se sincronizan simultáneamente por al menos un mismo factor de crecimiento, como son por ejemplo los ciclos luz-oscuridad.

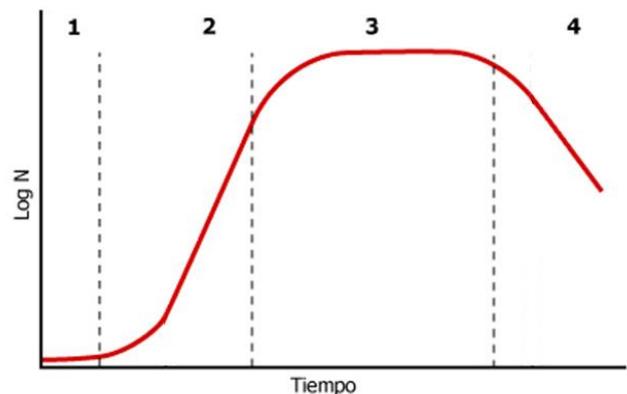


Figura 11. Fases del crecimiento microbiano en un sistema discontinuo [22].

En un medio operando en discontinuo, la forma en la que la población va aumentando su concentración en el medio de cultivo a lo largo del tiempo puede ser representada mediante las curvas de crecimiento. En general, las curvas de crecimiento presentan cuatro fases bien diferenciadas y que se presentan a continuación (ver Figura 11).

1. *Fase de Retardo:* o fase inicial o de aclimatación de las microalgas al nuevo medio de cultivo. No existe un aumento del número de células en el cultivo.

2. *Fase Exponencial:* en esta fase se produce el crecimiento de la concentración de microalgas. Prima la síntesis de proteínas.

Una vez finalizada la fase exponencial, hay una fase de descenso del crecimiento ante condiciones limitantes las células dejan de crecer. Es considerada habitualmente como una interface ya que es de muy corta duración.

3. *Fase Estacionaria*: la población no crece ante la falta de nutrientes. La duración de esta fase es muy variable y depende en gran parte de la especie que se cultive. Prima en esta fase la síntesis de lípidos e hidratos de carbono.

4. *Fase Descendente*: las tasas de crecimiento adquieren un valor negativo, donde prima la muerte celular sobre el crecimiento llevando finalmente a la muerte del cultivo.

C. Factores que afectan el crecimiento

Los objetivos a cumplir en un cultivo de microalgas son la optimización de la producción y a su vez la mejora de la composición química, dependiendo de la utilidad que se le dé posteriormente a la biomasa resultante. Esto puede llevarse a cabo principalmente en los biorreactores cerrados donde el control de todos los parámetros que intervienen en el proceso es posible. Entre las variables más comunes que se deben controlar en el proceso se encuentran la luz, la temperatura, la fuente de carbono, el tipo de nutriente, el valor del pH, la salinidad del cultivo, la agitación del mismo y el inóculo que se utiliza de partida. Otro parámetro que se debe tener en cuenta es el agua que se utilizará como base para el medio de cultivo. También hay que considerar que estos parámetros no actúan de forma individual, sino que interactúan entre ellos complicando así el control del proceso. A continuación se analiza cómo afectan al cultivo algunos de los parámetros más importantes:

i. Luz

Se puede utilizar como fuente de energía luz natural o artificial. La luz natural tiene como principal ventaja el ahorro energético aunque al no poder ser controlada dificulta el control del proceso. Existen fuentes de luz artificial que

emiten una luz muy similar a la natural, y que puede ser controlada asumiendo el coste energético. Lo habitual es utilizar luz artificial en las primeras fases hasta que se obtiene una concentración de biomasa considerable, y a partir de ahí se opera con luz natural. Es un parámetro fundamental para el cultivo de microalgas. Actúa de forma individual o interactuando con otras variables. La radiación utilizada varía desde los 400 a los 700 nm, rango que pertenece a la luz visible [20]. Lo más importante a tener en cuenta en relación a este parámetro es que la tasa de fotosíntesis aumenta en relación al mismo. Se observa un valor a partir del cual a mayor intensidad lumínica se produce una fotoinhibición del cultivo, debido a la destrucción de pigmentos fotosintéticos. En condiciones normales, las algas están sometidas a periodos de luz/oscuridad utilizándose una alternancia en su cultivo. La división celular, la absorción de nutrientes y la capacidad fotosintética entre otras, suceden según un ciclo de 24h [20]. Es frecuente la adaptación de las células a cambios en la intensidad lumínica, provocando cambios bioquímicos en el microorganismo que pueden resultar de interés. La intensidad lumínica varía a lo largo del crecimiento celular ya que a medida que aumenta la concentración celular, disminuye la cantidad de luz que recibe cada célula. La manera de solucionar esto es mediante una buena agitación, aunque la optimización de este problema es uno de los temas en investigación más importantes en la actualidad.

ii. Temperatura

Es otro factor fundamental para el buen desarrollo de un cultivo de microalgas. Cada especie tiene un rango de temperatura óptimo distinto, aunque el rango óptimo de temperatura para el crecimiento de microalgas es entre 18 y 25 grados centígrados [18]. Esta zona se encuentra remarcada en la Figura 12. En sistemas tradicionales, la temperatura del cultivo será similar a la ambiental, aunque en fotobiorreactores exteriores, será superior a la ambiental en torno a 10-15°C [20].

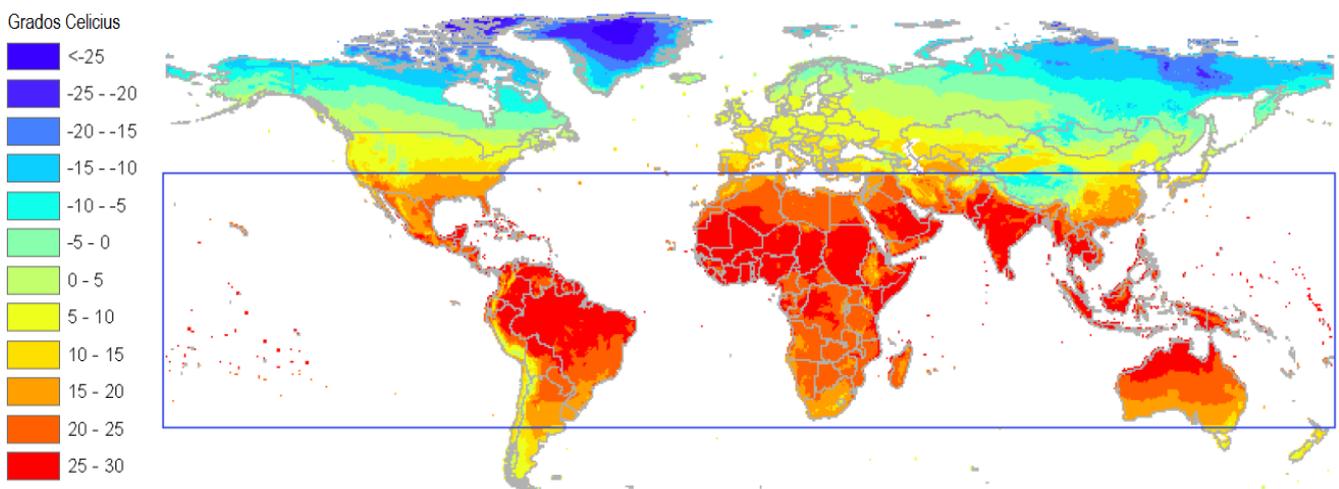


Figura 12. Zonas adecuadas para la producción de biomasa teniendo en cuenta las temperaturas promedio anuales [69].

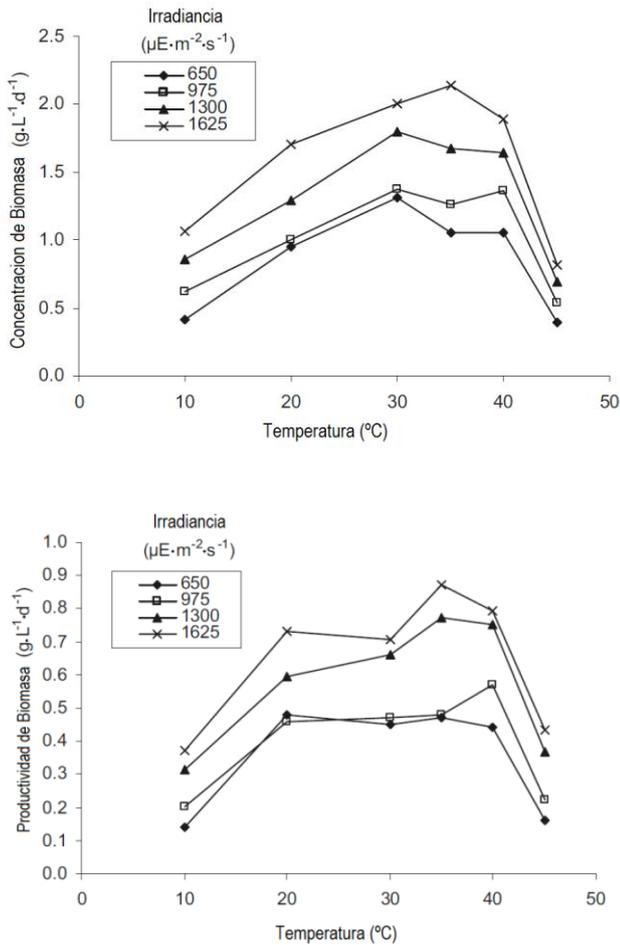


Figura 13. Concentración y productividad de biomasa en función de la temperatura para diferentes valores de intensidad lumínica [23].

La irradiación y la temperatura determinan la longitud de la temporada de cultivo y por lo tanto la productividad. En la Figura 12, se observan las zonas que a priori son más adecuadas para la producción de biomasa teniendo en cuenta solo la intensidad lumínica y la temperatura media anual. Las zonas geográficas que se encuentran con una temperatura media a lo largo del año por debajo de los 15°C no son favorables para obtener altas productividades de biomasa [2]. Las zonas idóneas son principalmente países en desarrollo en América, África, el sudeste asiático y Oceanía. La actividad biológica de las microalgas depende positivamente de la temperatura, dentro de un rango de valores. Un aumento considerable de la temperatura por encima del valor máximo tolerable por el microorganismo puede llegar a una pérdida total del cultivo. Los sistemas con luz artificial, necesitan en muchos casos de un sistema de refrigeración debido al calor desprendido por los focos lumínicos. Por otro lado, en invierno es posible que se necesite utilizar algún sistema de calefacción. Almería, por ejemplo es un sitio idóneo para el cultivo de este tipo de microorganismos debido su temperatura y a la gran cantidad de horas reales de luz natural de las que dispone.

En la Figura 13, se presentan datos reales de concentración y productividad de biomasa, donde se observa el efecto de la

temperatura en un cultivo de *Scenedesmus almeriensis* para diferentes valores de intensidad lumínica realizados por el Departamento de Ingeniería Química de la Universidad de Almería en la estación experimental de Las Palmerillas-Cajamar.

iii. pH

La acidez de un medio viene determinada por la concentración de iones hidrógeno e hidroxilo del cultivo [H⁺] [OH⁻]. La membrana celular de las microalgas no es permeable a este tipo de iones por lo que la concentración intercelular y extracelular de éstos no está equilibrada. La posibilidad de cultivar microalgas en un medio de cultivo determinado viene dada por el valor del pH. El pH óptimo para un cultivo de microalgas se sitúa alrededor de 7-8 y suele ser letal para el cultivo cuando baja a valores inferiores a 3-4 [18]. El pH del medio modifica la solubilidad de sustancias como CO₂, minerales o nutrientes que se añaden al sistema. Existen métodos para la regulación del pH ya que éste varía a lo largo del proceso, tales como la adición de sustancias tampones (sustancias orgánicas). No es recomendable el uso de ácidos o bases para el ajuste de la acidez ya que si se utilizan bajas concentraciones de pH, la cantidad de ácidos o bases a añadir puede ser muy elevada, produciéndose una variación en el volumen que puede llegar a ser considerable. Por el otro lado, si se utilizan concentraciones elevadas la variación en la acidez en la zona de adición es muy grande y produce la muerte de las células de la zona, además de que se añade al medio de cultivo sustancias químicas nada beneficiosas. El CO₂ además de como fuente de carbono puede ser utilizado como regulador de la acidez ya que al reaccionar con el agua forma carbonatos que disminuyen el valor del pH.

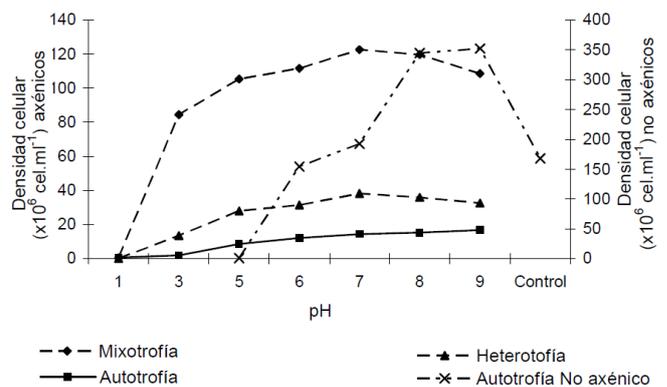


Figura 14. Influencia del pH sobre el crecimiento ($\times 10^6$ cel/ml) de la microalga *Chlorella sorokiniana* en cultivos axénicos y no axénicos [77].

A modo de ejemplo, se presentan en la Figura 14 los resultados obtenidos por científicos del Departamento de Biología de la Universidad de Zulia en Venezuela. El objetivo de este trabajo fue estudiar la respuesta de la microalga *Chlorella sorokiniana* en función del pH, temperatura y salinidad. El crecimiento y la producción de pigmentos de este microorganismo fue evaluado a pH 1, 3, 5, 6, 7, 8 y 9, tanto en cultivos axénicos como no axénicos y se

obtuvieron los siguientes resultados: en primer lugar, el crecimiento de la microalga se incrementó en función del pH para los cultivos axénicos y no axénicos.

Para cultivos no axénicos, los valores de pH 1 y 3 fueron letales para la microalga y para pH 5, se observó cierto crecimiento aunque con una inhibición del 81,79% respecto al control. El crecimiento óptimo se dio entre un valor de pH de 8 y 9. En condiciones axénicas, la microalga fue capaz de crecer a pH 3 aunque con una fuerte inhibición. El crecimiento óptimo se dio entre un valor de pH de 8,2 y 9,6 [77].

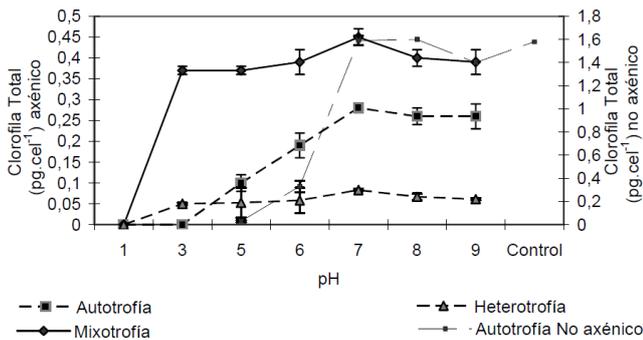


Figura 15. Influencia del pH sobre el contenido de clorofila (pg/cel) de la microalga *Chlorella sorokiana* en cultivos axénicos y no axénicos [77].

La producción de clorofila en condiciones no axénicas fue superior en el control y en los cultivos a pH 7 y 8, con una diferencia significativa, tal y como se observa en la Figura 15. La síntesis de clorofila fue estimulada a medida que el pH aumentaba. En cambio, en condiciones axénicas los valores de pH entre 3 y 9 fueron similares [77]. Los autores relacionaron la mayor producción de clorofila en cultivos no axénicos con el aporte de nutrientes ricos en fuentes nitrogenadas y de minerales que debieron ser aportados por las bacterias asociadas.

iv. Nutrientes

Para obtener un crecimiento óptimo del cultivo se deben suministrar los nutrientes adecuados en las condiciones adecuada para ello. En función de la especie e incluso de la cepa que se cultive, los requerimientos nutritivos y ambientales van a ser diferentes. Las microalgas diatomeas por ejemplo, requieren de Silicio para producir su envoltura celular. Las células necesitan para crecer macronutrientes, micronutrientes, trazas metálicas y vitaminas. Los macronutrientes son aquellos que van a formar parte de la estructura orgánica de la célula. Los principales son C, H, O, N y P aunque también entran en este grupo el Ca, Mg, S y K. Los micronutrientes son de la misma naturaleza de los anteriores pero son necesarios en cantidades muy pequeñas, y suelen formar parte de proteínas (enzimas) tales como Fe, Mn, Cu, Mo y Co. Por último, para el cultivo de microorganismos es necesaria la adición de alguna vitamina, como Tiamina, Biotina o Cianocobalamina [20]. Según el modo de operación, el suministro de nutrientes se realizará de un modo u otro. El consumo por parte de los microorganismos de los nutrientes introducidos va a

depender en parte de las condiciones ambientales del sistema. La adición de nutrientes debe realizarse por la mañana ya que se observa una mayor absorción a esta hora del día. Suele ser más limitante en defecto que en exceso, siempre dentro de un rango de valores que depende de la especie.

v. Evaporación y precipitación

En el caso de sistemas abiertos al medioambiente, el efecto de estos dos fenómenos puede ser muy significativo. La evaporación es función, principalmente, de la temperatura del aire, del viento de la zona y de la humedad relativa. En algunas zonas, la evaporación puede llegar a ser incluso superior a 10 L/m² por día, produciendo un aumento en la salinidad y en la concentración de los nutrientes, que hace inevitable la continua adición de agua al medio. El mismo efecto pero en sentido contrario es el que se plantea con las lluvias, que producen dilución de las concentraciones y favorecen la contaminación del medio de cultivo con microorganismos externos al cultivo.

vi. Agitación

La agitación es un parámetro físico indispensable para que un cultivo de microorganismos se desarrolle con éxito. Al originar un movimiento en el medio de cultivo, se produce una distribución homogénea de las células y de los nutrientes evitando la existencia de zonas muertas y evitando fenómenos de sedimentación. La agitación evita por otro lado la formación de gradientes de nutrientes o incluso de productos o subproductos del proceso, como el oxígeno. Favorece también a homogeneizar la temperatura del reactor, aunque el rozamiento puede provocar pequeñas variaciones en la misma. Se pueden utilizar diferentes métodos de agitación, que van desde la utilización de paletas en piscinas o estanques, bombas de aire o soplantes. La velocidad de agitación es importante, ya que una velocidad muy elevada puede producir mucha fricción en las células y provocar su rotura, y por otro lado, una velocidad muy baja puede no conseguir la homogeneidad necesaria.

vii. Salinidad

Es un factor importante ya que gran parte de las microalgas de interés industrial son marinas, y por lo tanto se debe utilizar una concentración salina adecuada. Cada especie presenta una tolerancia a variaciones en la salinidad diferente por lo que es un factor fundamental a tener en cuenta. Se pueden producir fenómenos de ósmosis, que en algunos casos son aprovechados para almacenar en el interior de las células sustancias de interés. A modo de ejemplo, en la Figura 16 se presentan los resultados obtenidos por científicos del Departamento de Biología de la Universidad de Zulia quienes al igual que en el estudio del pH, estudiaron el efecto de la salinidad en la microalga *Chlorella sorokiana*. En este estudio, las densidades celulares más elevadas en fase estacionaria se alcanzaron en medios no salinos, y el aumento de la salinidad produjo un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de la microalga. En cultivos

axénicos por ejemplo, a 25 y 35 ppm, la densidad celular disminuyó en un 97,9% y en un 98,5% respectivamente. El efecto de la salinidad fué más drástico en cultivos axénicos y heterotróficos que en los no axénicos. Por otro lado, la salinidad produjo un incremento del contenido celular de clorofila y carotenoides totales, en condiciones no axénicas.

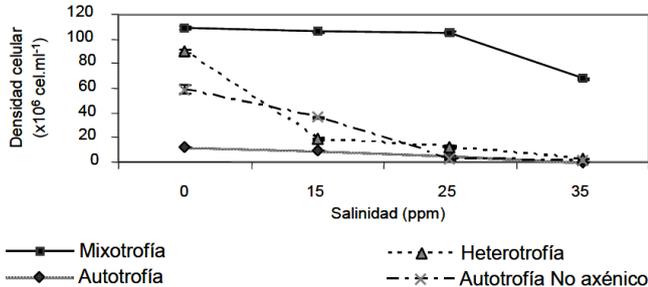


Figura 16. Influencia de la salinidad (ppm) sobre el crecimiento ($\times 10^6$ cel/ml) de la microalga *Chlorella sorokiana* en cultivos axénicos y no axénicos [77].

D. Modo de operación

En cuanto al modo de operación, el sistema más eficiente para obtener altas productividades de microalgas con una determinada composición química es el sistema de cultivo en varias fases, obteniendo eficiencias realmente altas. El modo de operación es el siguiente: en una primera fase, se centra en el crecimiento del microorganismo, aportando para ello todas las condiciones y factores necesarios para su máximo desarrollo. Posteriormente, se induce una modificación en el medio de cultivo provocando una respuesta en las células, como la producción de lípidos, producto de gran interés comercial para por ejemplo la producción de biocombustibles. Un momento muy delicado del cultivo es la introducción del inóculo, ya que si se inocula una cantidad demasiado baja, ésta puede perderse por problemas de foto-oxidación y en cambio sí se introduce una cantidad demasiado alta se tendrá problema con la captación lumínica y con la disponibilidad de nutrientes iniciales. El volumen, tiempo de cultivo y concentración óptima de inóculo debe ser calculado para cada cultivo, ya que influye en gran medida en su posterior desarrollo [22].

Para que un cultivo sea eficaz, debe presentar una serie de características. En primer lugar, la especie debe alcanzar la fase de crecimiento exponencial rápidamente, y la concentración de células en el cultivo debe ser lo más elevada posible, a un bajo coste [22]. Cuando las condiciones de cultivo no dependan de las condiciones ambientales externas se puede cultivar aquella especie que más interese comercialmente, ya que no se encuentra limitada por dichas condiciones. Sin embargo, cuando no es posible controlar determinados factores, como en el caso de los cultivos al aire libre, se deben elegir las especies que mejor se adapten a las condiciones ambientales imperantes de la zona, normalmente especies autóctonas del lugar.

Para llevar a cabo todos los procesos industriales anteriormente descritos, es necesario en primer lugar

producir la biomasa, en algunos casos en concentraciones relativamente elevadas. Para optimizar el crecimiento y el potencial de las microalgas utilizadas, se necesitan biorreactores eficientes. A pesar de que un gran número de fotobiorreactores han sido propuestos, en la práctica solo se utilizan un pequeño grupo [13]. El factor que limita la utilización de un biorreactor suele ser en la mayoría de los casos la transferencia de materia, en el medio de cultivo. Otros factores de gran importancia son por ejemplo la posibilidad de utilizar energía solar para la producción, o la posibilidad de aumentar la escala, por ejemplo para aumentar la producción. Las algas pueden crecer bien en medios abiertos o bien en sistemas cerrados (fotobiorreactores). Los primeros intentos de producir microalgas en sistemas abiertos fueron producidos durante la Segunda Guerra Mundial en Alemania. Durante la década de los 70 tomó gran importancia en la industria la producción de biomasa con fines comerciales, especialmente en el Este de Europa, Japón e Israel. Durante este periodo las algas crecían en grandes masas de agua con fines alimenticios. En África, el Lago Texcoco y el Lago Chad donde se cultivaba *Spirulina* fueron una fuente importante de alimento para la zona. En Estados Unidos, la producción de biomasa en estanques se realizaba para el tratamiento de aguas residuales. La biomasa sobrante se utilizaba para obtener metano y como fuente de energía [13].

En la actualidad, muchos de los procesos en los que intervienen estos microorganismos son muy delicados y requieren unas condiciones difíciles de conseguir en estanques o sistemas abiertos. Por ello, la producción de biomasa en estanques abiertos ha pasado a un segundo plano y se ha enfocado la producción a la utilización de biorreactores cerrados, donde se obtiene una productividad de biomasa más elevada, se permite un mejor control sobre los parámetros del proceso y se puede prevenir la contaminación del cultivo con otros microorganismos. A continuación se analizarán brevemente algunos de los principales fotobiorreactores, y algunas de sus propiedades hidrodinámicas y de transferencia de materia más importantes.

i. Sistemas abiertos

Estos sistemas operan al aire libre, lo que significa que se deben tener en cuenta factores como el clima, la topografía, el suministro de agua, la cantidad de horas de luz y su intensidad entre otras. Este tipo de reactor, suele operar con profundidades de agua de entre 15 y 30 cm [24]. Sobre este tipo de tecnología se ha experimentado desde 1950 y existe una extensa experiencia en su ingeniería, por lo que representan el método clásico de producción de biomasa y aunque se han probado diferentes tipos de reactores, los más utilizados son grandes estanques, tanques abiertos, estanques circulares y raceway. Estos últimos son los más comunes y toman su nombre por su similitud con un circuito de carreras (ver Figura 17).

Los tanques circulares presentan una serie de desventajas como la mala utilización del terreno, los altos costes de la instalación, ya que están hechas con hormigón, y un alto

consumo de energía. Los *raceway* consisten en un circuito cerrado donde el medio de cultivo y las algas circulan alrededor de una pista. El medio de cultivo es impulsado mediante una rueda de paletas, hélices o inyectores de aire, que además, homogenizan los nutrientes y los microorganismos. Este tipo de biorreactores son utilizados principalmente en Israel, Estados Unidos, Australia y China. Durante el día, el cultivo es alimentado de manera continua por la parte inicial donde la rueda de paletas comienza a generar el flujo. El reactor *raceway* más grande construido hasta el momento tiene como finalidad la producción de biomasa y se encuentra en Calipatria, California. Tiene una superficie ocupada de 440.000m² donde se cultiva *Spirulina sp.* La productividad en este tipo de reactores se ve afectada por la contaminación de otras especies de algas no deseadas u otro tipo de microorganismo que pueda crecer en el medio de cultivo.



Figura 17. Sistema abierto de tipo *raceway* de producción de biomasa en Eilat, Israel [32]

Otro tipo común de biorreactor abierto son las superficies inclinadas, quienes tienen principalmente dos ventajas en comparación con el típico *raceway*: favorecen el flujo turbulento y la transferencia de materia y disminuyen la profundidad del cultivo (en la zona con pendiente la profundidad media es de 3.5 cm) mejorando la captación de luz. Otras técnicas utilizadas en este tipo de reactores son las de instalar superficies reflectantes en el fondo del reactor para aumentar la captación de luz y utilizar sistemas de inyección de CO₂ aumentando la absorción hasta en un 78% [24].

Los sistemas de producción abiertos tienen acceso directo a la luz solar, son más fáciles de construir y de operar que la mayoría de los sistemas cerrados y han sido estudiados en gran medida durante los últimos 40 años. Sus costes de construcción, y de operación son bajos aunque por otro lado, pero una serie importante de desventajas hacen que este tipo de reactores estén quedando en un segundo plano, en comparación con los biorreactores cerrados. Sólo un pequeño número de microalgas puede ser cultivada satisfactoriamente en este tipo de reactores. Existen grandes problemas para evitar la contaminación por microorganismos

salvajes, el efecto de la evaporación es muy significativo, especialmente en zonas calurosas, y se requiere gran cantidad de terreno.

Tabla 9. Comparación entre sistemas abiertos y cerrados [24].

	Sistemas Abiertos	Sistemas Cerrados
Riesgo de contaminación	Alto	Bajo
Perdida de CO ₂	Alta	Baja
Perdidas por evaporación	Alta	Baja
Uso eficaz de la luz	Malo	Excelente
Relación Área/Volumen	Baja	Alta
Área requerida	Alta	Baja
Control del proceso	Difícil	Fácil
Productividad de biomasa	Baja	Alta
Costes de inversión	Bajo	Alto
Costes de operación	Bajo	Alto
Escalamiento	Fácil	Difícil
Limpieza	No necesaria	Necesaria
Concentración de biomasa	Baja	Alta

A pesar de los grandes avances y esfuerzos realizados durante los últimos años en optimizar este tipo de biorreactores, además de presentar grandes problemas de contaminación, requerir altas cantidades de terreno y tener grandes pérdidas de medio y de gases, la productividad de biomasa es muy baja comparada con la de los sistemas cerrados. Debido a estas limitaciones, se ha centrado el interés en investigación para construir sistemas de cultivo cerrados, los cuales se describen a continuación. En la Tabla 9, se presenta un resumen con las principales diferencias entre los sistemas de cultivo abiertos y cerrados. La elección de un reactor u otro, va a depender en gran medida del producto deseado, y del microorganismo a utilizar.

ii. Sistemas cerrados: Fotobiorreactores

Han surgido para solucionar los problemas que presentan los sistemas anteriores. Son más caros tanto en los costes de inversión como de operación, pero mitigan las carencias de los procesos tradicionales [15]. Existen diversos diseños de fotobiorreactores, de múltiples características morfológicas. Los fotobiorreactores han sido utilizados para producir grandes cantidades de biomasa [25] y algunos de los más comunes son los fotobiorreactores tubulares, *flat plate*, columnas verticales o los tanques agitados. A continuación se analizarán los fotobiorreactores más comunes en la actualidad, así como sus principales características. A escala de laboratorio, los biorreactores utilizados son normalmente cerrados e iluminados artificialmente (interna o externamente) utilizando lámparas fluorescentes. A esta escala no es difícil controlar el proceso, pero a gran escala se presenta el problema de controlar la temperatura, no basta con situar el reactor en una habitación con temperatura constante, requiriendo de un esfuerzo técnico considerable. En la actualidad, ya se encuentran en el mercado una serie de biorreactores comerciales, por ejemplo, los fotobiorreactores BIOSTAT (desarrollados por Sartorius BBI Systems Inc.) que están preparados para este objetivo.

FOTOBIOREACTORES TUBULARES.

Los fotobiorreactores totalmente cerrados son potencialmente utilizables para la producción a gran escala de cultivos axénicos de microalgas, y es uno de los métodos de cultivo al aire libre más efectivos [26]. Gudín y Chaumont fueron los primeros en desarrollar un reactor tubular de 100 m² creado con polietileno y con el fin de cultivar *Porphyridium cruentum*, un alga roja [24].

La mayoría están contruidos con plástico transparente o cristal y los cultivos son recirculados con una bomba o bien mediante inyección de aire, que permite el intercambio entre el CO₂ y O₂ entre el líquido del medio y el gas de aireación (ver Figura 18). Este tipo de reactores pueden encontrarse en forma horizontal/serpentina, vertical, horizontal, cónico o inclinado [17] [26]. La aireación y la agitación suele realizarse mediante inyección de aire o mediante bombas de aire. Las ventajas y desventajas de este tipo de fotobiorreactores se presentan resumidas en la Tabla 9. Estos reactores son ideales para cultivos al aire libre, debido a la gran superficie iluminada que presentan. El diámetro del tubo suele estar limitado alrededor de 0,1 m. Un aumento en el diámetro del tubo provoca una reducción de la relación Superficie/Volumen con una gran influencia en el cultivo. La longitud del tubo influye principalmente en el tiempo de residencia del alga dentro del fotobiorreactor.



Figura 18. Cultivo de *Chlorella vulgaris* en un fotobiorreactor tubular en Klötze, Alemania. Es el mayor biorreactor del mundo con más de 500Km de tubos de cristal distribuidos en 1,2 Ha.

Sus principales inconvenientes son que se obtienen un bajo coeficiente de transferencia de materia, y que resulta muy difícil escalar el biorreactor. Para escalar este tipo de reactor basta con aumentar el diámetro o la longitud del tubo, aunque hay una serie de limitaciones además de las ya explicadas que dificultan este proceso. Un aumento de la longitud y del tiempo de residencia de las algas dentro del reactor produce gradientes de CO₂ y una acumulación del O₂ producido por fotosíntesis que puede provocar una inhibición de la fotosíntesis e interrumpir el crecimiento celular.

Concentraciones de oxígeno superiores a 35 mg/L son tóxicas para la mayoría de microalgas [24]. La fotoinhibición

también es común en este tipo de sistemas [28]. Un problema en el que se están centrando la mayoría de las investigaciones en este sector es en el de mejorar la transferencia de materia. El Instituto de Ciencias y Bioingeniería de la Universidad de Tsukuba consiguió mejorar la transferencia de materia, instalando mezcladores estáticos dentro del reactor para aumentar la agitación [17]. El principal inconveniente de este tipo de biorreactores es que no se puede aumentar la escala indefinidamente por lo que la producción a gran escala debe realizarse con unidades de biorreactores aumentando los costes considerablemente.

FOTOBIOREACTORES TIPO BOLSA.

La idea de crear estos biorreactores viene de la morfología de las hojas de las plantas, que tienen una gran relación Superficie/Volumen y una gran superficie para captar la luz solar (ver Figura 19). Los primeros fueron creados por Samson y Leduy, en 1985. Eran iluminados con luz artificial y agitados mediante inyección de aire [16]. Tienen una serie de ventajas desde el punto de vista de la producción de biomasa de microorganismos fotoautotróficos, que los han convertido en los reactores estándar para la producción de biomasa en varias especies de microalgas [78].

Una de las razones por las que han tomado tanta importancia, es que la laminación del cultivo orientado correctamente con respecto al sol parece ser la mejor manera de exponer los cultivos a la iluminación [78]. Los reactores *flat plate* y los reactores tubulares verticales tienen una relación superficie/volumen similar. A pesar de esto, el oxígeno en los reactores *flat plate* sufre, como regla general, una trayectoria más corta disminuyendo así la acumulación de O₂ en el reactor que puede llegar a ser perjudicial para el cultivo. El flujo turbulento se obtiene más fácilmente en este tipo de biorreactor comparado con reactores tubulares largos. Además de las ya nombradas, en comparación con los reactores tubulares, tienen una serie de ventajas importantes como por ejemplo que el grosor de la pared del reactor es mucho menor en este caso, favoreciendo entre otras cosas el paso de la luz. La agitación se produce normalmente gracias a la introducción de aire por la parte inferior del reactor. Están normalmente iluminados por un lado por luz solar aunque tienen la ventaja de ser móviles y poder situarse verticalmente o inclinados según la ubicación del sol mejorando así la incidencia de la luz y favoreciendo el control de la temperatura [29]. Hay estudios que demuestran la complejidad del cálculo del ángulo óptimo para la incidencia y que se tiene que modificar incluso cuatro veces por año [24]. Pueden ser contruidos de cristal y pegados con silicona, o bien pueden ser de plástico. Se pueden alcanzar altas concentraciones de biomasa (>80 g/L) aunque con algunas limitaciones. Se produce adhesión de las algas a las paredes del reactor y es complicado esterilizar el reactor entre cultivo y cultivo [24]. La principal desventaja de este tipo de biorreactores es la dificultad del control de la temperatura, hasta el punto de que en algunos casos se utilizan intercambiadores de calor de acero inoxidable dentro del reactor.



Figura 19. Reactor *flat-plate*, diseñado para una captación óptima de luz en el Departamento de Ingeniería de Bioprocesos de la Universidad de Karlsruhe, Alemania.

Son utilizados para la producción de biomasa en el exterior e interior debido a sus ventajas de elevada superficie iluminada, y a su baja acumulación de O_2 . Una gran ventaja en comparación con los anteriores es su facilidad para escalar este tipo de plantas (aunque su coste es elevado) y la alta eficiencia en la fotosíntesis en sus células [30].

BIORREACTORES AIRLIFT

Son dispositivos simples que se utilizan normalmente para bioprocesos, tratamiento de aguas y en la industria química en general. Son biorreactores fáciles de operar axénicamente, compactos y de bajo coste [24]. Una de sus principales ventajas en comparación con otros biorreactores es su simplicidad mecánica (ver Figura 20). Uno de los costes extra de cultivar microalgas en este tipo de reactores es el del gas que se le inyecta por la base, y a pesar de tener un gran potencial en la industria de bioprocesos, aún no hay muchos ejemplos de aplicación a gran escala [79].

El término *airlift* envuelve una gran cantidad de dispositivos de contacto gas-líquido o gas-líquido-sólido [34]. En este tipo de biorreactor, el cultivo es agitado neumáticamente mediante inyección de aire u otros gases por su base.

Además de la agitación, la función del gas es la de facilitar el intercambio de materia entre el gas y el líquido. La diferencia entre un reactor *airlift* y una columna de burbujeo radica en el flujo del fluido, que depende de la geometría. Una columna de burbujeo consiste en un recipiente simple en el que el gas es inyectado (normalmente por la base) y en el que se produce una agitación aleatoria dentro del reactor. En un biorreactor *airlift* sin embargo, la agitación no es aleatoria y se controla mediante parámetros de diseño. Estos reactores disponen de una zona para la subida y otra para la bajada de los fluidos separadas entre sí. Las dos zonas están conectadas entre sí en la base y en la parte superior del reactor formando un bucle cerrado.

Se pueden dividir en dos grandes grupos, (a) Reactores con el bucle de circulación externo, y donde la circulación tiene lugar en dos zonas diferentes y (b) donde el bucle de recirculación es interno [34]. El separador gas-líquido depende del diseño del reactor y de las condiciones de operación. La circulación del gas y del líquido dentro del reactor se debe a la diferencia de presión que se produce en la base del equipo.



Figura 20. Biorreactor *airlift* con iluminación interna comercializado por la empresa suiza *Diachrom Biotechnology*.

En los reactores convencionales, o en columnas de burbujeo, la energía para la agitación del cultivo es introducida puntualmente, bien en un punto del reactor bien mediante un inyector de aire o un agitador mecánico. Debido a esto, la disipación de energía en los alrededores del agitador es muy grande, disminuyendo a medida que se aleja de este [34]. La fuerza de cizalla será también mayor en esta zona, lo que produce un gradiente en las fuerzas de cizalla que produce pequeños gradientes de temperatura y de concentraciones de sustrato, producto y de electrolitos [34]. Este problema no se produce en los reactores *airlift*, donde que a pesar de que el gas es introducido en un punto concreto del reactor, la influencia de éste en la dinámica del sistema es mínima. Hay principalmente dos procesos en los que se trabaje a gran escala y en los que se pueden aprovechar de las características de este tipo de biorreactor: el tratamiento de aguas residuales y el tratamiento líquido-gaseoso utilizando microalgas para la absorción de CO_2 . Para los primeros, se han propuesto y utilizado una gran cantidad de

configuraciones, mientras que el proceso de absorción de CO₂ utilizando reactores *airlift* es más reciente y está siendo ampliamente investigado.

Por último, aunque en menor medida, también son utilizados los tanques agitados propuestos originalmente para el crecimiento continuo de microalgas fototróficamente, utilizando luz artificial o natural, ya que el biorreactor estándar tanto a nivel industrial como a nivel de laboratorio. Son recipientes agitados donde se adiciona y retira continuamente material y energía. Su principal ventaja es su facilidad para el escalado y el control. En la actualidad se utiliza principalmente a nivel de laboratorio y su utilización está entrando en desuso. Como se ha visto, un gran número de biorreactores pueden ser utilizados para la producción de biomasa o de productos producidos por microalgas. Aparentemente, aunque muchos fotobiorreactores pueden ser operados a escala de laboratorio, sólo un número reducido puede ser escalado satisfactoriamente a una escala de planta piloto [13]. El escalado de los biorreactores presenta una gran dificultad a la hora de optimizar la incidencia de la luz, el control de la temperatura, la agitación y la transferencia de materia.

E. Recolección y cosecha

Una vez obtenida la concentración deseada de biomasa, se procede a la recolección o cosecha de la misma. La elección de la técnica de cosecha depende de las características de la microalga, de su tamaño, densidad y del valor de los productos finales [95],[14]. Es un proceso complejo en el que no se entrará en detalle en este trabajo, pero que consiste básicamente en dos etapas: (i) Recolección masiva, tiene como objetivo la separación de la biomasa del agua. Depende de la concentración inicial de biomasa, y las técnicas más utilizadas son la floculación, sedimentación por gravedad y mediante flotación. (ii) Espesamiento, el objetivo es concentrar la mezcla a través de técnicas como la centrifugación o el filtrado y son, generalmente, procesos de elevado coste energético [96].

La biomasa procedente del cultivo de microalgas, en función de la técnica de cultivo y su posterior recolección, puede presentar un rango de humedad variable del 75% al 98%. Por ello, desde el punto de vista económico y operacional se hace necesario deshidratar el producto previamente antes de su utilización en las industrias, tal como se observa en la Figura 21. Es un producto perecedero y debe tratarse con rapidez tras ser cultivado en función del producto final deseado. Es complejo discutir sobre el proceso de secado y no se estudiará en este trabajo, ya que este es muy específico y depende del producto final deseado. Los métodos más comunes para secar microalgas son el secado por aspersion [91], mediante tambores de secado [92], la deshidratación por congelamiento o liofilización [93] y el secado al sol (este último no es adecuado para producir alga en polvo – ver Figura 21).



Figura 21. *Spirulina sp.* en polvo.

El secado al sol es el método más barato, aunque requiere de largos tiempos y superficies. El secado por aspersion se utiliza para productos de alto valor ya que es relativamente caro. La liofilización es igualmente costosa aunque facilita la extracción de aceites [93]. El coste del secado es una consideración importante en el procesamiento del polvo de la biomasa algal. Después del secado, en caso de que sea necesario, continúa la ruptura celular para liberar los metabolitos de interés. Para la producción de biocombustible deben extraerse lípidos y ácidos grasos; normalmente se realiza una extracción por solventes de la biomasa liofilizada, método rápido y eficiente que reduce la degradación.

IV. VENTAJAS

Hasta el momento se han presentado los principales productos y usos derivados de la utilización de microalgas, así como las características y los parámetros más importantes a tener en cuenta durante el cultivo. En este capítulo, se muestra un resumen con las principales ventajas de la utilización de la biotecnología de microalgas frente a los métodos clásicos de producción, justificando su interés de cara al futuro.

La principal ventaja de esta tecnología, desde el punto de vista de la comercialización del producto, y que hace pensar en un futuro realmente alentador para la biotecnología de microalgas, es su elevado potencial genético y su diversidad. Se estima que aún quedan más de 10 millones de especies de microalgas sin catalogar. Por otro lado, de las especies de microalgas conocidas, menos del 1% han sido sometidas a trabajos de *sceening*, para la identificación de nuevas sustancias bioactivas o nuevas aplicaciones de interés industrial o agropecuario. Actualmente se conocen más de 15.000 compuestos que se producen a partir de algas, y mediante la modificación de su código genético, este número aumentará en el futuro. Su metabolismo es fácilmente manipulable, tienen una tasa de crecimiento alto y debido a la biodiversidad y al metabolismo único, las investigaciones

sobre las microalgas representan un gran desafío para los científicos. Además de los productos ya comentados en este trabajo, se encuentran en el mercado productos tan variados como el champú de proteínas de algas o los de microalga, demostrando que las posibilidades de comercializar estos microorganismos son realmente variadas.

Desde el punto de vista productivo, las microalgas tienen una infinidad de ventajas frente a los métodos tradicionales de producción. La principal ventaja respecto a otras fuentes de proteínas es su elevada velocidad de crecimiento. Estas crecen unas 30 veces más rápido que las plantas terrestres, y se pueden cosechar entre 1 y 10 días. Bajo las limitaciones que tiene la tecnología en la actualidad, las algas pueden convertir alrededor del 15% de la radiación solar disponible (PAR-photosynthetic available radiation) o el 6% de la radiación solar incidente total mediante fotosíntesis. Los cultivos terrestres tienen una eficiencia de conversión fotosintética mucho menor. La caña de azúcar por ejemplo, no supera el 3,4-4% de PAR [58]. Otra de las grandes ventajas de las microalgas es que pueden desarrollarse en agua salada, dulce e incluso en aguas residuales, por lo que tienen una excelente adaptación, permitiendo por otro lado la no utilización de tierra para su cultivo [50]. Son una fuente de energía renovable, necesitan una cantidad de terreno mínima y producen altas concentraciones de lípidos y proteínas sin competir con la agricultura. Por otro lado, tras la extracción de los lípidos utilizados en la transesterificación, la biomasa restante tiene un elevado valor añadido debido a su elevada concentración en proteínas e hidratos de carbono y, como ya se ha comentado anteriormente, a su utilización para obtener diferentes productos o subproductos de interés. Es realmente importante que la producción de proteínas mediante microalgas no compita con la de las plantas terrestres, ya que la utilización de biomasa terrestre para la producción de combustibles lleva asociado un aumento de los precios de los alimentos y se evita así el debate entre alimentos o combustibles generado durante los últimos años.

Las ventajas medioambientales de la utilización de microalgas frente a los métodos de producción actuales son obvias. Además de consumir CO₂ del aire, y de poder ser cultivadas durante todo el año, la principal ventaja de la utilización de microalgas es su flexibilidad en cuanto a la calidad del agua utilizada. A pesar de crecer naturalmente en agua salada, las microalgas pueden crecer incluso en aguas residuales o en aguas con altas concentraciones de nitratos, fosfatos u otros contaminantes. La utilización de microalgas conlleva también una serie de ventajas sociales en la zona como la creación de nuevos empleos, la concienciación de la población sobre los efectos del cambio climático y sobre los problemas de contaminación del medioambiente actuales, así como un desarrollo económico para la zona.

Por último, se presenta un balance económico realizado a una planta piloto de producción real de *Scenedesmus almeriensis* situada en la Estación Experimental Las Palmerillas, en Almería, España. Los datos corresponden a una planta con diez fotobiorreactores tubulares de 3m³, operando durante 2 años y donde se cultivó *Scenedesmus almeriensis* de modo continuo.

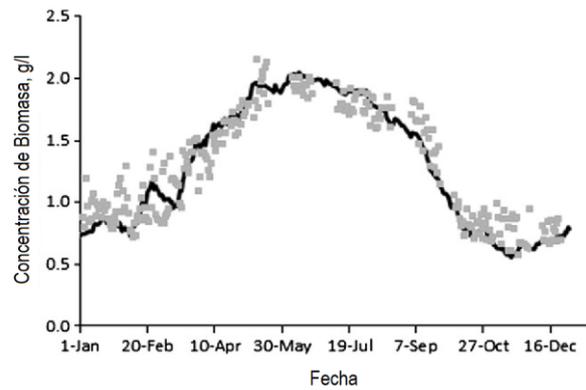


Figura 22. Concentración de biomasa durante el año para un cultivo de *Scenedesmus almeriensis* en una instalación industrial de 30m³ en Almería [80].

El coste total de producción fue de 69€/kg, aunque un balance económico permite comprobar que simplificando los materiales y la tecnología utilizada, y escalando la instalación hasta una producción de 200 t/año este precio se podría reducir por debajo de 13 €/kg [80]. Para calcular los costes de producción de un producto, en este caso de biomasa de microalgas, es necesario describir la instalación y el proceso completos incluyendo los equipos utilizados. El coste total de la producción, puede ser calculado como una suma de la depreciación y los costes directos de producción. La depreciación incluye la amortización del capital fijo y los impuestos de propiedad, de compra, y los seguros. Los costes directos de producción consisten en los costes de las materias primas, instalaciones y otros como mantenimiento o supervisión. En la Figura 22, se presentan los valores anuales de biomasa obtenidos.

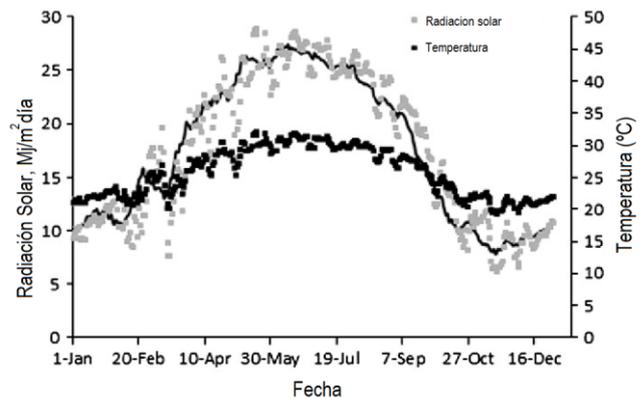


Figura 23. Radiación solar y temperatura durante el año para un cultivo de *Scenedesmus almeriensis* en una instalación industrial de 30m³ en Almería [80].

Como se observa en la Figura 23, las condiciones climatológicas de Almería permiten el cultivo de este microorganismo sin mucha dificultad a lo largo de todo el año, obteniendo concentraciones de biomasa de 0,7 a 2,0 g/l. La concentración de biomasa varía a lo largo del año en función de la radiación solar. La productividad de biomasa varía a lo largo del año entre 15 y 45 g/m².día. Para mantener esta elevada productividad, es necesaria la inyección de CO₂ y fertilizantes que actúan como fuente de nutrientes. Se

inyectaron alrededor de 40 Kg/día de CO₂ aunque este valor varía dependiendo de la temporada. Parte del CO₂ inyectado se pierde en forma de bicarbonato, tal como se puede observar en la Tabla 10 donde se presentan los componentes administrados a los biorreactores.

Tabla 10. Balance de materia a los principales componentes añadidos al medio de cultivo [80].

Componente	Entrada (kg/día)	Salida (kg/día)
CO ₂	40,00	10,20
Bicarbonato	1,25	3,00
Sulfato	3,56	1,10
Nitrato	4,87	0,57
Potasio	0,91	0,76
Calcio	2,16	1,76
Magnesio	1,53	0,21
Fosforo	0,64	0,22

Todos los componentes fueron suministrados en exceso ya que a la salida aún quedan cantidades significantes de todos ellos. Otro gasto considerable a tener en cuenta es el energético. En la Tabla 11 se presenta el coste energético diario de cada uno de los principales equipos utilizados, que será más importante en equipos que funcionen las 24h del día. El consumo total de energía es de 448,2 kWh/día aproximadamente. Por otro lado, se ha calculado la energía química fija en la biomasa mediante combustión obteniendo 72 kWh/día.

Tabla 11. Consumo de energía del principal equipo en función de su potencia y su utilización diaria [80].

Equipo	Potencia (W)	Consumo diario (kWh/día)
Bomba centrífuga	1000	240,0
Bomba de aire	4000	96,0
Decantador	5500	33,0
Mezclador	1100	6,6
Unidad de ozono	1100	6,6
Unidad de control	550	13,2

De acuerdo con estos datos, la eficiencia fotosintética del cultivo fue del 3,4%. Se ha calculado el coste de la producción de biomasa a escala semi-industrial, teniendo en cuenta todos los datos previamente comentados. Teniendo en cuenta que se puede esperar una productividad de biomasa de 0,42 g/l.día en un volumen total de 30 m³ (teniendo en cuenta la dilución), se puede calcular la capacidad de producción de biomasa que será de 3,83 t/año de biomasa. Por otro lado, el capital fijo requerido para que operar la instalación es de 1024 k€. Considerando un tiempo de vida de la instalación de 10 años, el capital fijo anual es de 116 k€. En cuanto a materias primas, los costes son de aproximadamente 13,5 k€ por año, siendo el CO₂ el

principal coste. Teniendo en cuenta todo esto, se puede concluir que los costes totales de producción de biomasa resultan en 69,3 €/kg. Para garantizar un diseño rentable de la producción de productos energéticos, los costes totales no deben superar los 40 €/m² [81], un valor muy inferior al obtenido en este proyecto, alrededor de 2400€/m². Este valor podría ser reducido a 750€/m² operando a gran escala, y suponiendo que se pueda reducir el coste del biorreactor a 0,1€/l, se podrían alcanzar unos costes de 49€/m² [81].

A pesar de que se ha publicado que la producción de biocombustibles mediante microalgas está cerca de ser rentable económicamente [81], los procesos actuales de producción requieren de una gran reducción de costes tanto de operación como de costes fijos. Los fotobiorreactores cerrados obtienen productividades muy superiores a las obtenidas mediante sistemas abiertos, aunque para ser rentables económicamente, sus costes deben ser inferiores a los de los reactores *raceway*, algo que en la actualidad es inalcanzable. El principal objetivo de las investigaciones relacionadas debe ser reducir los costes fijos y de operación, mediante una automatización del sistema que lo haga más eficiente, o mediante una simplificación del proceso que permite abaratar los costes fijos y de operación diarios. Se deben reducir considerablemente los costes energéticos y de materias primas. Una opción a tener en cuenta podría ser la utilización de aguas residuales o contaminadas y gases de combustión como fuente de carbono en el medio de cultivo en instalaciones a gran escala. Las materias primas fundamentales son el dióxido de carbono, el agua y ciertos nutrientes minerales. Hay una serie de proyectos integrados en su etapa final, en los que se recicla el agua, los nutrientes minerales, tanto nitratos como fosfatos, se obtienen agregando al agua un 2% de orina humana y el dióxido de carbono se obtiene de las chimeneas de las compañías eléctricas, grandes emisoras de CO₂.

No contribuir al calentamiento global, dar una solución global a la necesidad de combustibles destinados al transporte, y la obtención de gran cantidad de productos de elevado valor, constituyen incentivos suficientes para que finalmente la comunidad científica, económica y política oriente sus esfuerzos y conocimientos a la biotecnología de microalgas.

V. NECESIDADES

Tal y como se ha comentado a lo largo de este proyecto, en la actualidad, las microalgas y la biotecnología tienen una vasta aplicación en varios ámbitos de la vida humana; se utilizan como suplementos dietéticos, en medicina, productos farmacéuticos, cosmética, en la búsqueda y obtención de nuevos combustibles, alimentación de aves de corral, cerdos, rumiantes, y en acuicultura para la alimentación de peces. Aun así, se prevé que la importancia de estos microorganismos en el día a día de las personas aumentará en el futuro.

Son muchos los elementos que deterioran el medio natural y muchas las actividades del hombre que tienen consecuencias negativas en los recursos naturales de la Tierra. No existe ningún medio que no esté afectado o con grandes posibilidades de afectarse, y no existe ninguna solución en la actualidad que garantice la resolución de este problema. Los organismos nacionales e internacionales publican cifras aproximadas de millones de toneladas de compuestos químicos vertidos al medioambiente anualmente. Como ya se ha explicado anteriormente, las microalgas se utilizan en la actualidad, entre otros, en procesos de absorción de CO₂, en el tratamiento de efluentes contaminados por metales pesados o compuestos tóxicos orgánicos y en el tratamiento de aguas residuales urbanas e industriales. La posibilidad de manipular genéticamente a las microalgas, haciendo que crezcan en medios donde normalmente no lo harían, y su capacidad de transformar productos contaminantes en compuestos degradables o de interés, hace pensar que la importancia y la utilización de las microalgas dentro de los procesos de biorremediación irán aumentando en el futuro.

Debido a su gran versatilidad, las algas prometen ser uno de los alimentos con mayor capacidad de desarrollo de alimentos personalizados y alimentos para animales. La demanda mundial de productos naturales con efectos beneficiosos para la salud aumenta constantemente. Como ya se ha visto anteriormente, la comercialización de productos alimenticios para consumo humano obtenidos a partir de microalgas es una realidad. Una gran combinación de mezclas de microalgas y con otros alimentos pueden encontrarse sin problema en el mercado. En algunos países como Alemania, Francia, Japón, China, Estados Unidos o Tailandia, las principales compañías destinadas a la industria alimentaria han comenzado serios proyectos utilizando microalgas y cianobacteria dentro del mercado de los alimentos funcionales [42]. La viabilidad de incorporar biomasa de microalgas en sistemas alimenticios está condicionada por el tipo y la intensidad del proceso (mecánico, temperatura, etc.), por la naturaleza de la matriz alimenticia (emulsiones, geles, etc.) y de las posibles interacciones entre ésta y el resto de componentes del alimento (proteínas, polisacáridos, lípidos, azúcares, sales, etc.). El principal impedimento para la explotación a gran escala de las microalgas y de la biotecnología en general en la industria alimenticia son la gran cantidad de restricciones legales que imponen los gobiernos, aunque casos como por ejemplo la aprobación de la diatomea *Odontella aurita* por Innovalg en Francia como alimento novel, hacen pensar que la introducción de esta tecnología en esta industria aumentará a medida que pase el tiempo.

Posiblemente la industria con más proyección relacionada con las microalgas, y en la que se están centrando la mayoría de los científicos y empresas, es la de los biocombustibles. Los biocombustibles obtenidos a partir de microalgas han generado un gran interés a nivel mundial. Un gran número de empresas grandes y medianas de todo el mundo están en la actualidad desarrollando proyectos relacionados con los biocombustibles. El Departamento de Energía de los Estados Unidos, ha publicado recientemente el mapa nacional de biocombustibles obtenidos a partir de microalgas y en el que

se ve un futuro realmente esperanzador para esta tecnología. Un estudio realmente interesante publicado recientemente llamado *Algae 2020* identifica cinco estrategias principales que se deben llevar a cabo y optimizar para que la comercialización de biocombustibles se asiente finalmente en el mercado de los combustibles durante los próximos años. Se deben obtener especies de microalgas con alto contenido en lípidos, que crezcan rápido, de una forma barata y fácil. Además, se debe producir un acercamiento a la comercialización fraccionada, es decir, la obtención de subproductos con valor comercial cuyo principal objetivo sería la reducción de costes para el productor y acelerar la comercialización de los biocombustibles [67]. Se habla en primer lugar de obtener especies de microalgas con elevado contenido lipídico y de crecimiento rápido. Estas son dos necesidades básicas para que la comercialización de biocombustibles sea posible, especialmente especies con altos contenidos de triglicéridos (TAG) para la producción de biodiesel y biocrudo. Un gran número de científicos y productores de biodiesel están en la actualidad centrando sus esfuerzos en la identificación de nuevas especies y métodos de cultivo que permitan aumentar la concentración de lípidos. Se calcula que si los productores pudieran utilizar microalgas con una concentración del 60% de lípidos, se podría reducir el tamaño de los sistemas de producción a la mitad, resultando en una gran disminución de los costes de capital y de operación [67]. En segundo lugar, la comercialización de biocombustibles depende también de la economía del proceso. Anteriormente se ha comentado que para que el proceso de producción salga rentable, se debe producir de una forma sencilla y económica. Los sistemas de producción de biomasa son sistemas complejos con varios subsistemas (producción, recolección, extracción, secado, etc.) por lo que la reducción de las fases de producción de biocombustibles es esencial para obtener mejores sistemas de producción: más sencillos y de menor coste [67]. Un gran desafío para los investigadores será principalmente descubrir sistemas de extracción y recolección más baratos. La empresa norteamericana Origin Oil ha desarrollado un sistema que combina las etapas de recolección y extracción en una misma etapa reduciendo así la complejidad del proceso global y los costes de producción. Con la llegada al mercado de fotobiorreactores más económicos, se espera que estos costes disminuyan considerablemente durante los próximos años.

Los biorreactores del futuro deben ser mejorados considerablemente para obtener una eficiencia fotosintética próxima a la máxima teórica, para lograr una mayor concentración de biomasa y para reducir los costes energéticos reduciendo los costes de inversión. A continuación se enumeran una serie de medidas imprescindibles para reducir los costes de producción:

(i) Toma de muestras, Modelado y Control: En las últimas publicaciones científicas relacionadas con la producción de microalgas, los datos proporcionados han sido principalmente variables de control, como el contenido de CO₂ o la incidencia de la luz [82]. Sin embargo, no se tiene constancia de mucha información de lo que realmente pasa dentro de los reactores y de lo que realmente experimentan

las microalgas. Incluso en plantas de producción ya existentes, una mejora en la toma de muestras y en el control podría favorecer ampliamente el proceso [83]. En muchos casos, el valor del pH está relacionado con la concentración de CO₂ dependiendo de la demanda estequiométrica y de la cinética de crecimiento de la microalga [82]. Utilizando varios sensores de gases a lo largo del reactor se podrían evitar problemas de limitación de CO₂ y se podrían reducir costes de energía y de materias primas evitando problemas de sobrealimentación [84]. Esto vale también para otros parámetros importantes en el crecimiento como la concentración de O₂, radiación solar, etc. Una manera directa de llegar a un enfoque ingenieril del diseño del reactor requiere de la simulación de la dinámica de las tres fases del sistema, incluyendo las pequeñas burbujas que se forman en su interior, teniendo en cuenta la trayectoria de las células [78], el cálculo de la incidencia de la luz y su atenuación, y acoplándolo con los modelos dinámicos y cinéticos de crecimiento de las células [86] [87]. De esta manera se pueden obtener parámetros relacionados con la cinética del crecimiento, de transferencia de materia y de agitación difíciles de saber de antemano. Desde un punto de vista bioquímico, mediante ingeniería genética se podrían obtener microalgas que no se peguen a las paredes, mejorando así la incidencia de luz, más fáciles de separar por floculación - disminuyendo los costes de operación- y más tolerantes a altas concentraciones de oxígeno [82].



Figura 24. Lámpara basada en microalgas diseñada por Pierre Calleja.

(ii) Fuente de carbono y agitación: Un punto de gran pérdida de energía en los biorreactores es la aireación. El aire introducido debe ser comprimido, se bombea a través de tubos y membranas para limpiarlos y finalmente es introducido en el reactor en contra de la presión hidrodinámica [82]. Se han realizado estudios para abastecer de CO₂ al medio de cultivo mediante unos módulos de membranas de fibra hueca. La retirada de oxígeno, y la introducción de dióxido de carbono mediante membranas se está estudiando en la actualidad [88] [89].

(iii) Aumento de la superficie interna: Una opción para aumentar el rendimiento del reactor es ampliar la superficie interna mediante componentes integrados transparentes [82]. Los más comunes son barras o fibras de vidrio dentro de

tubos o placas [82]. La función es principalmente ampliar la superficie del reactor y por lo tanto la superficie de incidencia de la luz. Por último, una alternativa a llevar a las algas a la luz aumentando y aclarando la superficie del reactor, es llevar la luz a las algas. Esto podría dar lugar a la utilización de micro estructuras, como por ejemplo, la inmovilización de microalgas en fibras de vidrio [82]. Se han propuesto diferentes estructuras como reactores totalmente cerrados en los que se conduce la luz a su interior y se transmite mediante fibras y paneles laterales [90].

Por último, es de gran importancia para el éxito, la comercialización de subproductos obtenidos a partir del proceso. Incluso obteniendo concentraciones de lípidos del 50% y obteniendo una extracción del 100% de ellos de la biomasa, quedaría un 50% de biomasa restante para comercializar. Esta fracción de biomasa contiene proteínas de elevado valor comercial utilizadas principalmente para la alimentación animal. Además hay una serie de compuestos químicos de gran interés comercial que podrían sustituir a compuestos ampliamente demandados como plásticos, detergentes, productos de limpieza o polímeros y que son biodegradables y no tóxicos.

El abanico de posibilidades que ofrece la tecnología de microalgas es tan extenso que no sólo se limita a los productos presentados anteriormente. Su gran potencial y sus características abren las puertas a estos microorganismos a mercados en principio inesperados. Por ejemplo, el bioquímico francés Pierre Calleja, ha inventado una lámpara de calle basada en microalgas que además de generar un efecto óptico impresionante (tal como se observa en la Figura 24), es capaz de absorber más de 150 a 200 veces la cantidad de CO₂ que absorbe un árbol.

La biotecnología de microalgas tiene el potencial de proveer de una gran cantidad de beneficios a las industrias del Siglo XXI, y enriquecer y mejorar la calidad de vida humana. De cara al futuro, el potencial de investigación de esta tecnología es enorme.

VI. CONCLUSIONES

Examinando las bases moleculares de la vida, los científicos han podido demostrar que todos los seres vivos compartimos un origen común, que hay una unidad fundamental de la vida sobre el planeta. El ser humano, los demás animales, plantas y microorganismos existentes tenemos un ancestro en común que se remonta a unos 3.500 millones de años de antigüedad. La pasividad y la codicia de los gobiernos y las grandes empresas junto con la ignorancia nos han llevado a una situación insostenible que en muchos casos ignora un hecho fundamental: la existencia del ser humano depende de otros seres vivos. Posiblemente el dato que más me ha impactado mientras realizaba este trabajo es la desaparición de 30.000 especies anualmente debido a la actividad humana y a la alteración de los procesos que generamos en la biosfera. El continuo aumento de la población lleva asociado una disminución en la disponibilidad de alimentos, un aumento

en la producción y un aumento en la emisión de contaminantes al medio. Se emiten miles de millones de toneladas de contaminantes al medioambiente anualmente, una cantidad que continúa aumentando y que el medioambiente no puede soportar.

Las microalgas existen desde hace más de 3000 millones de años, y desde sus inicios han transformado el dióxido de carbono en oxígeno, siendo las principales causantes de la composición actual de la atmósfera y de la oxigenación del agua que permitió posteriormente la aparición de organismos superiores. A pesar de saber de la existencia de las microalgas, no ha sido hasta hace poco tiempo que se han comenzado a utilizar activamente. En el año 2010, la concentración de CO₂ en el aire alcanzó su máximo histórico y precisamente la capacidad para utilizar el CO₂ como fuente de carbono para producir sustancias de interés, es una de las características que hacen tan interesante su utilización como biodescontaminante. La biofijación del CO₂ de la atmósfera mediante microalgas es una alternativa muy prometedora a las técnicas más comunes de fijación, aunque aún continúa siendo relativamente cara.

Además de los problemas de contaminación, en la actualidad, la sociedad de hoy día se mueve gracias a los combustibles fósiles. La dependencia del petróleo marca la economía mundial, éste y sus derivados son indispensables en la sociedad actual. La dependencia que el mundo tiene del petróleo está provocando conflictos y guerras, especialmente en las zonas productoras de petróleo. Debido al aumento de la producción y de la demanda de derivados del petróleo, se calcula que el petróleo que fue creado por microorganismos se acabará a mediados de este siglo. Se ha pensado entonces, que ya que el petróleo fue creado por microorganismos, se podrían utilizar a los microorganismos para crear petróleo otra vez. Esta idea ha llevado a la utilización de la biomasa de microalgas, rica en lípidos, para la producción de biodiesel. Su fácil cultivo, su gran eficiencia fotosintética así como su rápida velocidad de crecimiento hace que la producción de biocombustibles utilizando microalgas sea preferible ante la de plantas oleaginosas.

Muchos son los productos obtenidos a partir de las microalgas y que se utilizan en la industria. De ellas se obtienen, entre otros, yodo, potasa, sosa, productos cosméticos, farmacéuticos y biocombustibles como hidrógeno, bioetanol o biodiesel. Como ya se ha tratado, son también utilizadas para la biodescontaminación del aire, del agua y en menor medida del suelo, además de como alimento para animales y el ser humano. Se ha analizado la gran importancia de las microalgas en la actualidad, y se ha escogido una frase publicada por la revista *National Geographic* en Octubre de 2007 para dar una idea de la importancia que estas tendrán en un futuro: *'There is no magic-bullet fuel crop that can solve our energy woes without harming the environment, says virtually every scientist studying the issue. But most say that algae... come closer than any other plant...'*

VII. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado con el Proyecto del Plan Nacional DPI2011-27818-C02-02 del Ministerio de Ciencia e Innovación y Fondos FEDER.

VIII. REFERENCIAS

- [1] Real Academia Española (www.rae.es)
- [2] Lundquist T.J., Woertz I.I., Quinn N.W.T., Benemann J.R., *A Realistic Technology and Engineering Assessment of Algae Biofuel Production*. Energy Biosciences Institute, University of California, 2010.
- [3] Shin-Hsin Ho, Chun-Yen Chen, Duu-Jong Lee, Jo-Shu Chang, *Perspectives on microalgal CO₂-emission mitigation systems*. Biotechnology Advances, Volume 29, Issue 3, Pages 189-198, 2010.
- [4] Diao Y.F., Zheng X.Y., He B.S., Chen C.H., Xu X.C., *Experimental study capturing CO₂ greenhouse gas by ammonia scrubbing*. Energy Conversion and Management, Volume 45, Issues 13-14, Pages 2283-2296, 2004.
- [5] Herzog H., *What future for carbon capture and sequestration?* Environ Science and Technology, Volume 35, Issue 7, Pages 148-153, 2001.
- [6] Israelsson P.H., Chow A.C., Adams E.E. *An updated assessment of the acute impacts of ocean carbon sequestration by direct injection*. Energy Procedia, Volume 1, Issue 1, Pages 4929-4936, 2009.
- [8] Costa J., Linde G., Atala D., *Modelling of growth conditions for cyanobacterium Spirulina platensis in microcosms*. World Journal of Microbiology and Biotechnology, Volume 16, Number 1, Pages 15-18, 2000.
- [9] Metting B., *Microalgae in agriculture*. Microalgal Biotechnology, Cambridge University Press, Cambridge, Pages 288-304, 1988.
- [10] Harder R., von Witsch H., *Bericht über versuche zur fettsynthese mittels autotropher Mikroorganismen*, Forschungsdienst 16, 270-6, 1942.
- [11] Chakravorty U., Hubett M.H., Nostbakken L., *Fuel versus food*. The annual Review of Resource Economics, 1(23), Pages 1-19, 2009.
- [12] Harun R., Singh M., Forde G.M., Danquah M.K., *Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products*. Renewable and Sustainable Energy Reviews, Volume 14, Issue 3, Pages 1037-1047, 2010.
- [13] Ugwu C.U., Aoyagi H., Uchiyama H., *Photobioreactors for mass cultivation of algae*, Bioresource Technology, Volume 99, Issue 10, Pages 4021-4028, 2007.
- [14] Molina Grima E., Belarbi E.H., Acien Fernandez F.G., Robles Medina A., Chisti Y., *Recovery of microalgal biomass and*

- metabolites: process options and economics. *Biotechnology Adv.*, Volume 20, Pages 491-515, 2003.
- [15] Sanchez Miron A., Contretas Gomez A., Garcia Camacho F., Molina Grima E., Chisti Y., *Comparative evaluation of compact photobioreactors for large-scale monoculture of microalgae*. *Journal of Biotechnology*, Volume 70, Pages 249-270, 1999
- [16] Samson R., Leduy A., *Multistage continuous cultivation of blue-green algae Spirulina maxima in the flat tank photobioreactor*. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, Volume 63, Issue 1, Pages 105-112, 1985.
- [17] Ugwu C., Ogbonna J.C., Tanaka H., *Improvement of mass transfer characteristics and productivities of inclined tubular photobioreactors by installation of internal static mixers*, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Volume 58, Number 5, Pages 600-6007, 2002.
- [18] Flickinger M.C., Stephen W.D., *Encyclopedia of Bioprocess Technology: Fermentation, Biocatalysis and Bioseparation*. A Wiley-Interscience Publication, 1999.
- [19] Singh J., Gu S., *Commercialization potential of microalgae for biofuels production*. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Volume 14, Issue 9, Pages 2596-2610, 2010.
- [20] Abalde J., Cid A., Fidalgo P., Torres E., Herrero C. *Microalgas: Cultivos y Aplicaciones*. Universidad da Coruña (Ed), La Coruña, Pagina 109.
- [22] Lafarga T.V., *Establishing a fed-batch process for the extracellular production of Phytase with E.coli*. *Universität Karlsruhe*, Pagina 16, 2010.
- [23] Sanchez J. F., Fernandez Sevilla J. M., Acien F. G., Cerón M.C., Perez Parra E., Molina Grima E., *Biomass and lutein productivity of Scenedesmus almeriensis: influence of irradiance, dilution rate and temperature*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, Volume 79, Number 5, Pages 719-729, 2008.
- [24] Ling Xu, Weathers P.J., Xiong Xue-Rong, Chun-Zhao Liu, *Microalgal bioreactors: Challenges and opportunities*. *Engineering in Life Sciences*, Volume 9, Issues 3, Pages 178-189, 2009.
- [25] Chisti Y., *Biodiesel from microalgae*. *Biotechnology Adv.*, Number 25, Pages 294-306, 2007.
- [26] Molina E., Fernandez J., Acien F. G., Chisti Y., *Tubular photobioreactor design for algal cultures*. *Journal of Biotechnology*, Number 92, Pages 113-131, 2001.
- [28] Converti A., Lodi A., Del Borghi A., Solicio C., *Cultivation of Spirulina platensis in a combined airlift-tubular reactor system*. *Biochemical Engineering Journal*, Volume 32, Issue 1, Pages 13-18, 2006.
- [29] Carvalho A.P., Meireles L.A., Malcata F.X., *Microalgal reactors: a review of enclosed system design and performance*. *Biotechnol Prog.*, Pages 1490-1506, 2006.
- [30] Hu Q., Guterman H., Richmond A., *A flat inclined modular photobioreactor for outdoor mass cultivation of phototrophs*. *Biotechnology and Bioengineering*, Volume 51, Pages 51-60, 1996.
- [31] Costas E., Lopez Rodas V., *El papel del fitoplancton en el cambio climático: ¿Cuánto depende nuestro destino de unas pequeñas microalgas?* *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia*, Nº 1, Páginas 52-74, 2011.
- [32] Peter J., Williams B., Lieve M.L., *Microalgae as biodiesel and biomass feedstocks: Review and analysis of the biochemistry, energetics and economics*. *Energy and Environmental Science*, Issue 5, Pages 554-590, 2010.
- [33] Masaru Akiyama, *Illustrations of the Japanese Fresh-Water Algae*. Uchidarokakuhoh Publishing Co., Tokyo, 1977.
- [34] Merchuk J.C., Gluz M., *Bioreactors, Air-lift Reactors*. *Encyclopedia of Bioprocess Technology*, 2002.
- [35] Salazar González M., *Aplicación e importancia de las microalgas en el tratamiento de aguas residuales*. *ContactoS*, Numero 59, 2005.
- [36] Nagase H., Inthorn D., Miyamoto K., *The use of photosynthetic microorganism in bioremediation*. *Japanese Journal of Toxicology and Environmental Health*, Number 40, Pages 479-485, 2004.
- [37] Becker E.W., *Microalgal in human and animal nutrition*. *Biotechnology and Applied Phycology*, Oxford, 2004.
- [38] Kojima H., Lee K., *Photosynthetic microorganisms in Environmental Biotechnology*. Springer-Verlar, Hong Kong, 310p, 2001.
- [39] Barrios San Martin Y., *Biorremediación: una herramienta para el saneamiento de ecosistemas marinos contaminados con petróleo*. *Biocología aplicada*, Número 28, Páginas 60-68, 2011.
- [40] Atlas R.M., *Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental prospective*. *Microbiological Reviews*, Pages 180-209, 1981.
- [41] Band Schmidt C.J., *Efecto de la composición bioquímica de microalgas sobre el valor nutritivo de dos cepas de Artemia*. *Instituto Politecnico Nacional*, La Paz, 1999.
- [42] Gouveia L., Batista A.P., Sousa I., Raymundo A., Bandarra N.M., *Microalgae in novel food products*. *Nova Science Publishers*, Pages 75-112, 2008.
- [43] Ginzberg A., Cohen M., Sod-Moriah U., Shany S., Rosenshtrauch A., Arad S., *Chickens fed with biomass of the ref microalga Porphyridium sp. Have reduced blood cholesterol level and modified fatty acid composition in egg yolk*. *Journal of Applied Phycology*, Volume 12, Numbers 3-5, Pages 325-330, 2000.
- [44] Becker E.W., *Oil production, Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review*. *Bioresource Technology*, Pages 1-11, 2002.
- [45] Jasvinder S., Gu S., *Commercialization potential of microalgae for biofuels production*. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Volume 14, Issue 9, Pages 2596-2610, 2010.

- [46] Oswald W.J., Golueke C.G., *Biological transformation of solar energy*. Applied Microbiology, Number 11, Pages 223-242, 1960.
- [47] Wijffels R.H., Barbosa M.J., *An outlook on Microalgal Biofuels*. Science, Volume 329, Pages 796-799, 2010.
- [48] Wang B., Li Y.Q., Wu N., Lan C.Q., *CO₂ biomitigation using microalgae*. Applied Microbiology and Biotechnology, Volume 79, Number 5, Pages 707-718, 2008.
- [49] Skjanes K., Lindblad P., Muller J., *BioCO₂ a multidisciplinary, biological approach using solar energy to capture CO₂ while producing H₂ and high value products*. Biomolecular Engineering, Volume 24, Issue 4, Pages 405-413, 2007.
- [50] Costa J., Morais M.G., *Isolation and selection of microalgae from coal fired thermoelectric power plant for biofixation of carbon dioxide*. Energy Conversion and Management, Volume 48, Issue 7, Pages 2169-2173, 2007.
- [51] Zittelli G.C., Rodolfi L., Biondi N., Tredici M.R., *Productivity and photosynthetic efficiency of outdoor cultures of Tetraselmis suecica in annular columns*. Aquaculture, Volume 261, Issue 3, Pages 932-943, 2006.
- [52] Hamelinck C.N., van Hooijdonk G., Faaij A.P.C., *Ethanol from lignocellulosic biomass: techno-economic performance in short, middle and long-term*. Biomass and Bioenergy, Volume 28, Issue 4, Pages 384-410, 2005.
- [53] Food and Agricultural Organization of the United Nations, *Algae based Biofuels: A review of Challenges and Opportunities for Developing Countries*. 2009
- [54] Ferruzi M.G., Blakeslee J., *Digestion, absorption and cancer preventive activity of dietary chlorophyll derivatives*. Nutrition Research, Volume 27, Issue 1, Pages 1-12, 2007.
- [55] Ben-Amotz A., Avron M., *Glycerol, β -carotene and dry algal meal production by commercial cultivation of Dunaliella*. Algae Biomass, Pages 603, 610, 1980.
- [56] Tapiero H., Townsend D.M., Tew K.D., *The role of carotenoids in prevention of human pathologies*. Biomedicine and Pharmacotherapy, Volume 58, Issue 2, Pages 100-110, 2004.
- [57] Dufossé L., Galaup P., Yaron A., Arad S.M., Blanc P., *Microorganisms and microalgae as sources of pigments for food use: a scientific oddity or an industrial reality*. Trends in Food Science and Technology, Volume 16, Issue 9, Pages 389-406, 2005.
- [58] Becker E.W., *Microalgae for human and animal consumption*. Microalgal Biotechnology, Cambridge University Press, Pages 222-256, 1988
- [59] Sanhueza E., *Agroetanol ¿Un combustible ambientalmente amigable?* Interciencia, Volumen 34, N°2, Páginas 106-112, 2009
- [60] Hernandez A., Vazquez R., Sanchez M.P., Serrano L., Martinez A., *Biodiesel a partir de microalgas*. Biotecnología y Biotecnología, Volumen 13, Páginas 38-61, 2009.
- [61] Chisti Y., *Biodiesel from microalgae*. Biotechnology Advances, Volume 25, Pages 294-306, 2007.
- [62] Benemann J.R., Dunahay T., Roessler P., Sheehan J., *A look back at the U.S Department of Energy's Aquatic Species Program-Biodiesel from algae*, U.S Department of Energy, 1998.
- [63] Albarracín I., *La producción de Biocombustibles con eficiencia, estabilidad y equidad*. XV Simposio Electrónico Internacional, Buenos Aires, 2007.
- [64] Wijffels R.H., *Potential of sponges and microalgae for marine biotechnology*. Trends in Biotechnology, Volume 26, Issue 1, Pages 26-31, 2008.
- [65] Antunes R., Silva I.C., *Utilização de algas para a produção de biocombustíveis*. Cluster do Conhecimento Energias Renováveis, 2010.
- [66] Pereira J.R., *Produção de Bioetanol a Partir de Microalga Scenedesmus obliquus*. Universidade Nova de Lisboa, 2011.
- [67] Thurmond W., *Algae 2020: advanced biofuel markets and commercialization extraction of total fats and oils*. J Chromatog, Pages 1196-1197, 2008.
- [69] Van Harmelen T., Oonk H., *Microalgae biofixation processes: Applications and potential contributions to greenhouse gas mitigation options*. TNO Built Environment and Geosciences, 2006.
- [70] Hanhua H., Kunshan G., *Response of growth and fatty acid compositions of Nannochloropsis sp. to environmental factors under elevated CO₂ concentration*. Biotechnology letters, Number 28, Pages 987-992, 2006.
- [71] Anirban B., Rohit S., Chisti Y., Banerjee U.C., *Botryococcus braunii: A renewable source of hydrocarbons and other chemicals*. Crit Rev Biotechnology, Pages 245-279, 2002.
- [72] Ramirez Moreno L., Olvera Ramirez R., *Uso tradicional y actual de Spirulina sp.* Interciencia, Volumen 31, Páginas 657-663, 2006.
- [73] Ghirardi M.L., Zhang L., Lee W., Flynn T., Seibert M., *Microalgae: A green source or renewable H₂*. Trends in Biotechnology, Volume 18, Pages 506-511, 2000.
- [74] Brentner L., Peccia J., Zimmerman J., *Challenges in developing biohydrogen as a sustainable energy source: implications for a research agenda*. Environmental Science and Technology, Volume 44, Pages 2243-2253, 2010.
- [75] Andrade A., Barrera T., Mejía J.C., Mejía G.C., Sánchez A.M., Castillo V., *La importancia de Spirulina sp. en la alimentación acuícola*. ContactoS 57, Páginas 13-16, 2005.
- [76] Belasco W., *Algae Burgers for a Hungry world? The rise and fall of Chlorella Cuisine*. Tenchology and Culture, Volume 38, N° 3, Pages 608-634, 1997.
- [77] Morata R., Mora R., Morales E., *Respuesta de la microalga Chlorella sorokiana al pH, salinidad y temperatura en condiciones axénicas y no axénicas*. Rev. Fac. Agron. (LUZ), N° 23, Páginas 27-41, 2006.

- [78] Richmond A., Cheng-Wu Z., *Optimization of a flat plate glass reactor for mass production of Nannochloropsis sp. outdoors*. Journal of Biotechnology, Volume 85, Issue 3, Pages 259-269, 2000.
- [79] Gordana Vunjak-Novakovic, Yoojeong Kim, Xiaoxi Wu, Berzin I., Merchuk J.C., *Air-Lift Bioreactors for algal growth on flue gas: mathematical modeling and pilot-plant studies*. Industrial and Engineering Chemistry Research, N°16, Pages 6154-6163, 2005.
- [80] Acién F.G., Fernández J.M., Magán J.J., Molína E., *Production cost of a real microalgae production plant and strategies to reduce it*. Biotechnology Advances, 2012.
- [81] Norsker N.H, Barbosa N.J, Vermuë M.H, Wijffels R.H, *Microalgal production, a close look at economics*. Biotechnology Advances, Volume 29, Issue 1, Pages 24-27, 2011.
- [82] Posten C., *Design principles of photo-bioreactors for cultivation of microalgae*. Engineering in Life Sciences, Volume 9, N° 3, Pages 165-177, 2009.
- [83] Eriksen N. T., *The technology of microalgal culturing*. Biotechnology Letters, Volume 30, Pages 1525-1536, 2008.
- [84] Soletto D., Binaghi L., Ferrari L., Lodi A., Carvalho J.C.M., Zilli M., Converti A., *Effects of carbon dioxide feeding rate and light intensity on the fed-batch pulse-feeding cultivation of Spirulina platensis in helical photobioreactor*. Biochemical Engineering Journal, Volume 39, Issue 2, Pages 369-375, 2008.
- [86] Fleck-Schneider P., Lehr F., Posten C., *Modelling of growth and product formation of Porphyridium purpureum*. Journal of Biotechnology, Volume 132, Issue 2, Pages 134-141, 2007.
- [87] Merchuk J. C., Garcia Camacho F, Molina E., *Photobioreactor design and fluid dynamics*. Chemical and Biochemical Engineering Quarterly. Volume 21, Pages 345-355, 2006.
- [88] Cheng L.H., Zhang L., Chen H.L., Gao C.J., *Carbon dioxide removal from air by microalgae cultured in a membrane-photobioreactor*. Separation and Purification Technology, Volume 50, Issue 3, Pages 324-329, 2006.
- [89] Fan L.H., Zhang Y.T., Cheng L.H., Zhang L., Tang D.S., Chen H.L., *Optimization of carbon dioxide fixation by Chlorella vulgaris cultivated in a membrane-photobioreactor*. Chemical Engineering and Technology, Volume 30, Issue 8, Pages 1094-1099, 2007.
- [90] Chen C.Y., Saratale G.D., Lee C.M., Chen P.C., Chang J.S., *Phototrophic hydrogen production in photobioreactors coupled with solar-energy-excited optical fibers*. International Journal of Hydrogen Energy, Volume 33, Issue 23, Pages 6886-6895, 2008.
- [91] Desmorieux H., Decaen N., *Convective drying of Spirulina in the layer*. Journal of Food Engineering, Volume 66, Issue 4, Pages 497-503, 2006.
- [92] Prakash J., Pushparaj B., Carlozzi P., Torzillo G., Montaini E., Materassi R., *Microalgae drying by a simple solar device*. International Journal of Solar Energy, Volume 18, Issue 4, Pages 303-311, 1997.
- [93] Materassi G., Oliveira G., Morais R., *Spray-drying of Dunaliella salina to produce a carotene rich powder*. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, Volume 20, N° 2, Pages 82-85, 1998.
- [94] Molina E., Medina A., Gimenez A., Sanchez Perez J., Camacho F., García Sanchez J., *Comparison between extraction of lipids and fatty acids from microalgal biomass*. Journal of the American Oil Chemists Society, Volume 71, Number 9, Pages 955-959, 1994.
- [95] Olaizola M., *Commercial development of microalgal biotechnology: from the test tube to the marketplace*. Biomolecular Engineering, Volume 20, Issues 4-6, Pages 459-466, 2003.
- [96] Palomino M.A., Estrada F.C, López G.J., *Microalgas: potencial para la producción de biodiesel*. IV Congreso Brasileiro e I Simposio Internacional de Oleaginosas Energéticas, Páginas 149-157, Paraíba, 2010.

La biotecnología de microorganismos marinos ha tomado gran importancia en el mercado actual, desde sectores como la industria alimentaria, cosmética, farmacéutica, el control medioambiental o la biorremediación hasta la producción de compuestos de elevado valor comercial como aminoácidos, vitaminas o biocombustibles. Para optimizar la producción, así como las características de estos microorganismos y de sus productos, es necesario un amplio control del proceso, por lo que la utilización de fotobiorreactores eficientes es, en la mayoría de los casos, indispensable. En este trabajo se introducirán algunas de las microalgas más utilizadas comercialmente, así como sus principales productos derivados y se discutirá la producción de este tipo de microorganismo desde un punto de vista teórico, su evolución a lo largo de los últimos años y sobre las posibilidades reales de aplicación de este tipo de tecnología de cara al futuro

Algae technology has attracted scientific interest worldwide during the last years for food production, pharmaceutical and cosmetic industries, cleaning of the environment, bioremediation, or obtaining expensive products such as amino acids, vitamins or biofuels. In order to optimize the biomass production, microbial characteristics and the potentials of algae, an exhaustive control of the process is needed and in most of the cases, the use of efficient photobioreactors is required. In this work, some of the most common microalgae used in large scale cultivations and their products are explained. Algae production, its evolution during the last years, and its future potential applications are discussed.

