



UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE INGENIERÍA
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA CIVIL QUÍMICA



Huella hídrica del proceso de producción de biocombustible a partir de microalgas en Chile.

POR

Natalia Andrea Rubilar Villarroel

Memoria de Título presentada a la Facultad de Ingeniería de la Universidad de Concepción para optar al título profesional de Ingeniero Civil Químico

Profesor Guía
Claudio Zaror Zaror

Enero/2023
Concepción (Chile)

© 2023 Natalia Andrea Rubilar Villarroel

© 2023 Natalia Andrea Rubilar Villaroel

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento

Resumen

En los últimos años, la obtención de biocombustibles a partir de microalgas ha atraído bastante atención como una opción para obtener energía menos contaminante, en el contexto de la lucha contra el cambio climático. Sin embargo, existe controversia acerca de sus potenciales impactos ambientales, ya que su cultivo requiere una cantidad considerable de agua y fertilizantes que podrían provocar efectos negativos en los ecosistemas.

En este contexto, el objetivo de esta investigación es cuantificar la huella hídrica y otros impactos ambientales que tiene la producción de biodiesel a partir de la microalga *Phaedactylum tricornutum* en una planta piloto ubicada en Concepción. Este trabajo utiliza un enfoque de ciclo de vida, tomando la norma ISO 14046 como referencia metodológica. Se evaluaron las categorías de impacto agua disponible remanente (AWARE), índice de estrés hídrico (WSI), índice de agotamiento de agua (WDI), eutrofización y ecotoxicidad del agua dulce, toxicidad humana cancerígena y no cancerígena utilizando el software SimaPro v.9.4.0 y la base de datos Ecoinvent versión 3.8.

Se obtuvo una huella hídrica igual a $8,16 \text{ m}^3$ agua/kg biodiesel, donde el 62% corresponde al consumo directo de agua y alrededor del 90% está relacionada con la etapa de cultivo. Por otro lado, se obtuvo que el WSI es igual $0,16 \text{ m}^3$ el cual indica que el umbral de estrés hídrico es aceptable; el WDI es igual $0,02 \text{ m}^3$ indicando que existe un bajo riesgo de un agotamiento de los recursos de agua y un valor para el método AWARE igual a $5,02 \text{ m}^3$ lo que indica que no existe una mayor demanda de agua de la que está disponible en la zona. También, mediante el método de evaluación ReCiPe 2016 (H), se concluyó que las etapas de secado (31%), cultivo (22%) y cosecha (17%) son los principales contribuyentes en la eutrofización de agua dulce, debido a la cantidad de electricidad utilizada en el secado y a la cantidad de fósforo y nitrógeno emitidas en las aguas residuales durante el cultivo y la cosecha. La etapa de cultivo también es la principal contribuyente en las categorías de impacto de ecotoxicidad de agua dulce y toxicidad humana, debido a la emisión de sustancias tóxicas como Zinc y Cromo VI. El análisis de sensibilidad indica que el consumo de energía y la distancia de transporte son los parámetros que más afectan el desempeño ambiental del proceso.

Finalmente, se concluye que la planta piloto es un sitio adecuado para la producción de biocombustibles a partir de microalgas, ya que la huella hídrica del proceso es menor al indicado por la literatura o el de otras plantas de biocombustibles y, los impactos ambientales pueden reducirse mediante un sistema de tratamiento de aguas residuales.

Abstract

In recent years, the production of biofuels from microalgae has attracted considerable attention as an option for obtaining cleaner energy, in the context of the fight against climate change. However, there is controversy about its potential environmental impacts since its cultivation requires a considerable amount of water and fertilizers that could cause negative effects on ecosystems.

In this context, the objective of this research is to quantify the water footprint and other environmental impacts of biodiesel production from the microalgae *Phaedactylum tricornutum* in a pilot plant located in Concepción. This work uses a life cycle approach, taking ISO 14046 as a methodological reference. The impact categories water available remaining available water (AWARE), water stress index (WSI), water depletion index (WDI), eutrophication and freshwater ecotoxicity, carcinogenic and non-carcinogenic human toxicity were evaluated using SimaPro v.9.4.0 software and the Ecoinvent database version 3.8.

A water footprint equal to 8.16 m³ water/kg biodiesel was obtained, where 62% corresponds to direct water consumption and about 90% is related to the cultivation stage. On the other hand, it was obtained that the WSI is equal to 0.16 m³ which indicates that the water stress threshold is acceptable; the WDI is equal to 0.02 m³ indicating that there is a low risk of a depletion of water resources and a value for the AWARE method equal to 5.02 m³ showing that there is no greater demand for water than what is available in the area. Also, using the ReCiPe 2016 (H) assessment method, it was concluded that the drying (31%), cultivation (22%) and harvesting (17%) stages are the main contributors in freshwater eutrophication, due to the amount of electricity used in drying and the amount of phosphorus and nitrogen emitted in the wastewater during cultivation and harvesting. The cultivation stage is also the main contributor in the freshwater ecotoxicity and human toxicity impact categories, due to the emission of toxic substances such as Zinc and Chromium VI. The sensitivity analysis indicates that energy consumption and transport distance are the parameters that most affect the environmental performance of the process.

Finally, it is concluded that the pilot plant is a potential site for biofuels production from microalgae, since the water footprint of the process is lower than indicated by the literature or that of other biofuel plants, and the environmental impacts can be reduced through a wastewater treatment system.

Índice general

RESUMEN.....	I
ABSTRACT.....	II
ÍNDICE GENERAL	III
ÍNDICE DE TABLAS.....	IV
ÍNDICE DE FIGURAS.....	V
NOMENCLATURA.....	VII
1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS	2
2.1. OBJETIVO GENERAL	2
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	2
3. ANTECEDENTES TEÓRICOS	3
3.1. BIOCOMBUSTIBLES	3
3.2. MICROALGAS.....	5
3.2.1. Factores que influyen en la tasa de crecimiento y el contenido de lípidos	8
3.2.2. Etapas de crecimiento	13
3.3. SELECCIÓN DE SITIOS PARA EL CULTIVO DE MICROALGAS A ESCALA INDUSTRIAL EN CHILE.....	14
3.3.1. Proyectos en Chile	16
3.4. HUELLA HÍDRICA	29
4. METODOLOGÍA.....	33
4.1. EVALUACIÓN DE LA HUELLA HÍDRICA DE LA PRODUCCIÓN DE BIODIESEL ACORDE A LA NORMA ISO 14046 ...	33
4.1.1. Definición de objetivos y alcances	34
4.2. Análisis del inventario.....	35
4.3. Evaluación de impactos	37
4.4. Interpretación de los resultados.....	41
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	43
5.1. EVALUACIÓN DEL CICLO DE VIDA (ECV) PARA EL CULTIVO REALIZADO EN LA CIUDAD DE CONCEPCIÓN	43
5.1.1. Definición de objetivos y alcances del estudio.....	43
5.1.2. Análisis del inventario.....	44
5.1.3. Evaluación de impactos	47
5.1.4. Interpretación de resultados	49
6. CONCLUSIONES	59
7. REFERENCIAS	60
8. ANEXO I.....	69

Índice de tablas

TABLA 1: COMPARACIÓN DE MICROALGAS CON OTRAS MATERIAS PRIMAS DE BIODIESEL	4
TABLA 2: CONTENIDO EN LÍPIDOS Y PRODUCTOS DE DIFERENTES ESPECIES DE MICROALGAS	7
TABLA 3: PARÁMETROS AMBIENTALES MENSUALES DEL AÑO 2016 UTILIZADOS PARA CALCULAR LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA	24
TABLA 4: CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DEL BIODIESEL OBTENIDO A PARTIR DE MICROALGAS PHAEDACTYLUM TRICORNUTUM	28
TABLA 6: TASA DE RECUPERACIÓN DE LOS MÉTODOS MÁS COMUNES DE COSECHA.	36
TABLA 7: CATEGORÍAS DE IMPACTO UTILIZADAS EN EL CÁLCULO DE LA HUELLA HÍDRICA SEGÚN EL MARCO DE REFERENCIA DEL ACV.....	37
TABLA 8: CATEGORÍAS DE IMPACTO Y MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE PUNTO MEDIO RECOMENDADOS PARA LATINOAMÉRICA.....	38
TABLA 9: CATEGORÍAS DE DAÑO Y MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE PUNTO FINAL MÁS UTILIZADOS EN LATINOAMÉRICA	38
TABLA 10: DATOS DE INVENTARIO DE FLUJOS DE AGUA Y ELECTRICIDAD POR UNIDAD FUNCIONAL DE 1 KG DE BIODIESEL, CONSIDERANDO UN AÑO DE OPERACIÓN.....	45
TABLA 11: CONSUMO DE AGUA DIRECTO PARA LAS ETAPAS DEL PROCESO DE PRODUCCIÓN DE BIODIESEL A PARTIR DE MICROALGAS.	46
TABLA 12: RESULTADOS OBTENIDOS MEDIANTE EL MÉTODO RECIPE 2016 (H) PARA LOS PROCESOS AGUAS ARRIBA.	47
TABLA 13: RESULTADOS OBTENIDOS MEDIANTE EL MÉTODO RECIPE 2016 (H) PARA LOS PROCESOS AGUAS ABAJO.....	48
TABLA 14: RESULTADOS OBTENIDOS EN LAS CATEGORÍAS DE IMPACTO WATER USE, WDI Y WSI	49
TABLA 15: RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE SENSIBILIDAD PARA UNA VARIACIÓN DE $\pm 10\%$ DE LOS PARÁMETROS SELECCIONADOS.....	57
TABLA 16: DATOS DE INVENTARIO POR UNIDAD FUNCIONAL PARA LOS PROCESOS AGUA ARRIBA, CONSIDERANDO UN AÑO DE OPERACIÓN.	69
TABLA 17: DATOS DE INVENTARIO POR UNIDAD FUNCIONAL DE 1 KG DE BIODIESEL PARA LOS PROCESOS AGUA ABAJO, CONSIDERANDO UN AÑO DE OPERACIÓN.....	70

Índice de figuras

FIGURA 1: RUTAS DE PROCESAMIENTO DE MICROALGAS PARA ENERGÍA UTILIZABLE Y COMBUSTIBLES COMERCIALIZABLES.	6
FIGURA 2: EFECTO DE LA INTENSIDAD DE LA LUZ SOBRE LA TASA DE CRECIMIENTO ESPECIFICO DE MICROALGAS	9
FIGURA 3: TIPO DE SISTEMAS DE ESTANQUES ABIERTOS. (A) ESTANQUE CIRCULAR, (B) ESTANQUE RACEWAY	12
FIGURA 4: (A) FOTOBIORREACTOR DE PANEL, (B) FOTOBIORREACTOR DE COLUMNA.....	12
FIGURA 5: REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DE LA TASA DE CRECIMIENTO DE MICROALGAS..	13
FIGURA 6: MAPA DE CHILE MOSTRANDO IMAGEN SUPERPUESTA DE LOS ELEMENTOS ELEGIDOS POR LA METODOLOGÍA PARA LA SELECCIÓN DE SITIOS DE CULTIVO.....	16
FIGURA 7: MICROALGA PHAEDACTYLUM TRICORNUTUM.....	20
FIGURA 9: COLUMNA DE BURBUJAS PBR UTILIZADA PARA EL CULTIVO DE MICROALGAS EN EL EXTERIOR (A) ILUSTRACIÓN ESQUEMÁTICA DEL PBR; (B) CROQUIS DE LA VISTA FRONTAL DEL PBR QUE CONTIENE TODOS LOS TAMAÑOS.....	22
FIGURA 10: BIOMASA HÚMEDA OBTENIDA DE MICROALGAS PHAEDACTYLUM TRICORNUTUM..	23
FIGURA 11: VARIACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE CULTIVO DURANTE 14 DÍAS.	23
FIGURA 12: CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA DE PHAEDACTYLUM TRICORNUTUM.....	25
FIGURA 13: BIOMASA SECA Y MOLIDA DE MICROALGAS PHAEDACTYLUM TRICORNUTUM.....	26
FIGURA 14: REACCIÓN GLOBAL DE TRANSESTERIFICACIÓN	27
FIGURA 15: BIOMASA DE MICROALGAS PRODUCIDA MENSUALMENTE EN LA PLANTA PILOTO UBICADA EN LA CIUDAD DE CONCEPCIÓN	28
FIGURA 16: DIAGRAMA DE FLUJO DE BIORREFINERÍA BASADA EN LA MICROALGA PHAEDACTYLUM TRICORNUTUM PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOCOMBUSTIBLES.....	29
TABLA 5: COMPARACIÓN DE LA HUELLA HÍDRICA DEL BIOETANOL Y BIODIESEL DE DIVERSAS MATERIAS PRIMAS	30
FIGURA 17: HUELLA HÍDRICA USANDO PARA PRODUCIR 1 KG DE BIODIESEL A PARTIR DE MICROALGAS.....	31
FIGURA 18: HUELLA HÍDRICA UTILIZANDO AGUA DE MAR (SW), AGUAS RESIDUALES (WW) O AGUA DULCE (FW) COMO MEDIO DE CULTIVO PARA PRODUCIR 1 KG DE BIODIESEL A PARTIR DE MICROALGAS.....	32

FIGURA 19: ESQUEMA DE LAS ETAPAS PARA EL CÁLCULO DE HUELLA HÍDRICA.....	34
FIGURA 20: LÍMITES DEL SISTEMA DE PRODUCCIÓN DE BIODIESEL A BASE DE MICROALGAS.....	44
FIGURA 21: ANÁLISIS DE LA CONTRIBUCIÓN DE LAS CATEGORÍAS DE IMPACTO DEL MÉTODO RECIPE 2016 (H) SOBRE LOS PROCESOS AGUAS ARRIBA Y AGUAS ABAJO.	49
FIGURA 22: CONTRIBUCIÓN DE LAS PRINCIPALES ETAPAS DEL PROCESO DE PRODUCCIÓN DE BIODIESEL EN LA EUTROFIZACIÓN DE AGUA DULCE.....	50
FIGURA 23: CONTRIBUCIÓN DE LAS PRINCIPALES ETAPAS DEL PROCESO DE PRODUCCIÓN DE BIODIESEL EN LA ECOTOXICIDAD EN AGUA DULCE.....	51
FIGURA 24: CONTRIBUCIÓN DE LAS PRINCIPALES ETAPAS DEL PROCESO DE PRODUCCIÓN DE BIODIESEL EN LA TOXICIDAD CANCERÍGENA HUMANA.	51
FIGURA 25: CONTRIBUCIÓN DE LAS PRINCIPALES ETAPAS DEL PROCESO DE PRODUCCIÓN DE BIODIESEL EN LA TOXICIDAD HUMANA NO CANCERÍGENA.	52
FIGURA 26: CONTRIBUCIÓN DE LAS PRINCIPALES ETAPAS DEL PROCESO DE PRODUCCIÓN DE BIODIESEL EN EL POTENCIAL DE CALENTAMIENTO GLOBAL.....	53
FIGURA 27: CONSUMO PORCENTUAL DE AGUA POR USO (DIRECTO E INDIRECTO).....	54
FIGURA 28: USO INDIRECTO DE AGUA POR ETAPA EN EL PROCESO DE PRODUCCIÓN DE BIODIESEL.....	56

Nomenclatura

<i>ERCN:</i>	<i>Energías Renovables No Convencionales</i>
<i>ECV:</i>	<i>Evaluación de Ciclo de Vida</i>
<i>PBR:</i>	<i>Reactor Tubular Empacado</i>
<i>T:</i>	<i>Temperatura (°C)</i>
<i>RH:</i>	<i>Humedad relativa</i>
<i>PREC:</i>	<i>Precipitaciones</i>
<i>GRAD:</i>	<i>Radiación global mensual</i>
<i>FAME:</i>	<i>Ésteres metílicos de ácidos grasos</i>
<i>SFA:</i>	<i>Ácidos grasos saturados</i>
<i>MUFA</i>	<i>Ácidos grasos monoinsaturados</i>
<i>PUFA:</i>	<i>Ácidos grasos poliinsaturados</i>
<i>F_{Cul}:</i>	<i>Agua consumida durante la etapa de cultivo</i>
<i>F_{Cos}:</i>	<i>Agua consumida durante la etapa de cosecha</i>
<i>F_{Sec}:</i>	<i>Agua consumida durante la etapa de secado</i>
<i>F_{Extr}:</i>	<i>Agua consumida durante la etapa de extracción</i>
<i>F_{Ref}:</i>	<i>Agua consumida durante la etapa de refinación</i>
<i>F_{Trans}:</i>	<i>Agua consumida durante la etapa de transesterificación</i>
<i>F_{wd}:</i>	<i>Agua consumida por uso directo</i>
<i>A1:</i>	<i>Masa de microalgas recolectadas del PBR</i>
<i>SCH:</i>	<i>Contenido de sólidos después de la cosecha</i>
<i>RR:</i>	<i>Tasa de reciclaje de agua</i>
<i>SSR:</i>	<i>Tasa de recuperación después de la cosecha</i>
<i>SCD:</i>	<i>Contenido de sólidos después del secado</i>
<i>F_{wi}:</i>	<i>Agua consumida por usos indirectos</i>
<i>F:</i>	<i>Cantidad de suministro empleada</i>
<i>Q_i:</i>	<i>Cantidad empleada según la base de datos</i>
<i>W_e:</i>	<i>Agua consumida para la producción de energía eléctrica según la base de datos</i>

<i>AWARE:</i>	<i>Agua Disponible Remanente</i>
<i>WDI:</i>	<i>Índice de Agotamiento de Agua</i>
<i>WSI:</i>	<i>Índice de Estrés Hídrico</i>
<i>GWP:</i>	<i>Potencial de Calentamiento Global</i>
<i>IPCC:</i>	<i>Panel Intergubernamental sobre Cambio Climático</i>
<i>SR:</i>	<i>Razón de Sensibilidad</i>
<i>Δresultado:</i>	<i>Variación obtenida en el resultado</i>
<i>Δparametros:</i>	<i>Variación de ± 10% sobre los parámetros seleccionados</i>
<i>resultado inicial:</i>	<i>Valor inicial del resultado</i>
<i>parametro inicial:</i>	<i>Valor inicial del parámetro</i>
<i>HH_d:</i>	<i>Huella Hídrica Directa</i>
<i>HH_i:</i>	<i>Huella Hídrica Indirecta</i>
<i>HH_t:</i>	<i>Huella Hídrica Total</i>
<i>DBC:</i>	<i>Diclorobenceno</i>

1. Introducción

La rápida industrialización y el crecimiento demográfico se han convertido en los principales impulsores de la creciente demanda de energía (Ramachandra et al., 2015), así como de los impactos ambientales derivados de las emisiones de gases de efecto invernadero a la atmósfera, principalmente en forma de CO₂, que resultan de la quema de combustibles fósiles. Estas emisiones superan la tasa natural con la que los ecosistemas del planeta captan y fijan este compuesto, lo que ha fortalecido el efecto invernadero de la Tierra y ha provocado elevaciones en la temperatura media del planeta (Bravo-Fritz et al., 2016). Debido a esto, en los últimos años se ha impulsado el uso de energías renovables no convencionales (ERNC), por el avance tecnológico y la reducción de costos de instalación, así como por el aumento de la demanda social por un ambiente libre de contaminación y mitigar el calentamiento global (Kumar, 2020; Román-Figueroa & Paneque, 2015)

Actualmente, la energía renovable derivada de la biomasa es considerada una alternativa a los combustibles fósiles para producir electricidad y/o combustibles. Muchos procesos de generación de biocombustibles se esfuerzan por lograr cero emisiones netas de CO₂, cuando en realidad lo que el planeta requiere son procesos que realmente reduzcan las concentraciones ambientales de CO₂. Por lo que las fuentes más adecuadas para la producción de biocombustibles son el crecimiento de biomasa generado por la fotosíntesis (Wood, 2021).

En particular, las microalgas se están investigando como recurso sostenible para la producción de biocombustibles debido a su gran capacidad para acumular lípidos y por poseer un balance positivo en el uso del CO₂ que absorben (Oliveira et al., 2017). Gracias a esto se han convertido en las principales candidatas para la producción de biodiesel, el cual es un combustible biodegradable y menos dañino en otros aspectos que los combustibles fósiles (Muñiz, 2017). A pesar de esto, la producción de biodiesel de microalgas a gran escala ha sido criticada por la cantidad significativa de uso de agua, un recurso que es cada vez más escaso. Así, debido al interés hacia los biocombustibles, junto a la creciente escasez mundial de agua, ha surgido la necesidad de conocer la huella hídrica de este nuevo recurso energético (Gerbens-Leenes et al., 2013)

En la presente investigación se busca estimar la huella hídrica del proceso de producción de biodiesel a partir del cultivo de la microalga *Phaedactylum tricornutum* ubicado en la ciudad de Concepción, mediante el enfoque de la norma ISO 14046 el cual se basa principalmente en una Evaluación de Ciclo de Vida (ECV) con el fin de identificar su impacto ambiental y fomentar el uso sostenible del agua.

2. Objetivos

2.1. Objetivo general

Cuantificar la huella hídrica del proceso de producción de biocombustible a partir de microalgas en Chile, utilizando la norma ISO 14046 como marco metodológico.

2.2. Objetivos específicos

- Identificar las etapas del ciclo de vida de la producción de biocombustible a partir de microalgas.
- Cuantificar los inventarios de agua asociados a la producción de biocombustible a partir de microalgas.
- Cuantificar la huella hídrica de la producción de biocombustible a partir de microalgas, de acuerdo con el enfoque ISO 14046.
- Cuantificar indicadores de impacto ambiental intermedios de acuerdo al modelo ReCiPe asociados a la producción de biodiesel a partir de microalgas.

3. Antecedentes teóricos

En este capítulo se presentan antecedentes relevantes a este estudio. En primer lugar, se resumen conceptos acerca de los biocombustibles y las principales materias primas para su producción. En particular, se describen a las microalgas, los principales factores que afectan a su crecimiento y el contenido de lípidos. Luego, se describen las características de los sitios potenciales para el cultivo de microalgas y los proyectos existentes en Chile. Finalmente, se entrega una revisión del concepto de huella hídrica y el estado del arte para las diversas materias primas utilizadas en la producción de bioetanol y biodiesel.

3.1. Biocombustibles

Los biocombustibles, por definición, son combustibles que se generan a partir de material biológico, es decir a partir de fuentes naturales que pueden reponerse de la naturaleza (Lee & Lavoie, 2013; Pandey & Kumar, 2017). Gracias a que provienen de fuentes naturales podrían ayudar a reducir la quema de combustibles fósiles que contribuye en gran medida al aumento del nivel de CO₂ en la atmósfera, lo que está directamente relacionado con el calentamiento global observado en las últimas décadas (Naik et al., 2010).

Los biocombustibles se suelen agrupar en diferentes categorías conocidas como biocombustibles de primera, segunda y tercera generación, dependiendo de las materias primas y tecnología de conversión utilizadas para su producción (Saladini et al., 2016):

Los cultivos comestibles como la caña de azúcar, el trigo, el maíz rico y semillas de colza se utilizan para producir biocombustibles de primera generación (Singh et al., 2011; Wood, 2021). Sin embargo, aportan en la degradación ambiental, compiten con los cultivos agrícolas y fomentan la pérdida de la biodiversidad debido a la limpieza de las tierras utilizadas, por lo que este tipo de biocombustible es viable a corto plazo. No es recomendable forzar este tipo de biocombustibles ya que podría generar una crisis alimentaria y problemas ambientales, por lo que se recomienda el desarrollo de biocombustibles viables a mediano y largo plazo.

Los biocombustibles de segunda generación utilizan materiales lignocelulósicos no comestibles (biomasa vegetal), ya sea cultivados o acumulados como desechos agrícolas (Ong et al., 2013). Las categorías principales de biomasa de cultivos no alimentarios son las plantas herbáceas, las plantas leñosas, los materiales de desecho de la silvicultura, las hierbas, el estiércol y las plantas acuáticas (Wood, 2021). Pero, en la actualidad, la producción de tales combustibles no es rentable porque hay

una serie de barreras técnicas que deben superarse antes de que su potencial pueda realizarse, tales como desarrollar tecnologías de conversión efectivas que generen altos rendimientos de biocombustibles, además de que también tienen una huella de tierra relativamente grande (Naik et al., 2010; Wood, 2021).

Las microalgas con alto contenido de lípidos se pueden cultivar específicamente para generar biocombustibles de tercera generación (Saad et al., 2019). Se han convertido en una de las materias primas prometedoras para la producción de biocombustibles, ya que son de mejor calidad que los biocombustibles de primera y segunda generación (Sachin Powar et al., 2022). Dado que poseen una rápida reproducción, una mayor productividad de biomasa y rendimiento de lípidos en comparación con otros cultivos, las microalgas se han convertido en una opción con mucho potencial. Por ejemplo, son capaces de producir hasta 25 veces más que el rendimiento obtenido a partir de un cultivo tradicional de aceite de palma (Ahmad et al., 2011), tal como se ilustra en la Tabla 1. De esta manera las microalgas son capaces de ofrecer soluciones ecológicas a mediano y largo plazo, especialmente para la generación eficiente de biodiesel.

Tabla 1: Comparación de microalgas con otras materias primas de biodiesel (Mata et al., 2010).

Fuente vegetal	Contenido de lípidos (% lípidos por peso en biomasa)	Rendimiento de lípidos (L/ha/año)	Productividad de biodiesel (kg biodiesel/ha/año)
Maiz (Zea mays L.)	44	172	152
Cáñamo (Cannabis sativa L.)	33	363	321
Soja (Glycine max L.)	18	636	562
Jatrofa (Jatropha curcas L.)	28	741	656
Camelina (Camelina sativa L.)	42	915	809
Canola/colza (Brassica napus L.)	41	974	862

Girasol (<i>Helianthus annuus</i> L.)	40	10,7	946
Ricino (<i>Ricinus communis</i>)	48	13,1	11,6
Aceite de palma (<i>Elaeis guineensis</i>)	36	53,7	47,5
Microalgas (bajo contenido de lípidos)	30	5,87 10 ⁴	5,19 10 ⁴
Microalgas (contenido medio de lípidos)	50	9,78 10 ⁴	8,65 10 ⁴
Microalgas (alto contenido de lípidos)	70	1,37 10 ⁵	1,21 10 ⁵

Sin embargo, en la actualidad los impactos ambientales han sido objeto de escrutinio continuo. Por ejemplo, el consumo de agua en sistemas de microalgas y biocombustibles a gran escala puede ser una limitación potencial para su escalabilidad y compatibilidad ambiental. (Batan et al., 2013)

3.2. Microalgas

Las microalgas son microorganismos fotosintéticos y unicelulares o multicelulares que pueden crecer de manera autotrófica o heterotrófica (Verenice et al., 2022). Las microalgas autótrofas utilizan la luz solar como fuente de energía y el dióxido de carbono como fuente para la fotosíntesis. Las algas heterótrofas no aplican el proceso de fotosíntesis, sino que usan nutrientes orgánicos como la glucosa como fuente de energía y carbono (Branco-Vieira, Costa, et al., 2020a; Gerbens-Leenes et al., 2013). Pueden prosperar tanto en hábitats acuáticos como terrestres donde hay una gran cantidad de luz solar y agua, como en suelos, cortezas de árboles, estanques, lagos, ríos, océanos, etc. (Morais Junior et al., 2020).

Durante los últimos años, el procesamiento de microalgas se ha convertido en objeto de una intensa investigación, ya que la biomasa producida tiene una amplia utilización que va desde biofertilizantes a producción de biocombustibles, también para alimentación animal y humana, y para la obtención de productos biotecnológicos con uso en medicina, farmacia y/o cosmética (Hernández-Pérez & Labbé, 2014). En particular, las microalgas cada vez presentan un mayor interés como materia prima para

biocombustibles ya que poseen múltiples ventajas, como poder ser cultivadas en áreas no aptas para cultivo o no requieren grandes extensiones de terreno, se pueden cultivar en distintos tipos de aguas, como aguas residuales donde los contaminantes del agua pueden ser utilizados como nutrientes, o incluso en agua salada o salobre y pueden crecer a un ritmo mucho más rápido. También, gracias a su alto potencial fotosintético son capaces de producir una gran cantidad de bioenergía por unidad de área, en comparación con otras fuentes de biomasa (Karthikeyan et al., 2020). Además, algunas especies tienen un contenido extremadamente alto de lípidos, haciéndolos especialmente aptos para la producción de biodiesel, también llamado ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME). (Campbell et al., 2011; Chhandama et al., 2021).

Las microalgas pueden generar una amplia gama de biocombustibles a través de diversas rutas de producción (Figura 1), que incluyen procesos a altas temperaturas para microalgas con bajo contenido de lípidos, como la combustión, gasificación, pirólisis y licuefacción y, por otro lado, procesos a bajas temperaturas para microalgas con alto contenido de lípidos, como la transesterificación y la fermentación.

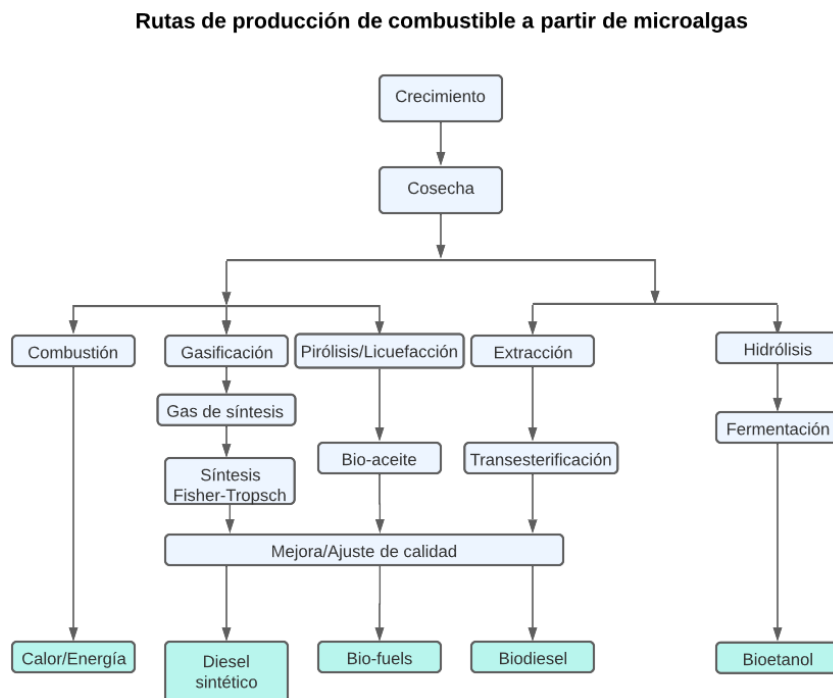


Figura 1: Rutas de procesamiento de microalgas para energía utilizable y combustibles comercializables.

Adaptado (Wood, 2021)

El contenido de lípidos de las especies de microalgas oscila entre 2-75% (Wood, 2021), pero bajo ciertas condiciones algunas especies pueden alcanzar el 90% del peso seco (Mata et al., 2010). La Tabla 2 presenta el contenido de lípidos y biomasa de diferentes microalgas marinas y especies de agua dulce, mostrando diferencias significativas entre las distintas especies.

Tabla 2: Contenido en lípidos y productos de diferentes especies de microalgas (Chisti, 2007).

Especies de microalgas marinas y de agua dulce	Contenido de lípidos (% peso seco)	Productividad volumétrica de biomasa (g/L/día)
<i>Botryococcus braunii</i>	25,0–75,0	0,02
<i>Chaetoceros muelleri</i>	33,6	0,07
<i>Chlorella emersonii</i>	25,0–63,0	0,036–0,041
<i>Chlorella protothecoides</i>	14,6–57,8	2,00–7,70
<i>Chlorella vulgaris</i>	5,0–58,0	0,02–0,20
<i>Chlorella sp.</i>	10,0–48,0	0,02–2,5
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	2,0	2,90–3,64
<i>Chlorococcum sp.</i>	19,3	0,28
<i>Cryptocodinium cohnii</i>	20,0–51,1	10
<i>Dunaliella salina</i>	6,0–25,0	0,22–0,34
<i>Dunaliella primolecta</i>	23,1	0,09
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	16,7–71,0	0,12
<i>Dunaliella sp.</i>	17,5–67,0	–
<i>Isochrysis galbana</i>	7,0–40,0	0,32–1,60
<i>Isochrysis sp.</i>	7,1–33	0,08–0,17
<i>Monodus subterraneus</i>	16,0	0,19
<i>Nannochloris sp.</i>	20,0–56,0	0,17–0,51
<i>Nannochloropsis oculata.</i>	22,7–29,7	0,37–0,48
<i>Neochloris oleoabundans</i>	29,0–65,0	–
<i>Nitzschia sp.</i>	16,0–47,0	–
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	18,0–57,0	0,003–1,9
<i>Porphyridium cruentum</i>	9,0–18,8/60,7	0,36–1,50
<i>Scenedesmus obliquus</i>	11,0–55,0	0,004–0,74

Scenedesmus sp.	19,6–21,1	0,03–0,26
Spirulina platensis	4,0–16,6	0,06–4,3
Tetraselmis suecica	8,5–23,0	0,12–0,32
Tetraselmis sp.	12,6–14,7	0,30

Como se muestra en la Tabla 2, el contenido de lípidos de las especies puede alcanzar el 75% en peso de biomasa seca, pero teniendo una baja productividad (*Botryococcus braunii*). Las algas más comunes (*Chlorella*, *Crypthe codinium*, *Cylindrotheca*, *Dunaliella*, *Isochrysis*, *Nannochloris*, *Nannochloropsis*, *Neochloris*, *Nitzschia*, *Phaeodactylum*, *Porphyridium*, *Tetraselmis*) tienen niveles de aceite entre 20 y 50%. Por otro lado, la especie *Chlorella* parece ser una buena opción para la producción de biodiesel, sin embargo, existen otras especies que son igual de eficientes y productivas que esta, por lo que es importante tener en cuenta varios factores al momento de seleccionar la especie (Mata et al., 2010). Para producir biodiesel es importante que se seleccione una especie de microalga con una alta productividad de lípidos, que depende principalmente de la tasa de crecimiento de la microalga y del contenido de lípidos en la biomasa (Chisti, 2007).

3.2.1. Factores que influyen en la tasa de crecimiento y el contenido de lípidos

Hay varios factores que influyen en el crecimiento de las microalgas y que afectan su contenido de lípidos: factores abióticos como la luz, temperatura, concentración de nutrientes, O₂, CO₂, pH, salinidad y sustancias químicas tóxicas; factores bióticos como patógenos; factores operativos tales como el método de secado y recolección de biomasa, la composición del medio de cultivo, el sistema de cultivo, etc. (Chokshi et al., 2016; Mata et al., 2010).

3.2.1.1. Luz

La luz es uno de los principales parámetros a considerar en un cultivo (Contreras et al., 2003), el cual se divide en dos componentes importantes como la irradiancia y el fotoperiodo. El primero componente corresponde al flujo de luz a la cual se encuentra expuesta la microalga, mientras que el fotoperiodo corresponde al tiempo en el que la microalga es expuesta a ese flujo de luz. Por otro lado, la fotosíntesis se incrementa con el aumento de la intensidad lumínica, hasta alcanzar la máxima tasa de crecimiento específica para cada especie en el punto de saturación por luz (Hernández-Pérez & Labbé, 2014). Como se ve en la Figura 2, por encima de un cierto valor de intensidad de luz, un mayor

aumento en el nivel de luz reduce la tasa de crecimiento de la microalga. Pasado este punto, se alcanza el punto de inhibición de fotones, con resultados perjudiciales e incluso la muerte, implicando la pérdida de eficiencia fotosintética y en la productividad de biomasa (Chisti, 2007; Rubio et al., 2003)

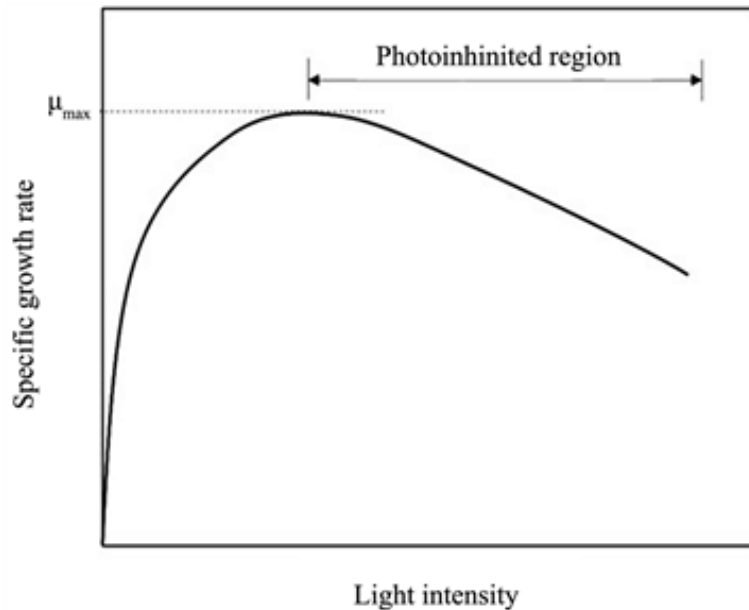


Figura 2: Efecto de la intensidad de la luz sobre la tasa de crecimiento específico de microalgas (Chisti, 2007).

3.2.1.2. Temperatura

Después de la luz, la temperatura es el factor limitante más importante. Muchas microalgas pueden tolerar fácilmente temperaturas de hasta 15°C por debajo de la temperatura óptima, pero superar la temperatura óptima en solo 2 a 4°C puede provocar la pérdida total del cultivo (Mata et al., 2010). Generalmente, la temperatura máxima que puede soportar una microalga se encuentra alrededor de los 35°C, mientras que la temperatura óptima para el correcto funcionamiento se encuentra entre los 16 y 27°C, dependiendo de la especie de microalga. Sin embargo, los cambios de temperatura pueden causar alteraciones en las rutas metabólicas, afectando el crecimiento y desarrollo de los cultivos (Verenice et al., 2022). En un sistema de cultivo cerrado, pueden ocurrir problemas de sobrecalentamiento, principalmente en la época estival, donde la temperatura puede alcanzar los 55°C. En esta situación la temperatura se puede controlar mediante sistemas de enfriamiento por evaporación para disminuir la temperatura a alrededor de 20 a 26°C (Hernández-Pérez & Labbé, 2014; Moheimani NR, 2005)

3.2.1.3. pH

Al igual que con los otros parámetros, cada especie de microalga requiere de un rango de pH que permita un crecimiento óptimo (Martinez, 2008). Para la mayoría de los cultivos el rango de pH se encuentra entre 7 y 9. Se ha observado que las microalgas secuestran CO₂ de manera más eficiente y tienen una mejor tasa de crecimiento cuando crecen en medio alcalino (Li et al., 2011). Un pH óptimo en el cultivo generalmente es mantenido gracias a la aireación con aire enriquecido con CO₂, o incluso con adición de ácido o base. Si no se realiza esta mantención se espera un descenso en la productividad, que no solo afecta el crecimiento algal, sino también en la capacidad de remover el nitrógeno en sistemas de tratamientos de agua (Park et al., 2011).

3.2.1.4. Nutrientes

Para un óptimo crecimiento y obtención de biomasa de microalgas se requieren varios tipos de nutrientes como carbono, nitrógeno, fósforo, potasio, magnesio, hierro, calcio, etc. El cultivo en masa y la producción de lípidos están significativamente influenciados por la concentración de estos nutrientes, especialmente nitrógeno y fósforo que podrían aprovecharse de las fuentes de aguas residuales (Enamala et al., 2018; Laxman Pachapur et al., 2015). El nitrógeno es un factor crítico para regular el contenido de lípidos en las células de las microalgas. Típicamente las microalgas tienen un contenido de lípido de aproximadamente un 20%, pero cuando el nitrógeno se convierte en el factor limitante del crecimiento, el nivel de lípidos puede estar por encima del 40% (Park et al., 2011). Por otro lado, aunque el contenido de fósforo de las microalgas es menor al 1%, la deficiencia durante la etapa de cultivo es una de las mayores limitaciones al crecimiento. En los medios de cultivo el nitrógeno es incorporado como nitrato (NO₃⁻) o como amonio (NH₄⁺), mientras que el fósforo es incorporado al medio de cultivo en forma de HPO₄²⁻ o HPO₄⁻ (Hernández-Pérez & Labbé, 2014).

3.2.1.5. CO₂

Asimismo, el dióxido de carbono en los medios de cultivo afecta el crecimiento y la productividad de las microalgas. Generalmente, el 2-5% de los niveles de CO₂ inducen efectos positivos en la fotosíntesis y un mayor crecimiento de las células de las microalgas. Sin embargo, altos y bajos niveles de CO₂ (0,03% CO₂, v/v) genera impactos negativos en el crecimiento (Kumar et al., 2022). Las microalgas son capaces de absorber unas 183 gigatoneladas de CO₂ mientras generan unas 100 gigatoneladas de biomasa de células de algas y, en comparación con otros cultivos terrestres, las

microalgas tienen el potencial de producir cerca de diez veces más biodiesel por unidad de área (Wood, 2021).

Es muy importante que sea alimentado de manera continua durante las horas del día y de forma controlada, lo cual adicionalmente ayuda a corregir el incremento de pH que puede llegar a un valor límite de 9 durante el crecimiento de las microalgas. Además, dado que las microalgas actúan como sumideros naturales de carbono, tienen el potencial de ser parte de las estrategias de mitigación de emisiones de gases de efecto invernadero (GEI). Por ejemplo, la producción de biodiesel a partir de microalgas puede utilizar parte del dióxido de carbono que se libera en las centrales termoeléctricas al quemar combustibles fósiles o de los gases de escape industrial que pueden contener hasta un 15% de CO₂, el cual a menudo está disponible a bajo costo o sin costo alguno (Chisti, 2007; Mata et al., 2010).

3.2.1.6. Medio de cultivo

Para el cultivo de microalgas existen dos diseños básicos: cultivos abiertos y cultivos cerrados. En el primer tipo de cultivo la biomasa está expuesta a las condiciones medioambientales y son los más comunes. Corresponden a estanques abiertos y de 0,2 a 0,5 m de profundidad con una rueda de paletas que hace circular las microalgas y los nutrientes en el agua para prevenir la sedimentación (Cardenas, 2010; Khan et al., 2022). Existe una variedad de diseños para los estanques abiertos, pero los estanques circulares y estanques Raceways, ilustrados en la Figura 3, son los más utilizados. Este tipo de sistema tiene la ventaja de ser muy rentable, porque su construcción y operación cuestan menos que los sistemas cerrados. Sin embargo, tienen una baja productividad de biomasa debido a la contaminación, mala mezcla, las áreas oscuras, gestión ineficaz del CO₂, crecimiento de algas no deseadas y microorganismos que se alimentan de microalgas, altos periodos de producción y a las pérdidas de agua debido a la evaporación (Chisti, 2007; Mata et al., 2010; Verenice et al., 2022).

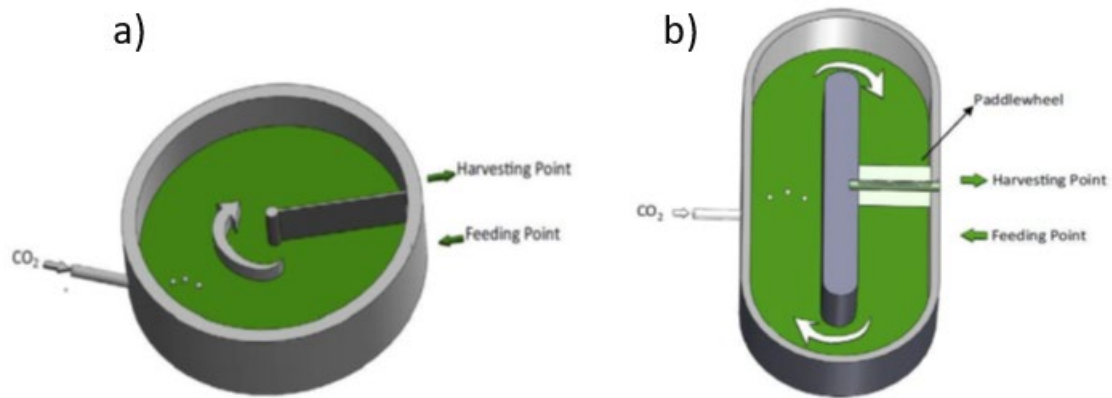


Figura 3: Tipo de sistemas de estanques abiertos. (a) Estanque circular, (b) Estanque Raceway (Khan et al., 2022).

Por otro lado, los estanques cerrados son aquellos que se encuentran como fotobiorreactores (PBR), que consiste en una serie de tubos transparentes hechos de material acrílico o de vidrio. De esta manera, la luz natural atraviesa los tubos, ayudando en el proceso de fotosíntesis y en el crecimiento de las microalgas (Sachin Powar et al., 2022). Como se ilustra en la Figura 4, los PBR se pueden clasificar según la configuración de sus tubos, siendo el fotobiorreactor tubular y el fotobiorreactor de panel plano los sistemas de cultivo cerrado más utilizados y eficientes para el cultivo comercial de microalgas (Chhandama et al., 2021).

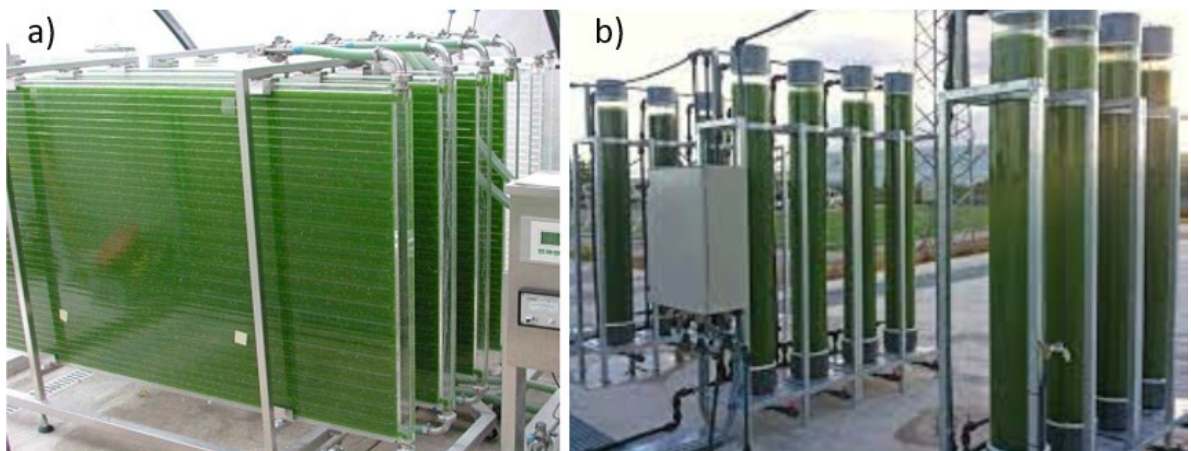


Figura 4: (a) Fotobiorreactor de panel, (b) Fotobiorreactor de columna (Verenice et al., 2022).

Este tipo de sistema se caracteriza principalmente por proporcionar un control superior del pH y la temperatura, una mayor protección contra la contaminación por otros microorganismos, una mejor mezcla, una menor pérdida por evaporación, mayor productividad de biomasa y por tener un aumento

de la eficiencia en el uso de la luz (Khan et al., 2022; Verenice et al., 2022). Sin embargo, poseen algunas desventajas como la acumulación peligrosa de oxígeno, el sobrecalentamiento, la bioincrustación y los altos costos de materiales y mantenimiento (Kiran et al., 2014; Mata et al., 2010).

3.2.2. Etapas de crecimiento

Al definir de manera cuantitativa cada factor mencionado anteriormente, se puede lograr obtener un cierto control sobre el crecimiento de las microalgas, durante el cual se pueden reconocer 5 fases: (a) fase de latencia; (b) fase de crecimiento exponencial; (c) fase de crecimiento lineal; (d) fase de crecimiento estacionario; (e) fase de muerte. Estas fases se encuentran ilustradas en la Figura 5.

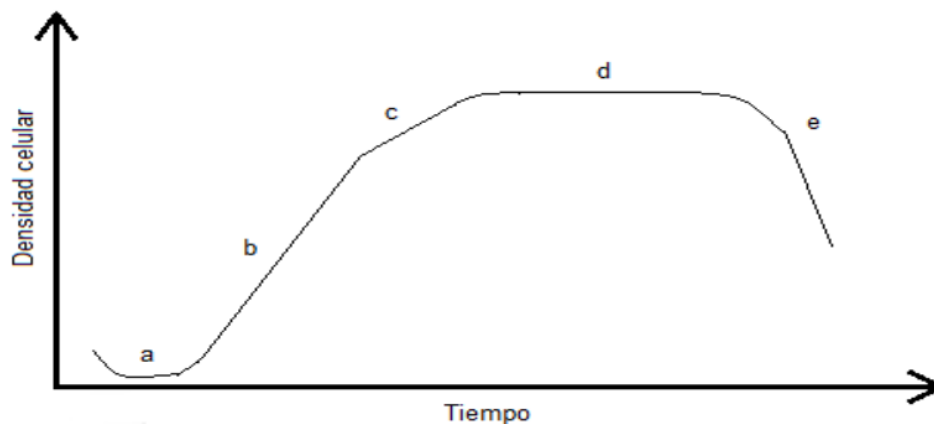


Figura 5: Representación esquemática de la tasa de crecimiento de microalgas (Essman, 2011).

La fase de latencia se produce después de la inoculación y corresponde a un periodo de ajuste fisiológico debido a cambios en las condiciones de nutrientes o de cultivo, es decir, las células se están adaptando al medio antes de comenzar a reproducirse (Essman, 2011). Luego, durante la fase de crecimiento exponencial las células crecen y se dividen exponencialmente con el tiempo. Durante este periodo, la intensidad de la luz y los nutrientes no limitan el crecimiento de las microalgas (Lee et al., 2015). Al final de esta fase, las células se han multiplicado de tal manera que comienzan a acumularse limitando el acceso a la luz, además la concentración de algunos nutrientes disminuye pasando a ser un limitante del crecimiento, una vez que esto ocurre la tasa de crecimiento comienza a disminuir llegando a la fase de crecimiento lineal. Asimismo, es en esta fase donde las microalgas presentan su mayor valor nutritivo, ricas en proteínas y mayor densidad poblacional (Zare, 2018). Cuando se agotan los nutrientes del medio de cultivo la tasa de crecimiento llega a cero dando paso a la fase estacionaria. En esta etapa se acumulan desechos tóxicos de la propia célula como el NH_3 y los productos de

almacenamiento de carbono, como el almidón y los lípidos (E. Lee et al., 2015). Finalmente, ocurre la fase de muerte donde la calidad del agua se deteriora, el pH se altera, se agota el sustrato y la población celular desciende (González & Brindley, 2020). Aquí la tasa de mortalidad es superior a la tasa de generación de nuevas células.

3.3. Selección de sitios para el cultivo de microalgas a escala industrial en Chile

Uno de los aspectos más importantes a considerar en la producción de microalgas a escala industrial es la ubicación estratégica de la zona donde se realizará el cultivo de las microalgas. Nuestro país cuenta con características geográficas y ambientales que representan una ventaja potencial para la producción de microalgas con fines bioenergéticos. Sin embargo, se debe realizar una correcta elección de la zona donde se realizará el proceso con el fin de optimizar la cantidad de biomasa producida, reducir los costes de transporte y consumo de energías. Se han realizado diversos estudios con el fin de definir las principales características que permiten determinar las zonas de cultivo de microalgas más ventajosas. Territorios donde la tierra ya no se utiliza para la agricultura y las áreas que presentan suave pendiente, abundancia de recursos hídricos, altos niveles de radiación solar y temperaturas adecuadas para el cultivo de diferentes especies de microalgas son lugares que permiten optimizar la producción de biomasa. (Bravo-Fritz et al., 2015b)

Ingenieros de la Pontificia Universidad Católica de Chile y de la Universidad de Chile determinaron los sitios con potencial para el cultivo de microalgas a escala industrial (Bravo-Fritz et al., 2015b). Cabe destacar que el análisis solo evalúa las regiones costeras y se consideraron los siguientes elementos para la selección de los sitios:

- I. Sitios ubicados cerca de fuentes fijas de emisiones de CO₂, como centrales termoeléctricas.
- II. Sitios con radiación solar diaria (promedio anual) mayor a 4 kWh/m²/día.
- III. Sitios con más de 6 horas de insolación diaria.
- IV. Sitios ubicados dentro de un rango aproximado de 10 km desde la costa.
- V. Sitios ubicados fuera de reservas regionales, áreas protegidas y humedales.
- VI. Sitios ubicados cerca de puertos o vías férreas.
- VII. Sitios accesibles desde carreteras.
- VIII. Parcelas de grandes dimensiones y con pendiente inferior al 5%.

En base a esto se identificaron 10 posibles sitios de cultivo dentro de un radio de 10 km de centrales termoeléctricas costeras y el descarte de áreas pobladas, industriales y agrícolas. Los 10 sitios seleccionados son los siguientes (Bravo-Fritz et al., 2015b):

- | | | |
|--------------|------------------|---------------|
| 1. Arica | 5. Mejillones | 9. Huasco |
| 2. Iquique | 6. Antofagasta | 10. Los Vilos |
| 3. Patache | 7. Taltal | |
| 4. Tocopilla | 8. Bahía Chascos | |

De los 10 sitios identificados, se tiene que la Bahía de Mejillones corresponde a una zona privilegiada del país para el desarrollo de zonas de cultivo de microalgas debido al tamaño de tierra disponible. Por otro lado, la ciudad de Mejillones en los últimos años ha presentado dificultades ambientales debido a la gran actividad industrial que existe en la zona. El cultivo de microalgas podría ayudar a compensar los impactos ambientales generados por las industrias problemáticas, en el sentido de realizar un tratamiento y aprovechamiento de las emisiones directas, y por las partes que decidan proporcionar un suministro de CO₂ para la formación de biomasa utilizando PBR. La Figura 6 corresponde al mapa de Chile mostrando los 10 sitios mencionados anteriormente y los elementos elegidos para la selección de sitios de cultivo.

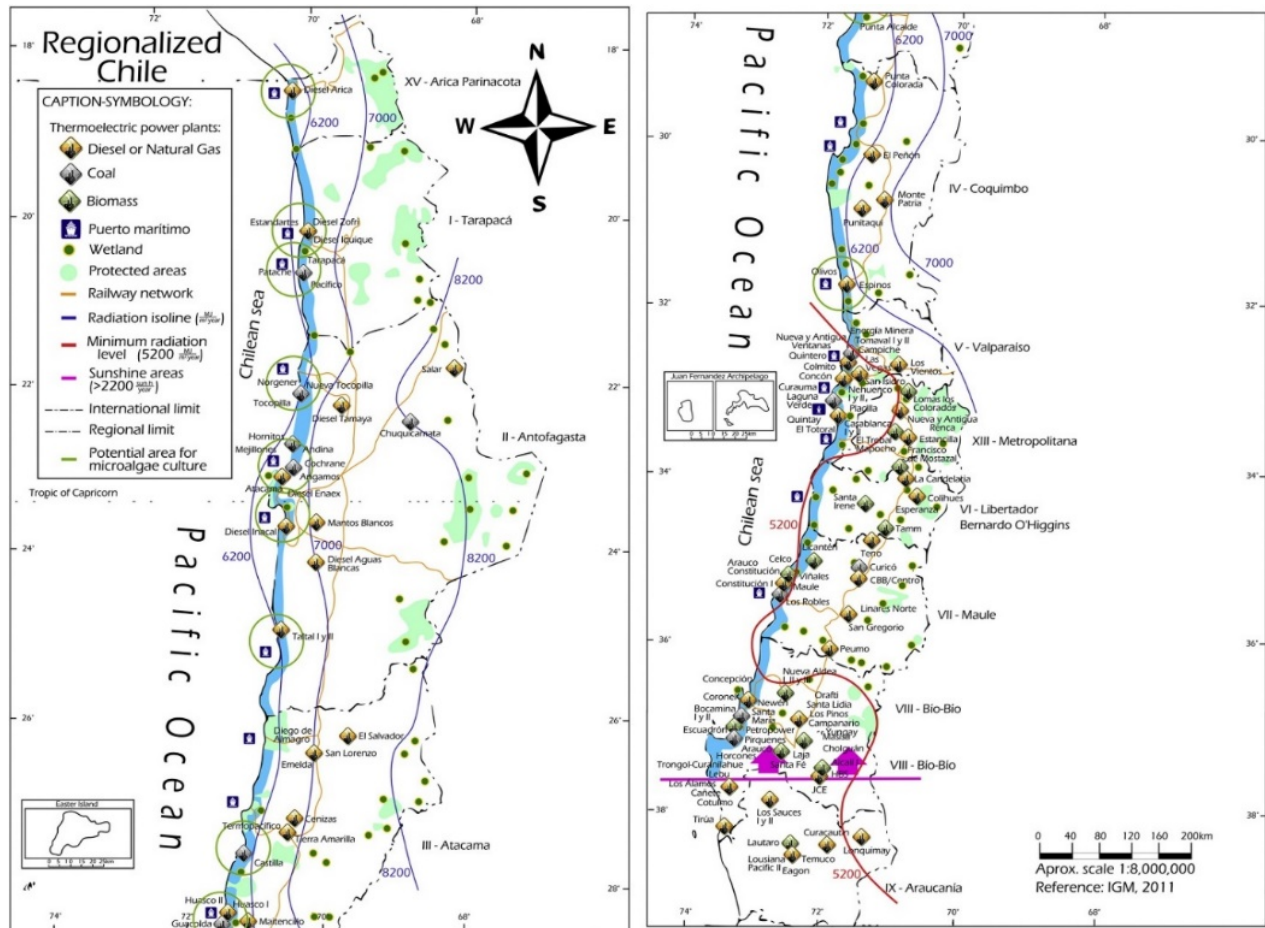


Figura 6: Mapa de Chile mostrando imagen superpuesta de los elementos elegidos por la metodología para la selección de sitios de cultivo (Bravo-Fritz et al., 2015a)

3.3.1. Proyectos en Chile

Chile posee condiciones óptimas para el desarrollo e instalación de plantas productoras de biocombustibles de tercera generación. Posee grandes extensiones de terrenos en la zona norte del país, junto a una intensa radiación solar durante todo el año, existe una alta disponibilidad de nutrientes NO_3 , PO_4 , provenientes de las salitreras y, centrales hidroeléctricas que emiten importantes concentraciones de CO_2 son ideales para la instalación y operación de centros productores de biocombustibles a lo largo de todo el territorio chileno.

Solo existen algunas iniciativas públicas de investigación para el potencial uso de microalgas con fines energéticos. Recientemente, se han destinado grandes recursos económicos para la aplicación de consorcios público-privados que permitan desarrollar la tecnología necesaria para la producción de biomasa algal y su posterior uso para generación de biocombustibles.

En este tipo de investigaciones se realizan estudios a microalgas nativas y de origen marina, ya que este tipo de organismos presentan las características deseables: perfil lipídico adecuado, uso de agua de mar, alta productividad, y consumo de CO₂. (Fuentes-Grünewald et al., 2010)

Durante el año 2010 en Chile, CORFO destinó fondos a tres consorcios empresariales públicos-privados: AlgaeFuels SA, Desert Biofuels SA y BAL Biofuels SA, para el desarrollo de tecnología e investigación en la producción de biodiesel de microalgas (las dos primeras enumeradas) y etanol de macroalgas (este último) (Bravo-Fritz et al., 2015b). A continuación, se detallan brevemente los consorcios destinados a la investigación de microalgas.

3.3.1.1. Consorcio Desert Bioenergy

Es un consorcio empresarial-universitario integrado por entidades como Electroandina, Universidad de Antofagasta, Algas Prodalmar, Universidad de la Frontera y Molinera Gorbea. Corresponde al primer consorcio tecnológico empresarial cuyo objetivo está orientado hacia la investigación de biocombustibles. El proyecto de investigación y desarrollo tecnológico contempló la ejecución de 12 líneas de investigación, las cuales consideraron el estudio y aislación de diversas cepas de microalgas, estudio genético, diseño e implementación de una planta de cultivo de microalgas a nivel piloto con inyección de gases de combustión de la central termoeléctrica de Tocopilla, obtención de bioproductos de las microalgas, desarrollo de la tecnología para producción de biodiesel y biogás y el diseño y construcción de una planta piloto de biocombustibles (Ministerio de Energía, 2015c). El principal objetivo de las empresas que constituyen este consorcio es la producción de biodiesel mediante la optimización de la producción de biomasa en términos de tiempo de cultivo y rendimiento por unidad de superficie, además de desarrollar procesos para reducir los costos de producción (García et al., 2011). De esta manera, buscan fomentar el desarrollo de Energías Renovables No Convencionales (ERNC), con el fin de preservar el ecosistema donde se encuentra instalada la planta.

En esta planta las microalgas son cultivadas en piscinas ubicadas en el interior de la Central Termoelectrica Tocopilla de Electroandina y se alimentan con CO₂ provenientes del proceso de generación de electricidad. Posteriormente, la biomasa de microalgas es cosechada, separada y secada, para luego extraer de dichas células el aceite contenido para su procesamiento y así obtener biodiesel. De esta manera, la central termoeléctrica está contribuyendo con la reducción de emisiones de gases efecto invernadero a la atmósfera.

3.3.1.2. Consorcio AlgaeFuels

Es un consorcio empresarial-universitario conformado por la Central Termoeléctrica E-CL, COPEC, Pontificia Universidad Católica de Chile, Rentapack y Bioscan. Este consorcio cuenta con una planta piloto en la comuna de Mejillones, donde se cultivan microalgas con alto contenido de lípidos para ser convertidos en biodiesel y subproductos.

En esta planta se recolectan las muestras de microalga del mar de salares de la primera y segunda región para ser trasladadas al laboratorio de Mejillones en donde se cultivan in vitro. Luego, las cepas son introducidas a fotobiorreactores en donde se le inyecta CO₂ proveniente de las chimeneas de la central termoeléctrica, agua salada, aire y nutrientes. Después, se trasladan a piscinas de producción y crecimiento en donde la radiación solar y un flujo de agua en constante movimiento aumentan la concentración de microalgas. La biomasa generada en estas piscinas es sometida a un proceso de floculación y centrifugado que permite separar el agua de las algas. Por consecuencia, se obtiene biomasa húmeda la cual debe ser sometida a un proceso de secado para obtener la biomasa microalgal seca, que es procesada en reactores para lograr la ruptura celular y así extraer el aceite contenida en ellas. Finalmente, se lleva a cabo el proceso de transesterificación donde el aceite es transformado en biodiesel. (Ministerio de Energía, 2015b)

3.3.1.3. Colección de cultivo de microalgas de la Universidad de Concepción

Se realizó un proyecto liderado por investigadores del Centro de Biotecnología y del Departamento de Botánica de la Universidad de Concepción, quienes junto a empresas como Pullman Bus y Panades y Cia. Ltda. y, el financiamiento aportado por AlgaeFuels, asumieron el desafío de establecer las bases para el escalamiento de los procesos de producción de biodiesel de nivel experimental a nivel industrial. Para ello, la investigación se realizó en la planta piloto de investigación microalgal liderada por el Grupo de Investigación Microalgal (FICOLAB) del Departamento de Botánica de la Universidad de Concepción. La planta piloto incluye un invernadero de 30 m² climatizado para el cultivo en condiciones semi-controladas y dispone de estanques de almacenamiento de diversas escalas volumétricas (1L a 700L) en variados sistemas de cultivo, tanto cerrados (PBRs planos, cilíndricos y tubulares) como abiertos (raceways) (Ministerio de Energía, 2015a).

Dado que se encuentran disponibles los datos primarios de este proyecto, el estudio se aplicará al cultivo de microalgas y producción de biocombustibles, principalmente en la producción de biodiesel,

realizado en la ciudad de Concepción. A continuación, se explica con más detalle en que consiste la planta piloto, las etapas del proceso y las condiciones que se utilizaron para llevar a cabo el procesamiento de la biomasa.

3.3.1.3.1. Descripción de la planta piloto, etapas del proceso y condiciones.

Dado que la costa chilena es extensa, hace que los recursos marinos sean de gran importancia para el desarrollo económico del país. La ciudad de Concepción, al poseer una ubicación estratégica, es sin duda un lugar apto para el cultivo de microalgas, ya que posee facilidades para el transporte de materiales y productos, existen diversas industrias que podrían suministrar CO₂ para el cultivo de microalgas. Además, esta región tiene condiciones climáticas favorables y se encuentra cerca del mar, lo que puede proporcionar el agua para el medio de cultivo y otros recursos que posee el mar. Teniendo en cuenta lo anterior, investigadores de la Universidad de Concepción aislaron la microalga *Phaeodactylum tricornutum* en el agua salada de Chañar Blanco, en la ciudad de La Serena, y la llevaron hasta la ciudad de Concepción. La microalga *Phaeodactylum tricornutum* (Figura 7) es una de las especies de diatomeas más exhaustivamente estudiadas. Las diatomeas son responsables de alrededor del 40% de la productividad primaria marina (Silva Benavides et al., 2013) y representan el grupo más rico de especies de algas, con aproximadamente 100.000 especies conocidas tanto en ambientes marinos como de agua dulce. A pesar de su abundancia, diversidad y sencillez de cultivo, pocas de ellas se cultivan con fines biotecnológicos o productivos (Chauton et al., 2013).

La especie *Phaeodactylum tricornutum* es una microalga unicelular y polimorfológica que se caracteriza por ser altamente productiva y ambientalmente adaptable. No solo puede utilizarse para la producción de biodiesel sino también para otras aplicaciones mediante un proceso de biorrefinería, debido a su interesante composición bioquímica y facilidad de cultivo (Branco-Vieira, Costa, et al., 2020a). Crecen rápidamente y los lípidos que almacenan constituyen aproximadamente entre 18,0 y 57,0%, tal como se muestra en la Tabla 2. La limitación de nitrógeno en esta especie puede inducir en la acumulación de lípidos, lo que indica posibles estrategias para mejorar la producción de biodiesel a partir de la microalga *Phaeodactylum tricornutum*.

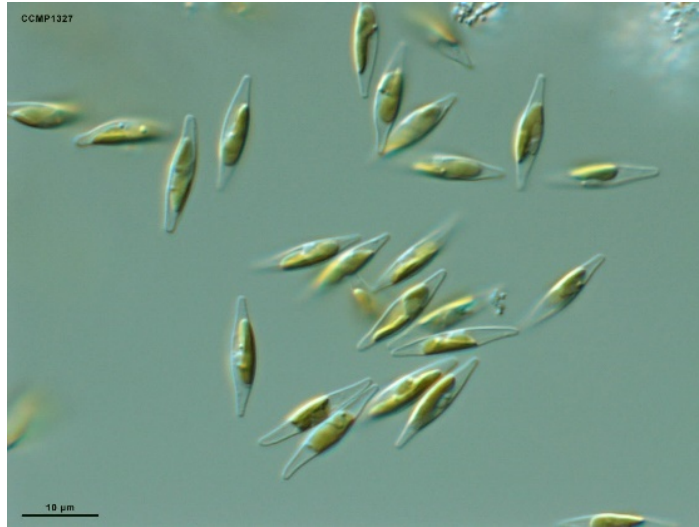


Figura 7: Microalga *Phaedactylum tricorutum*

El proceso de cultivo de microalgas y producción de biodiesel consta de los siguientes pasos (Figura 8) (Branco-Vieira, Costa, et al., 2020b):

1. Bombear el agua de mar al embalse.
2. Mezclar el agua de mar con los nutrientes necesarios para el crecimiento de la microalga *Phaeodactylum tricorutum*.
3. Alimentar el medio de cultivo al PBR.
4. Cosechar el medio cultivo de microalgas mediante centrifugación.
5. Filtrar y reutilizar el agua residual para otro lote de cultivo.
6. Extraer lípidos de la biomasa recuperada.
7. Producir biodiesel mediante el proceso de transesterificación.

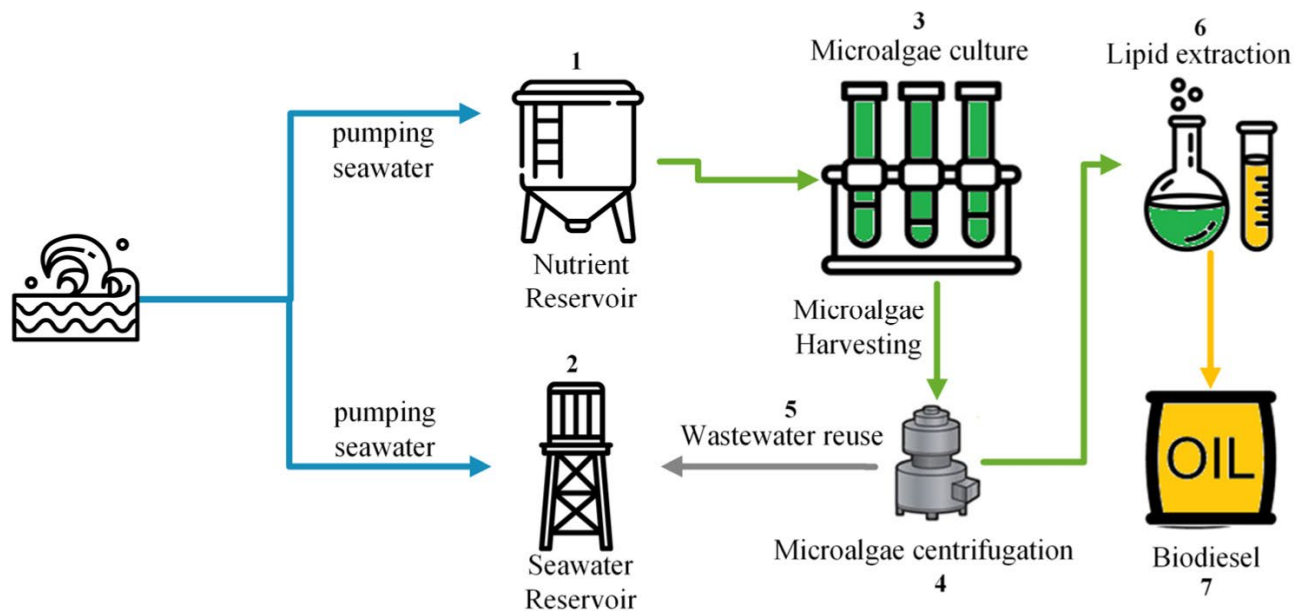


Figura 8: Cultivo industrial de microalgas y producción de biodiésel (Branco-Vieira, Costa, et al., 2020b)

El sistema de producción de biodiésel y coproductos se puede resumir en procesos aguas arriba y aguas abajo.

a) Procesos aguas arriba

Los procesos aguas arriba corresponden a la etapa de cultivo de microalgas y a la etapa de producción y cosecha de biomasa. Inicialmente, la microalga *Phaeodactylum tricornutum*, se mantuvo en subcultivo en matraces Erlenmeyer de 250 ml con 100 ml de medio de cultivo, aireados con aire atmosférico suministrado por un soplador con un caudal de 120 L/min y 0,18 bar a $23 \pm 1^\circ\text{C}$ (Branco-Vieira, Martín, Agurto, dos Santos, et al., 2018). Los cultivos se realizaron en medio Walne preparado con agua de mar natural, filtrado y autoclavado durante 45 minutos a 121°C y 20 psi, suplementado con vitaminas y silicato (Branco-Vieira, San Martín, et al., 2020). Después de 7 días los cultivos se transfirieron a matraces Erlenmeyer de 1 L en las mismas condiciones, hasta observar la fase de crecimiento exponencial. Luego, el inóculo de microalgas se cultivó por lotes en agua de mar natural en 4 matraces de policarbonato de 20 L (bombonas) bajo luz artificial. Se utilizó el medio Walne, que tenía los siguientes componentes (en mg/L): $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 1,30, $\text{MnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,35, H_3BO_3 33,6, EDTA 45,0, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 20,0, NaNO_3 1.000, $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 30,0, suministrado con 100 μL de solución vitamínica (Vitamina B12 100 mg/L, Vitamina B1 100 mg/L, Vitamina H 2000 $\mu\text{g/L}$). Después de 14 días de cultivo, el inóculo se transfirió a 4 fotobiorreactores de columna de burbujas de 200 L al aire libre (Branco-Vieira et al., 2017).

El cultivo al aire libre para las microalgas *Phaedactylum tricornutum* debe realizarse obligatoriamente en columnas de PBR, ya que requieren un control estricto de la temperatura en el rango de 20-25°C, que es difícil de mantener en sistemas abiertos. El cultivo de las microalgas bajo un sistema cerrado se realizó en la ciudad de Concepción, Chile, de enero a marzo del año 2016. El sistema consistió en 4 tubos acrílicos paralelos, cada uno de 1,4 m de largo y 0,45 m de ancho, capaces de contener un volumen de 200 L y, fueron colocados verticalmente sobre una base leñosa (Branco-Vieira, Martin, Agurto, dos Santos, et al., 2018) , tal como se muestra en la Figura 9. Así, el área total ocupada por el PBR fue de 1,27 m².

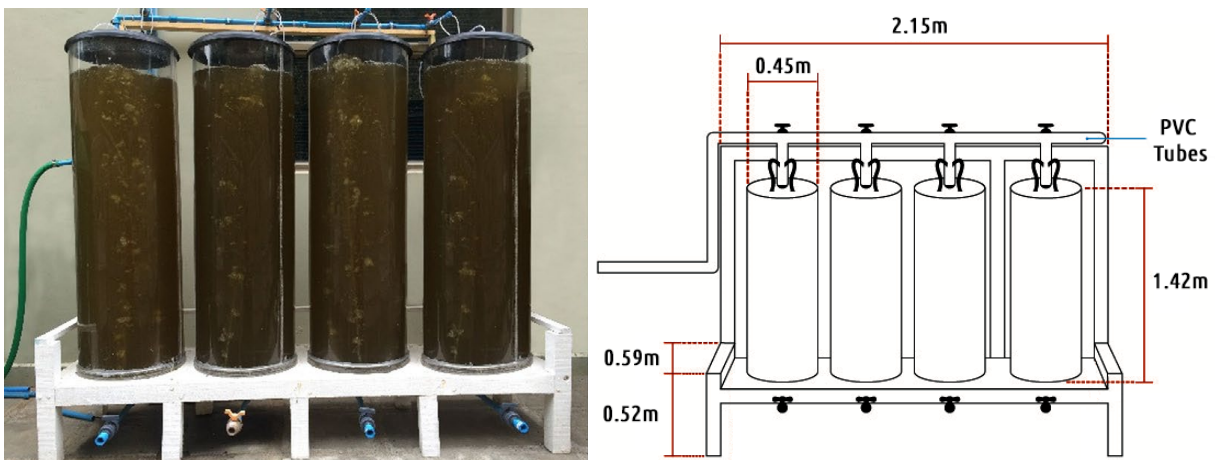


Figura 9: Columna de burbujas PBR utilizada para el cultivo de microalgas en el exterior (a) ilustración esquemática del PBR; (b) Croquis de la vista frontal del PBR que contiene todos los tamaños. (Branco-Vieira, Martin, Agurto, dos Santos, et al., 2018)

Al inicio, los tubos se llenaron con agua de mar y se añadió hipoclorito de sodio 0,03 g/L como agente desinfectante, manteniendo el aire burbujeante durante la noche mediante un soplador de aire de 200 L/min a 0,2 bar de presión relativa. Transcurridos 24 horas de tratamiento, el hipoclorito de sodio se neutralizó con 100 mL de Na₂S₂O₃ 50 g/L. Luego, el medio de cultivo se enriqueció con una formulación f/2 de Guillard modificada comercialmente con silicato. El sistema fue monitoreado diariamente hasta que se alcanzó la fase de crecimiento estacionario y, luego de 14 días de cultivo, las microalgas se cosecharon mediante floculación durante la noche, utilizando NaOH 0,5 M a pH 10,4, seguido de una centrifugación de la biomasa a 4000 rpm durante 5 minutos. Luego, se almacenaron a -20°C hasta ser liofilizadas a -70 ± 2 °C durante aproximadamente 72 horas. Una vez obtenida la biomasa seca total, esta fue almacenada a -20°C para poder ser analizada y continuar con su procesamiento (Branco-Vieira, San Martin, et al., 2020).



Figura 10: Biomasa húmeda obtenida de microalgas *Phaedactylum tricorutum*

El cultivo al aire libre se controló diariamente realizando mediciones de concentración de biomasa, temperatura, pH y salinidad. La Figura 11 muestra la variación de estos parámetros durante 14 días de cultivo, donde la línea verde corresponde a la concentración de biomasa, la línea roja es la variación de la temperatura, la línea morada es la salinidad y la línea azul es la variación del pH. A partir de esto se muestra que la mayor concentración de biomasa ($0,96 \text{ kg/m}^3$) se obtuvo en la fase estacionaria al día 12 de cultivo. La temperatura varía de 17 a 21°C , el pH osciló entre 7-9 y la salinidad se mantuvo casi constante durante todo el periodo de cultivo. En el día 9 de cultivo, la temperatura comienza a disminuir, pero la concentración de la biomasa ya no varía, esto quiere decir que el cultivo se encuentra en la fase estacionaria, momento en el que se realiza la cosecha de la biomasa (Branco-Vieira et al., 2017).

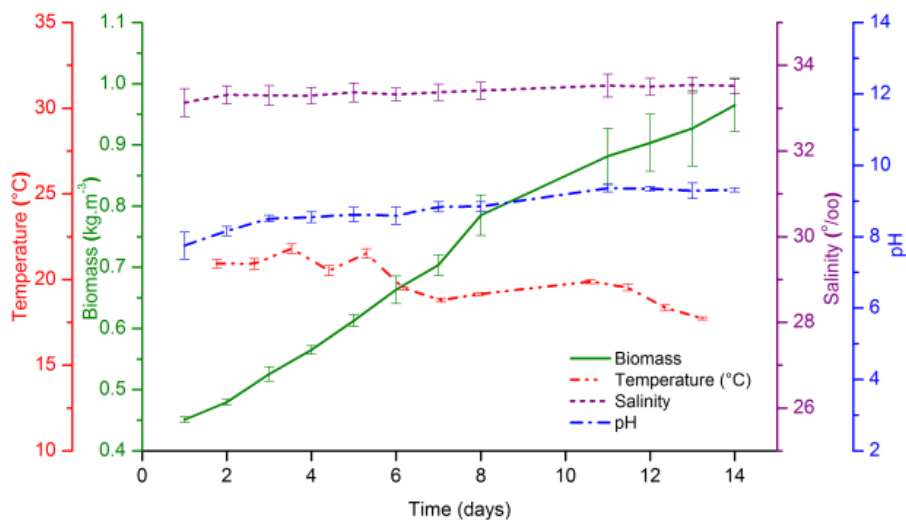


Figura 11: Variación de los parámetros de cultivo durante 14 días. (Branco-Vieira et al., 2017).

Con el fin de realizar un estudio más realista a la biorrefinería de microalgas, se construyó un escenario escalado en base a los resultados obtenidos del proceso caracterizado anteriormente, a través de la metodología propuesta por Spruijt et al. (2015). El escenario escalado considera una instalación que cuenta con 10.000 módulos de PBR, totalizando 8.000 m³ de cultivo de microalgas. Además, la instalación abarca una superficie total de 2,5 ha, que se encuentra dividida en 3 zonas: 1,08 ha son destinadas a la instalación del PBR en el exterior, 1,08 ha corresponde al espacio de trabajo entre el PBR y 796 m² son utilizados en los procesos aguas abajo (Branco-Vieira, Costa, et al., 2020b).

El modelo considera un tiempo de operación 24/7 (horas/días), 1 año de operación y 4 periodos al año para la limpieza de los reactores, lo que corresponde a 14 días no disponibles para la producción de biomasa (Branco-Vieira, Costa, et al., 2020a). El proceso ampliado consideró todas las condiciones climáticas para el crecimiento de microalgas y los factores económicos del lugar durante un año de operación (Branco-Vieira, Costa, et al., 2020b). Los parámetros ambientales se presentan en la Tabla 3

Tabla 3: Parámetros ambientales mensuales del año 2016 utilizados para calcular la producción de biomasa (Branco-Vieira, Costa, et al., 2020a)

Parámetro ^a	Meses											
	En	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ag	Sept	Oct	Nov	Dic
T (°C)	18,4	17,1	15,2	12,3	12,9	8,60	9,30	10,4	12,1	12,6	15,1	16,3
RH (%)	71,7	70,2	77,2	81,2	90,0	85,8	87,7	85,5	77,2	80,1	72,2	71,7
PREC (mm)	1,8	0,0	14,2	67,2	117,6	3,4	189,4	54,0	49,8	71,8	14,4	32,4
GRAD (MJ/kg)	735	775	663	501	320	449	308	416	598	604	740	621

^aT= Temperatura; RH =Humedad relativa; PREC= Precipitaciones; GRAD=Radiación global mensual.

Dado que el cultivo de biomasa es una de las etapas más intensivas en consumo de agua, se consideró que el 90% del agua regresa al PBR y se reutiliza en otro cultivo discontinuo. La pasta de algas resultante contiene aproximadamente un 15% de biomasa seca después de la centrifugación. La mayor concentración de biomasa obtenida fue de 0,96 kg_{DW}/m³, el rendimiento volumétrico máximo fue de 0,13 kg_{DW}/(m³*d) y la eficiencia fotosintética calculada fue del 5%. La caracterización bioquímica de

la microalga reveló una cantidad de 9,08% de lípidos, 7,85% de carbohidratos y 38,40% de proteínas (Figura 12) (Branco-Vieira, Martin, Agurto, Freitas, et al., 2018).

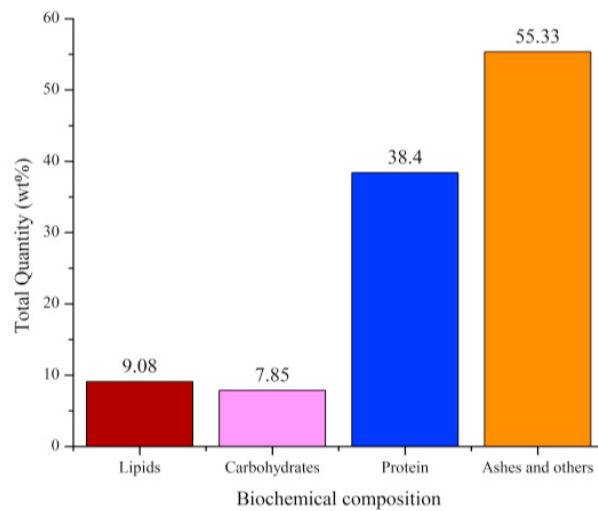


Figura 12: Caracterización bioquímica de Phaedactylum Tricornutum

b) Procesos aguas abajo

Los procesos aguas abajo incluyen el secado de biomasa, la disrupción celular, la extracción de lípidos, la refinación del aceite y la transesterificación de lípidos para la producción de biodiesel. Además del biodiesel, también se producen glicerol y biomasa residual como coproductos de este proceso (Branco-Vieira, Costa, et al., 2020a).

Tal como se mencionó, la pasta de algas se seca mediante el proceso de liofilización con una eficiencia del 80%, donde la actividad del agua es inhibida junto al crecimiento microbiano para preservar la biomasa. Este paso es de gran importancia ya que la presencia de agua dificulta la transferencia de masa de lípidos, por lo que se reduciría el rendimiento de lípidos (Kumar et al., 2022). Dado que el agua constituye aproximadamente una cuarta parte de la biomasa de microalgas húmedas por peso, se tiene que el proceso de secado es una de las etapas más costosas debido a la energía y el tiempo consumido (Wood, 2021).

Posteriormente, las células de biomasa seca (Figura 13) se muelen en un molino de bolas para mejorar la extracción de componentes intracelulares, para lo cual se supone una eficiencia de ruptura celular del 95%. El molino de bolas tiene capacidad para procesar 12,5 toneladas de biomasa de algas en 8.000 horas de funcionamiento. Se supone que el consumo de electricidad para la molienda de bolas es de 1,87 kWh/kg de biomasa seca de microalgas. (Balasundaram et al., 2012)

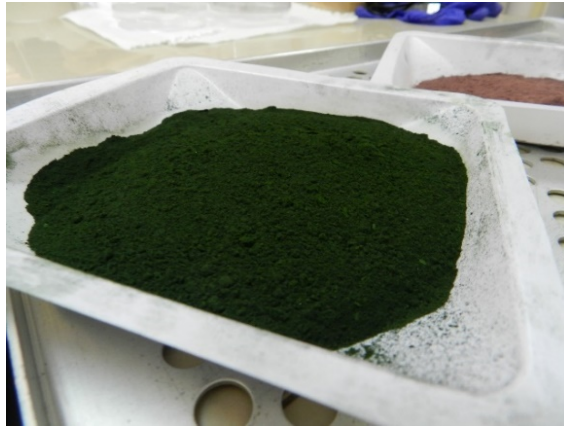


Figura 13: Biomasa seca y molida de microalgas *Phaedactylum tricornutum*.

La extracción de lípidos es una técnica de transferencia de masa en la que los lípidos se separan o liberan de las paredes celulares de la biomasa. Es un proceso complicado debido al grosor de las paredes celulares de las microalgas que evitan que los lípidos internos se difundan fuera de la estructura de estas mismas (Nagappan et al., 2019). En esta planta piloto se aplicó el proceso de extracción con CO₂ supercrítico como catalizador para mejorar la velocidad de reacción (Saranya & Ramachandra, 2020). Tener una temperatura crítica baja (31,1°C) y una presión crítica moderada (73,9 bar), permite que el CO₂ extraiga con éxito fracciones lipídicas sensibles a la temperatura sin degradación (Santana et al., 2012). También facilita la extracción segura y respetuosa con el medio ambiente, con baja toxicidad e inflamabilidad (Russell et al., 2022). Se supone que de la biomasa se obtienen únicamente triglicéridos, con una eficiencia de extracción del 95%.

Luego, es necesario realizar un refinado para separar los desechos celulares, los lípidos de la membrana y los pigmentos de los triglicéridos. Este paso permite reducir los contaminantes presentes en la futura mezcla FAME a niveles aceptables para los estándares internacionales de biodiesel. Para ello es necesario añadir 4% (p/p lípidos) de agua, 85% de ácido fosfórico al 0,25%, 0,05% de ácido nítrico y sosa cáustica como agente neutralizante y se lleva a cabo a 65°C en un tanque mezclador-decantador (Branco-Vieira, Costa, et al., 2020a).

Posteriormente, ocurre el proceso de transesterificación que consiste en una reacción de múltiples pasos, que incluye principalmente tres pasos reversibles en serie, donde los triglicéridos se convierten en diglicéridos, luego los diglicéridos se convierten en monoglicéridos y los monoglicéridos se convierten en ésteres de ácidos grasos (biodiesel) y glicerol (subproductos). La reacción de

transesterificación global se describe en la Figura 14 donde los radicales R1, R2, R3 representan hidrocarburos de cadena larga, conocidos como ácidos grasos (Mata et al., 2010).

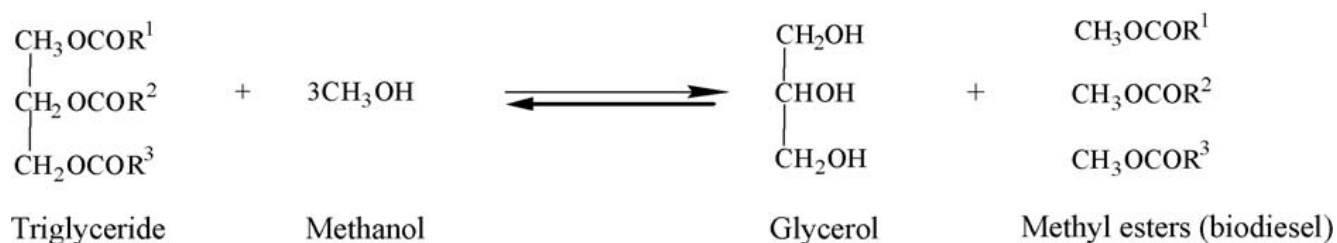


Figura 14: Reacción global de transesterificación (Naik et al., 2010).

La reacción de transesterificación se llevó a cabo en presencia de hidróxido de potasio, como agente catalizador básico, además, se utilizó metanol como reactivo. Se supone que la relación molar de metanol a lípido es de 6:1 (v/v) para completar la reacción con precisión, y se considera que el 98 % de los triglicéridos se convierten en FAME en 1 hora de tiempo de reacción. Luego, para eliminar el catalizador, se agregó ácido sulfúrico (H₂SO₄) para neutralizarlo, seguido de un lavado con agua, también para eliminar cualquier resto de glicerol y sales del biodiesel (Branco-Vieira, Costa, et al., 2020a).

Así, siguiendo los pasos descritos anteriormente se pueden producir 181 toneladas de biomasa de microalgas y 15 toneladas de biodiesel al año. En consecuencia, para producir 1 kg de biodiesel es necesario disponer de unos 12 kg de biomasa algal seca, considerando 9,08% de lípidos en su constitución intracelular. Cada 1 kg de biodiesel genera unas 10 veces más de biomasa residual rica en proteínas y un 10% de glicerol (Branco-Vieira, Costa, et al., 2020a). Sin embargo, la microalga *Phaedactylum tricornutum* mostró una variabilidad sustancial en la producción de biomasa durante el año, mostrando mayores producciones en verano que en invierno, lo cual se puede apreciar en la Figura 15, donde la mayor producción fue obtenida entre los meses de enero y marzo y, la producción más baja de biomasa de microalgas se produjo entre mayo y agosto del año 2016. El inventario completo utilizado para los procesos aguas arriba y los procesos aguas abajo se muestran en la Tabla 16 y Tabla 17, respectivamente del Anexo I.

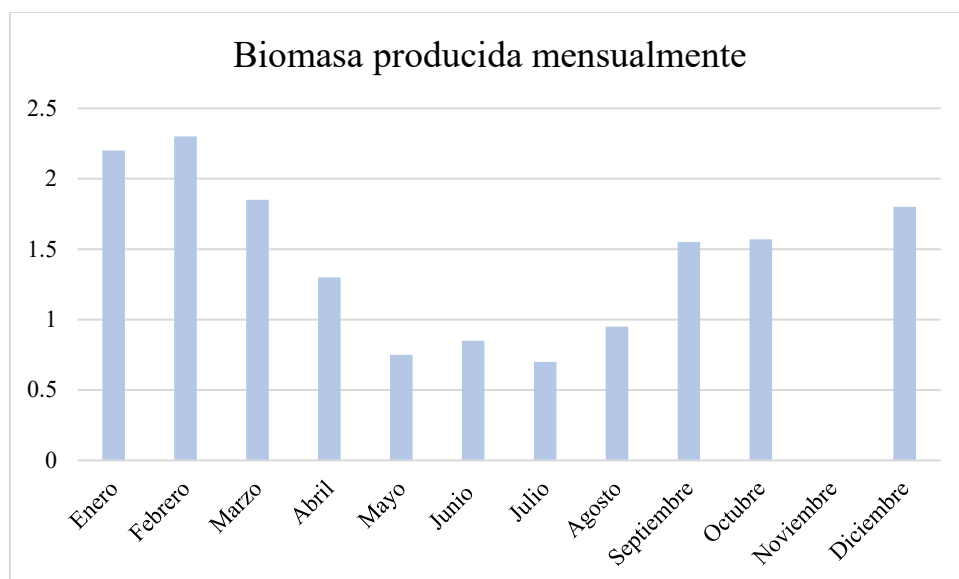


Figura 15: Biomasa de microalgas producida mensualmente en la planta piloto ubicada en la ciudad de Concepción (Branco-Vieira, San Martin, et al., 2020).

Mediante un análisis de perfil de FAME es posible determinar las propiedades del biocombustible que será producido a partir de la microalga *Phaedactylum tricornutum*. El perfil mostró principalmente una composición de 26,52% de ácidos grasos saturados (SFA), 21,91% de ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) y 32,02% de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) (Branco-Vieira et al., 2017). Este perfil cumple con los requisitos de las normas internacionales de biodiesel, lo que demuestra que podría ser una buena alternativa para la producción de biodiesel, cuyas principales características físicas se indican en la Tabla 4. Sin embargo, es necesario desarrollar más estudios para evaluar el contenido de lípidos y la productividad de esta microalga en diferentes lugares geográficos, considerando diferentes condiciones climáticas y de estrés, para determinar de manera efectiva su potencial para la producción de biodiesel y otras aplicaciones, ya que el perfil de ácidos grasos y los componentes bioquímicos cambian en diversos entornos agrícolas (Branco-Vieira, Martin, Agurto, dos Santos, et al., 2018).

Tabla 4: Características físicas del biodiesel obtenido a partir de microalgas *Phaedactylum tricornutum*.

Parámetro	Valor	Unidad
Viscosidad	5,32	cSt
Densidad	0,90	g/ml
Índice de Yodo	125	-

Después de la producción de biomasa y la extracción de lípidos, la pasta de microalgas aun contiene carbohidratos que se pueden extraer y utilizar para la producción de bioetanol. Para ello la biomasa es rehidratada, seguida de hidrólisis enzimática del polímero liberado en carbohidratos monoméricos, para ser fermentado por levaduras. Luego de la fermentación, el bioetanol resultante se puede concentrar por destilación. Por otro lado, la biomasa residual del proceso de producción de biodiesel y bioetanol se puede utilizar para alimentar un digestor anaeróbico para la producción de biometano (Branco-Vieira, San Martin, et al., 2020). La Figura 16 muestra el diagrama de flujo donde se representa la configuración de biorrefinería descrita anteriormente.

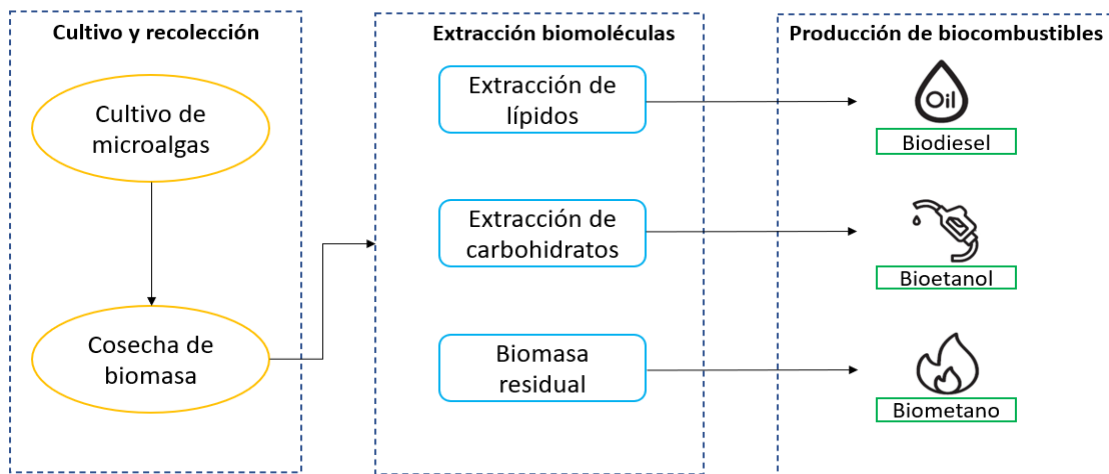


Figura 16: Diagrama de flujo de biorrefinería basada en la microalga *Phaedactylum Tricornutum* para la producción de biocombustibles. Adaptado de (Branco-Vieira, Martín, Agurto, Freitas, et al., 2018)

Sin embargo, la microalga *Phaedactylum Tricornutum* es considerada principalmente como un candidato potencial para la producción de biodiesel debido a las características que posee.

3.4. Huella hídrica

La huella hídrica permite cuantificar el volumen total de agua consumida y/o contaminada por unidad de tiempo que se emplea para producir un bien o un servicio, o que consume un individuo, una comunidad o una fábrica teniendo en cuenta toda el agua utilizada en los procesos involucrados en la cadena de suministro del producto (Civit et al., 2011). El agua consumida se refiere al agua extraída, que luego del proceso no vuelve a la cuenca desde donde se extrajo. El consumo se puede dar porque el agua es evaporada, evapotranspirada, incorporada en los productos del proceso o descargada a otra cuenca o al mar. Por otro lado, este indicador no se centra únicamente en el uso directo del agua por

parte de un consumidor o de un productor, sino que se centra también en su uso indirecto (Hoekstra et al., 2011).

El agua es un recurso invaluable que se requiere para todas las formas de vida, y es necesaria para la civilización. Actualmente, la creciente demanda de agua que se requiere para producir los bienes y servicios que consumimos diariamente ha provocado situaciones de estrés hídrico en numerosos lugares, ya sea por una limitada disponibilidad natural del recurso, por una demanda intensiva o por una mezcla de ambas y, si esta situación no es controlada se estima que la humanidad en algún momento tendrá dificultades para obtener agua adecuada para satisfacer sus necesidades (Fundación Chile & ONG Agualimpia., 2017; Tewelde, 2019). En particular, en los procesos de producción de biocombustibles se estima que la huella hídrica es uno de los aspectos que podría restringir el escalamiento de la producción de biocombustibles, ya que su cultivo es un proceso intensivo de agua en el que se requiere una gestión adecuada del consumo y las pérdidas de agua para reducir el impacto ambiental (Gerbens-Leenes et al., 2013; Martins et al., 2018). Debido a esto es muy importante realizar una evaluación del uso del agua, no solo por la evaluación del impacto, sino para permitir una evaluación precisa de la viabilidad de ubicaciones apropiadas y la economía del proceso (Guieysse et al., 2013). En la Tabla 5 se muestra la huella hídrica para la producción de biodiesel y bioetanol a partir de las principales materias primas utilizadas en la actualidad.

Tabla 5: Comparación de la huella hídrica del bioetanol y biodiesel de diversas materias primas a(Gerbens-Leenes et al., 2013); b(Yang et al., 2011b)

	Huella hídrica total (L agua/ L bioetanol)^a	Huella hídrica total (kg agua/kg biodiesel)
Maíz	2.570	4.015
Papas	2.399	3.748
Caña de azúcar	2.516	3.931
Remolacha	1.388	2.168
Cebada	3.727	-
Centeno	3.990	-
Trigo	4.946	-
Sorgo	9.812	15.331
Soya	-	13.676
Microalgas	-	591-3.650

Se observa que la remolacha y la papa son los materiales de cultivo más favorables para la producción de bioetanol y de biodiesel, seguido de la caña de azúcar, mientras que el sorgo fue la materia prima menos favorable para la producción de bioetanol. Por otro lado, la huella hídrica total para el biodiesel a partir de microalgas presenta una variación en su valor dependiendo de algunos factores como, si el proceso cuenta con un sistema de reciclaje de agua, el sistema de cultivo utilizado y el tipo de agua utilizada. El cultivo de microalgas en fotobiorreactores y el uso de aguas residuales o saladas como medio de crecimiento tienen un gran potencial para reducir significativamente el consumo de agua dulce y nutrientes (Clarens et al., 2010; Moody et al., 2014; Pate et al., 2011). Cabe mencionar que el uso del agua en el cultivo, secado, extracción o transesterificación no varía con el cambio de la tasa de reciclaje del agua en la etapa de cosecha. En otras palabras, no importa cuánta agua de cosecha se recicla, la huella hídrica causada por otros procesos, principalmente cultivo y secado, es generalmente inevitable. La Figura 17 muestra el uso de agua de la producción de biodiesel de microalgas en diferentes etapas del ciclo de vida. Cabe destacar que el 100% de reciclaje de agua es imposible, incluso en perfecto funcionamiento, ya que se pierde una importante cantidad de agua debido a la evaporación del agua y durante la cosecha (84,1%) y el secado de la biomasa de microalgas (Guieysse et al., 2013).

La Figura 18 muestra la huella hídrica utilizando agua dulce, agua de mar o aguas residuales a diferentes tasas de reciclaje de agua recolectada. Los resultados indican que el uso de agua de mar o aguas residuales puede reducir el uso de agua dulce durante el ciclo de vida hasta un 90%.

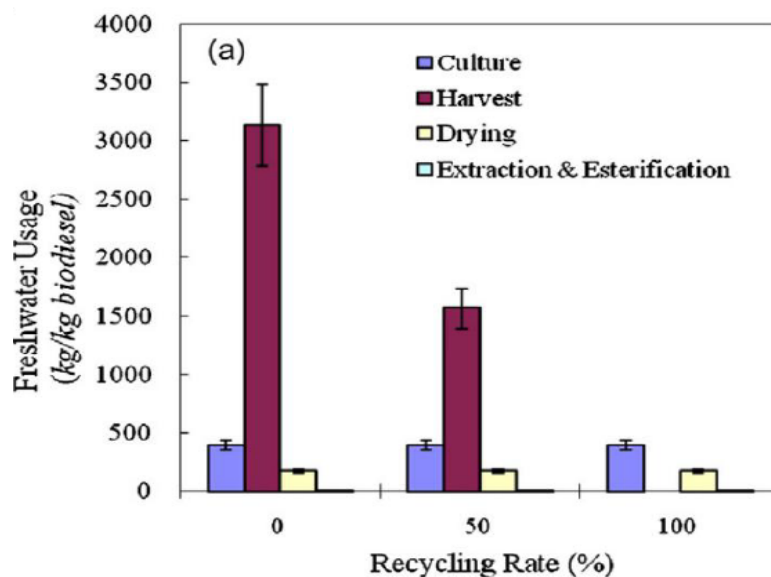


Figura 17: Huella hídrica usando para producir 1 kg de biodiesel a partir de microalgas (Yang et al., 2011b).

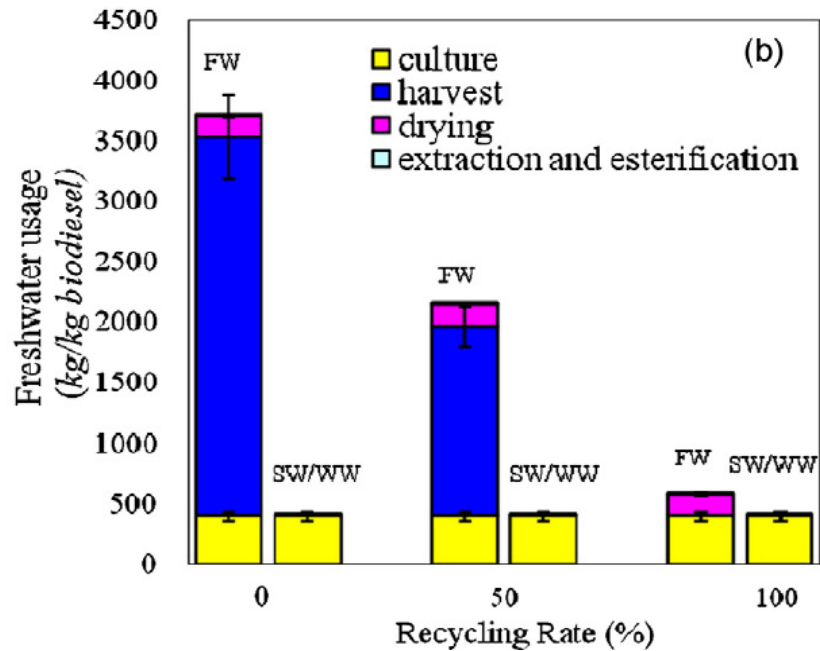


Figura 18: Huella hídrica utilizando agua de mar (SW), aguas residuales (WW) o agua dulce (FW) como medio de cultivo para producir 1 kg de biodiesel a partir de microalgas (Yang et al., 2011b).

Sin embargo, los investigadores aún no saben cuántas veces se puede reciclar el agua de la cosecha. Después de reciclar varias veces, el agua de cosecha es susceptible a la contaminación por hongos y bacterias. Mientras tanto, algunos metabolitos que son liberados durante el crecimiento de las microalgas pueden inhibir la producción cuando el agua de cosecha es recirculada demasiadas veces en el sistema de cultivo (Lam & Lee, 2012; Zhu & Ketola, 2012). Es por eso que la posibilidad de reciclar el agua en el cultivo de microalgas depende en gran medida de la idoneidad del agua para el posterior cultivo (Cooney et al., 2011).

Por ello es necesario realizar uso eficiente del agua a lo largo de cada etapa de producción de biocombustibles, siendo la técnica de recirculación de agua una práctica poco común en la industria y con resultados positivos en el desempeño ambiental del proceso, la cual debe ser previamente evaluada para evitar la inhibición de la producción debido al uso de agua recirculada inapropiada para el cultivo de microalgas.

4. Metodología

En este capítulo se presenta la metodología detallada para cuantificar la huella hídrica y otros impactos ambientales que tiene la producción de biodiesel a partir de la microalga *Phaedactylum tricornutum* en planta piloto ubicada en Concepción. En primer lugar, se describe en que consiste la norma ISO 14046 y el enfoque de Evaluación del Ciclo de Vida (ECV) de un producto. Luego, se detallan las ecuaciones necesarias para llevar el cálculo de la huella hídrica en cada etapa de la producción de biodiesel y, se definen los indicadores de impacto ambiental de punto medio y punto final que serán utilizados. Finalmente, se detalla el método de análisis de sensibilidad para analizar la solidez de las conclusiones.

4.1. Evaluación de la huella hídrica de la producción de biodiesel acorde a la norma ISO 14046

La huella hídrica permite comprender las actividades y productos que se relacionan con la escasez y la contaminación del agua y con los impactos derivados de las mismas. Se han desarrollado diversas metodologías para calcular la huella hídrica y en este estudio se utiliza la propuesta metodológica de la norma ISO 14046.

La norma ISO 14046 de huella hídrica, aprobada en julio de 2014, tiene un enfoque metodológico basado en la Evaluación del Ciclo de Vida (ECV) de un producto. La ECV es una técnica cuantitativa para determinar los impactos ambientales potenciales asociados a un producto o servicio, que comprende etapas que van desde la extracción de la materia prima de la naturaleza, que ingresa al sistema, hasta la disposición final de los residuos (Karthikeyan et al., 2020). La ECV cuantifica y evalúa todas las entradas y las salidas de un proceso y permite identificar las principales cargas ambientales de un producto durante todas las etapas de su ciclo de vida. El análisis se puede realizar mediante un enfoque de la cuna a la tumba donde se considera una evaluación del ciclo de vida completo que comienza desde la extracción de recursos (cuna) hasta la fase de eliminación (tumba), mientras que el enfoque de la cuna a la puerta es un ciclo de vida parcial del producto que cubre la extracción de recursos (cuna) a la fábrica (excluyendo su uso y las emisiones relacionadas con la eliminación) (Hiloidhari et al., 2017).

Las etapas de una evaluación de ciclo de vida se encuentran definidas por las normas ISO 14040 a la ISO 14044 y consta las siguientes etapas, las cuales se encuentran esquematizadas en la Figura 19 (Fundación Chile & ONG Agualimpia., 2017):

- 1) Definición de los objetivos y alcances.
- 2) Análisis de inventario.
- 3) Evaluación de impactos.
- 4) Interpretación de los resultados.



Figura 19: Esquema de las etapas para el cálculo de huella hídrica (Fundación Chile & ONG Agualimpia., 2017).

4.1.1. Definición de objetivos y alcances

En primer lugar, para desarrollar una ECV, se debe definir el propósito del estudio y el uso que se le dará a los resultados obtenidos. En esta etapa se define además la unidad funcional, que corresponde a la unidad de referencia usada para normalizar todas las entradas y salidas para poder realizar comparaciones de los resultados (Machuca, 2022). Por otro lado, deben quedar establecidas la dimensión temporal y geográfica del estudio, ya que el estudio entrega resultados definidos para un periodo de tiempo y lugar determinados, aspectos relacionados al momento y lugar en que se produjeron los flujos de materia y energía que se requirieron para el producto, servicio, proceso o industria que se esté evaluando (International Organization for Standardization, 2016). Se deben detallar las principales consideraciones que se tomaron en cuenta para los flujos de referencia en cada una de las etapas del sistema analizado, es decir, debe indicarse la base de datos utilizada para la validación de datos en el estudio.

Finalmente, se definen los límites del sistema el cual establece que es lo que se considera y lo que no se considera en el estudio, se detallan las etapas, procesos y flujos a considerar y debe contener todas

las actividades relevantes que puedan contribuir de manera significativa a los impactos ambientales relacionados al recurso hídrico.

4.2. Análisis del inventario

En esta etapa se realiza principalmente el levantamiento de información que corresponde a datos primarios, de terreno, de literatura o bases de datos. La calidad de los datos recolectados determina la precisión de los resultados obtenidos para ser interpretados en la última etapa. En la información a recolectar se consideran las entradas y salidas de agua y energías (electricidad y combustibles). Luego de obtener los datos de entradas y salidas relevantes del sistema analizado, estos datos se normalizan respecto a la unidad funcional definida en la etapa anterior. En otras palabras, para cada flujo se calcula la cantidad requerida para producir la unidad funcional (flujo de referencia) (Fundación Chile & ONG Agualimpia., 2017). Como resultado se obtiene el inventario del ciclo de vida que corresponde a un listado de flujos elementales del uso directo e indirecto del agua asociados al proceso productivo estudiado que está basado en la unidad funcional. Los datos de uso indirecto de agua son incorporados en la planilla a través del consumo de insumos, energías y otros que se requieran durante el proceso y, son cuantificados mediante fuentes de información secundaria, como estudios o bases de datos sobre usos de agua.

4.2.1. Cálculo de la huella hídrica

A partir del inventario del ciclo de vida se determina, en primer lugar, el consumo de agua por usos directos (F_{wd}). Para ello se cuantifica el agua necesaria para llevar a cabo las etapas del proceso de producción de biodiesel y se puede calcular mediante la siguiente expresión (Yang et al., 2011a) :

$$F_{wd} = F_{Cul} + F_{Cos} + F_{Sec} + F_{Extr} + F_{Ref} + F_{Trans} \quad (1)$$

Donde F_{Cul} , F_{Cos} , F_{Sec} , F_{Extr} , F_{Ref} y F_{Trans} corresponden al agua consumida durante las etapas de cultivo, cosecha, secado, extracción y refinación, respectivamente.

En la etapa de cultivo el agua consumida viene dada por el agua de reposición añadida por las pérdidas de agua evaporada y/o la evapotranspiración de las microalgas (F_{Cul}). El agua de reposición se considera despreciable dado que el PBR es un sistema cerrado, sin pérdidas de agua por evaporación (como ocurre en los estanques abiertos) (Martins et al., 2018). Por lo que el consumo de agua en este paso se obtiene sumando tanto el agua de mar como la dulce. Si bien se utiliza agua de mar para la preparación del medio de cultivo, se utiliza agua dulce para la termorregulación del cultivo en los equipos de refrigeración, lo que es especialmente importante durante la época estival.

Por otro lado, en la etapa de cosecha el agua del medio de cultivo se devuelve casi en su totalidad (se recicla el 90% del agua) al reactor y el resto se descarga directamente al sistema de aguas residuales. De esta manera se reducen considerablemente los impactos en el uso del agua (Branco-Vieira, Costa, et al., 2020a). La pérdida de agua durante el proceso de cosecha se puede calcular mediante la siguiente ecuación (Yang et al., 2011a):

$$F_{Cos} = \left[\frac{A1}{0,1\%} - \frac{A1}{SCH(\%)} \right] \cdot (1 - RR) \quad (2)$$

Donde A1 representa la masa de microalgas recolectadas del PBR, SCH representa el contenido de sólidos después de la cosecha y RR representa la tasa de reciclaje de agua. Durante este proceso el contenido de sólidos después de la cosecha es igual a un 15%, la tasa de reciclaje es 0,9 y A1 es igual a 79,97 kg.

Posteriormente, la pasta de algas recogida en la cosecha es enviada a un sistema de secado. El término F_{Sec} corresponde a la cantidad de agua que es perdida durante este proceso y su valor se obtiene a partir de la siguiente ecuación (Yang et al., 2011a):

$$F_{Sec} = \left[\frac{A1}{SCH(\%)} - \frac{A1 \cdot SSR(\%)}{SCD(\%)} \right] \quad (3)$$

Donde, A1 representa la masa de microalgas recolectadas, SCH (%) representa el contenido de sólidos después de la cosecha, SSR (%) representa la tasa de recuperación después de la cosecha y su rango se puede obtener de la Tabla 10 y, SCD (%) representa el contenido de sólidos después del secado. Considerando que $A1 = 79,97 \text{ kg}$, $SCH = 15\%$, $SCD = 80\%$ y, teniendo en cuenta que el proceso de cosecha se realiza mediante floculación, de la Tabla 10 se tiene que $SRR = 95\%$.

Tabla 6: Tasa de recuperación de los métodos más comunes de cosecha (Martins et al., 2018).

Método	Tasa de recuperación después de la cosecha (SRR%)
Floculación	95-98
Filtración	80

Luego, para obtener el agua consumida en la etapa de extracción (F_{Extr}), etapa de refinación (F_{Ref}) y etapa de transesterificación, se realiza un balance de materia en cada etapa con los datos entregados en el inventario.

Posteriormente, para determinar el agua consumida por usos indirectos se debe considerar la siguiente información:

- a) Proceso de la base de datos asociado al insumo utilizado
- b) Agua consumida del proceso seleccionado

A partir de esto el agua consumida por usos indirectos se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$F_{wi} = F * Q_i \tag{4}$$

Donde, F corresponde a la cantidad de suministro empleada por la empresa y Q_i la cantidad de agua consumida según la base de datos. Finalmente, el consumo total de agua se obtiene al sumar el consumo directo e indirecto de agua.

4.3. Evaluación de impactos

En este tercer paso se describen los impactos evaluados en el análisis de huella hídrica, donde los datos del inventario son convertidos en categorías de impacto ambiental y para la salud humana. La evaluación de impactos se realiza a partir del inventario de entradas y salidas del sistema y se determina el potencial efecto que produce en el ambiente y en los seres humanos. Para realizar esta evaluación se utilizan dos tipos de indicadores de impacto, denominados de punto medio y de punto final. Los de punto medio evalúan la disponibilidad y degradación del agua a partir de indicadores como la escasez hídrica, la toxicidad humana, la ecotoxicidad, la eutrofización y/o la acidificación del agua. Por otro lado, los de punto final evalúan los impactos potenciales en la salud humana y en la calidad de los ecosistemas a partir de los resultados obtenidos de los indicadores de punto medio (International Organization for Standardization, 2016). En la Tabla 6 se muestran las categorías de impacto utilizadas según el tipo de indicador ocupado.

Tabla 7: Categorías de impacto utilizadas en el cálculo de la huella hídrica según el marco de referencia del ACV (Montenegro, 2021)

	Disponibilidad del agua	Degradación del agua
	Punto medio	
Ecosistemas	Escasez de agua Disponibilidad de agua	Toxicidad humana Ecotoxicidad Eutrofización Acidificación Potencial de calentamiento global
	Punto final	

Salud humana	Malnutrición y/o enfermedades relacionadas con el agua	Toxicidad humana
Ecosistemas	Ecosistemas terrestres Ecosistemas acuáticos	Ecotoxicidad Eutrofización Acidificación

Para una evaluación de la huella hídrica de un producto en Latinoamérica, se recomienda utilizar las categorías de impacto y métodos de evaluación de punto medio que se presentan en la siguiente tabla.

Tabla 8: Categorías de impacto y métodos de evaluación de punto medio recomendados para Latinoamérica
(Martínez et al., 2016).

Área de protección	Categoría de impacto	Método de evaluación
Calidad de los ecosistemas	Escasez de agua	Agua disponible remanente-Método AWARE
	Agotamiento de agua	Método basado en la publicación de Berger et al. 2014
	Ecotoxicidad en agua	Método ReCiPe
	Eutrofización en agua	Método ReCiPe
	Potencial de calentamiento global	Método ReCiPe

Por otro lado, las categorías de impacto de punto final y los métodos de evaluación recomendados para Latinoamérica se presentan en la Tabla 8.

Tabla 9: Categorías de daño y métodos de evaluación de punto final más utilizados en Latinoamérica
(Fundación Chile & ONG Agualimpia., 2017; Montenegro, 2021).

Área de protección	Categoría de impacto	Método de evaluación
Salud humana	Toxicidad humana	Método ReCiPe
Calidad de los ecosistemas	Escasez en los ecosistemas terrestres	Índice de estrés hídrico. Método basado en la publicación de Hoekstra et al., 2012

Estos indicadores se calculan con el volumen de agua consumida o la masa contaminante emitida por unidad funcional del estudio, multiplicada por el factor de caracterización propuestos según el indicador evaluado (International Organization for Standardization, 2016). Para el caso de los usos indirectos de agua, estos indicadores se calculan a partir de los datos suministrados por la base de datos utilizada, las cuales se multiplican por los flujos de referencia. Las categorías de impactos mencionadas anteriormente serán analizadas mediante el software SimaPro v.9.4.0 y la base de datos Ecoinvent versión 3.8.

A continuación, se describe cada categoría de impacto que será utilizada para la evaluación del proceso estudiado.

a) Escasez de agua

Mediante el método de Agua Disponible Remanente (Available Water Remaining o AWARE), se determina la cantidad de agua disponible relativa restante por área en una zona, después de que se haya satisfecho la demanda de los seres humanos y de los ecosistemas. El resultado obtenido se compara con el promedio mundial y, a partir de eso, se define un factor de caracterización para la zona analizada (Montenegro, 2021).

El factor está limitado a un rango entre 0,1 y 100. El valor 1 corresponde al promedio mundial y, por ejemplo, el valor 10 representa que una región posee 10 veces menos agua disponible por área que el promedio mundial. Por otra parte, el valor 100 busca representar que la demanda es mayor que la disponibilidad en la zona de estudio (SimaPro, 2022).

b) Agotamiento de agua

El Índice de Agotamiento de Agua (Water Depletion Index o WDI) es un indicador propuesto por Markus Berger y denota el riesgo de que el consumo de agua pueda conducir al agotamiento de los recursos de agua dulce. La escasez de agua se determina relacionando el consumo anual de agua con la disponibilidad en más de 11.000 cuencas. Además, WDI da cuenta de la presencia de lagos y acuíferos que hasta ahora se han descuidado en las evaluaciones de escasez de agua (Berger et al., 2014).

Un WDI con valores menores a 0,1 corresponde a un rango de baja escasez de agua; por su parte, un WDI de 0,1 a 0,9 indica una escasez media de agua y un WDI de 0,9 a 1 representa un rango de escasez alta de agua en la zona estudiada (Berger et al., 2018).

c) Ecotoxicidad de agua

Los impactos tóxicos que afectan al agua, que son nocivos para distintas especies y que cambian la estructura y función del ecosistema. Es el resultado de una serie de diferentes mecanismos toxicológicos provocados por la liberación de sustancias con un efecto directo sobre la salud del ecosistema (Iberdrola, 2021). De esta manera se estima la disminución de biodiversidad acuática por emisiones tóxicas al agua, midiéndose en kg 1,4-DCB equivalentes (1,4 Diclorobenceno).

d) Eutrofización en agua dulce

La eutrofización se define como el deterioro de la calidad del agua debido al enriquecimiento de nutrientes, principalmente nitrógeno y fósforo, condicionando la utilización de estos y ejerciendo grandes impactos ecológicos y sanitarios. Los nutrientes procedentes de vertidos de agua aceleran el crecimiento de las algas y demás vegetación en el agua. La degradación de la materia orgánica consume el oxígeno, lo que provoca una deficiencia de esta sustancia y, en algunos casos, la disminución de la vida marina (Goretti et al., 2018). La unidad de medida utilizada para este indicador corresponde a kg P equivalentes.

e) Toxicidad humana

Mide el potencial impacto en salud humana por enfermedades cancerígenas y no cancerígenas causadas por la emisión de sustancias tóxicas a cuerpos de agua dulce. El impacto se debe a la ingestión de sustancias tóxicas (Fundación Chile & ONG Agualimpia., 2017). La evaluación de este indicador se basa en las concentraciones tolerables de las sustancias tóxicas en el agua, la ingesta diaria tolerable y la ingesta diaria aceptable para la toxicidad humana. Esta categoría de impacto se mide en kg 1,4-DCB equivalentes (1.4 Diclorobenceno).

f) Escasez en los ecosistemas terrestres

El Índice de Estrés Hídrico (Water Stress Index o WSI) es un indicador propuesto por Arjen Hoekstra que indica la relación entre consumo y disponibilidad de agua, en una cuenca específica. Matemáticamente corresponde a la fracción entre el agua consumida y el agua disponible, calibrado con datos hidrológicos globales para obtener valores continuos entre 0 a 1. Este último considera toda el agua de escorrentía, de la cual se resta el 80% para cubrir las necesidades hídricas ambientales (Kounina et al., 2013). Por otro lado, si el índice de estrés hídrico entrega un valor positivo quiere decir que se consume toda el agua que se extrae o ésta se devuelve en malas condiciones. En cambio,

si el valor es negativo significa que la calidad del agua extraída es mala y se devuelve en mejores condiciones a la cuenca (Martinez et al., 2016).

Un WSI con valores menores a 0,09 indica un estrés hídrico bajo; un WSI de 0,09 a 0,5 indica un estrés hídrico medio; un WSI de 0,5 a 0,91 indica un estrés hídrico alto y un WSI de 0,91 a 1 representa un estrés hídrico muy alto (Boulay et al., 2011).

g) Potencial de calentamiento global

El Potencial de Calentamiento Global (GWP), es un indicador que mide los efectos relativos de calentamiento global que diferentes gases ejercen sobre la Tierra. El dióxido de carbono fue elegido por el Panel Intergubernamental sobre Cambio Climático (IPCC) como punto de referencia, pues se considera que su GWP es 1. Entre más alto sea su GWP, mayor será el grado de calentamiento que un gas produce sobre la Tierra, en comparación con el dióxido de carbono (UNFCCC, 2004).

4.4. Interpretación de los resultados

El objetivo de este último paso consiste en analizar los resultados obtenidos de la etapa anterior con el fin de identificar las etapas del ciclo de vida o los procesos que más contribuyen a la huella hídrica, identificando los flujos que mayor huella generan. También, permite identificar si la huella es mayormente directa o indirecta y cuáles son los principales potenciales impactos asociados. Esto ayudará a detectar los riesgos asociados a la cantidad de agua consumida durante el proceso y desarrollar estrategias para mitigarlos y así mejorar el desempeño ambiental del proceso estudiado.

También, se debe realizar un análisis de sensibilidad de los resultados obtenidos, evaluando los flujos que presentaron mayor incertidumbre y, se analiza la solidez de las conclusiones. Para evaluar la sensibilidad a los parámetros seleccionados en este proceso, se realizará un análisis de perturbaciones. Este tipo de análisis considera una variación de $\pm 10\%$ en cada uno de los parámetros seleccionados (Morris, 2003). Se utilizará la Razón de Sensibilidad (SR), cuya expresión se indica en la ecuación 3 y es útil para calcular la tasa entre dos cambios relativos. La idea básica consiste en que las pequeñas perturbaciones de los parámetros de entrada se propagan como desviaciones más pequeñas o grandes de la salida resultante, y que puede ser útil saber qué parámetros conducen a grandes desviaciones y cuáles a pequeñas desviaciones (Heijungs & Kleijn, 2001).

Para que la evaluación sea más representativa, solo aquellos análisis con un SR $\frac{1}{4} \pm 1\%$ de cambio en los resultados totales se consideran que influyen significativamente en los resultados totales (Branco-Vieira, Costa, et al., 2020a).

$$SR = \frac{\Delta resultado / resultado\ inicial}{\Delta parametros / parametro\ inicial} \quad (5)$$

Donde, $\Delta resultado$ es la variación obtenida en el resultado, $\Delta parametros$ es la variación de $\pm 10\%$ sobre los parámetros seleccionados, $resultado\ inicial$ es el valor inicial del resultado y $parametro\ inicial$ corresponde al valor inicial del parámetro (Heijungs & Kleijn, 2001).

5. Resultados y discusión

En este capítulo se muestran los resultados obtenidos en esta investigación. Primero se definen los objetivos y alcances del estudio. Luego, se entregan los datos de inventario de flujos de agua y electricidad utilizados y, a partir de esto, se realiza el cálculo de la huella hídrica. A continuación, se informaron los impactos hacia la calidad de los ecosistemas y para la salud humana mediante el software SimaPro. Finalmente, entregó la interpretación de los resultados obtenidos junto al análisis de sensibilidad.

5.1. Evaluación del Ciclo de Vida (ECV) para el cultivo realizado en la ciudad de Concepción

Realizar una Evaluación de Ciclo de Vida del proceso de producción de biodiesel a partir de la microalga *Phaedactylum Tricornutum* requiere un modelo detallado de cada etapa de procesamiento de la materia prima. La clave para conseguir una producción sostenible de biodiesel radica en minimizar los insumos, en particular de agua y energía, tanto como sea posible mientras se mejora la productividad de la biomasa, la producción de energía y minimizando el impacto ambiental de cada etapa del proceso. A continuación, se describe cada Etapa del Ciclo de Vida para la producción de biodiesel.

5.1.1. Definición de objetivos y alcances del estudio

a) Objetivo y unidad funcional

Este trabajo tiene como objetivo evaluar la huella hídrica de la producción de biodiesel a partir de microalgas *Phaedactylum tricornutum* cultivadas en una planta industrial ubicada en la ciudad de Concepción durante el año 2016. La unidad funcional elegida para este estudio es 1 kg de biodiesel para permitir la comparabilidad con el proceso de producción de otros biocombustibles (Branco-Vieira, Costa, et al., 2020b).

b) Límite del sistema

El límite del sistema se presenta en la Figura 20, donde la Etapa 1 representa los procesos que ocurren aguas arriba y la Etapa 2 aquellos procesos que ocurren aguas abajo. Los límites del sistema de producción de biodiesel a base de microalgas se encuentran indicados por la línea discontinua, las flechas azules indican salidas de proceso, las flechas rojas indican las entradas de proceso y la línea

verde indica la salida del producto deseado. El enfoque de ECV utilizado fue de la cuna a la puerta, pero excluye los subproductos generados en el proceso como el glicerol y la biomasa residual.

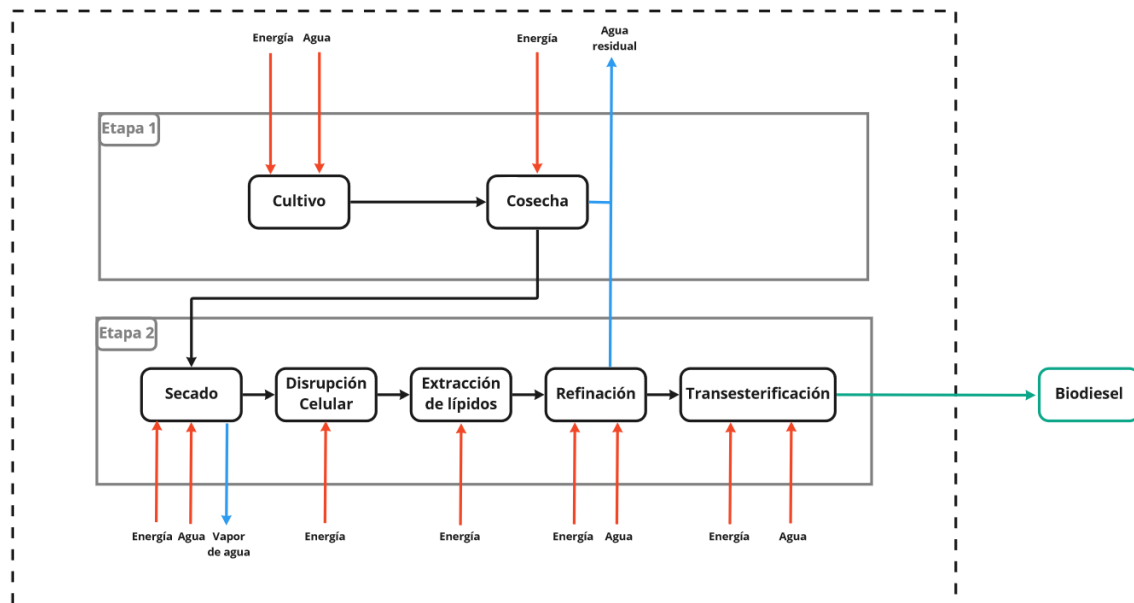


Figura 20: Límites del sistema de producción de biodiesel a base de microalgas. Adaptado de (Branco-Vieira, Costa, et al., 2020a)

El proceso de producción de biomasa de microalgas y biodiesel incluye los procesos de cultivo, recolección, secado, disrupción celular, extracción, refinación y transesterificación, descritos en la Sección 3.3.1.3.1.

5.1.2. Análisis del inventario

a) Levantamiento de información

Se cuantificaron todas las entradas y salidas relevantes del sistema para el análisis de la huella hídrica. Las fuentes de información utilizadas en el estudio se clasifican en datos primarios y datos secundarios. Como fuente primaria de información se utilizaron los datos experimentales propuestos por (Branco-Vieira, Costa, et al., 2020a). Estos datos corresponden a la planta piloto que consistía en un módulo de PBR, utilizando la cepa *Phaedactylum tricornutum* y, que posteriormente fueron ampliados industrialmente considerando 10.000 módulos de PBR, totalizando 8.000 m³ de medio de cultivo. El proceso ampliado tomó en cuenta todas las condiciones climáticas para el crecimiento de microalgas y los factores económicos del lugar durante un año de operación. Los datos primarios corresponden a los flujos de entrada de agua al proceso y a los flujos de salida como el agua residual

y vapor de agua y, los flujos de energía que representan el uso indirecto de agua y que en este estudio corresponden a la electricidad utilizada.

Los datos primarios de inventario para el proceso de producción de biodiesel se presentan en la Tabla 10.

Tabla 10: Datos de inventario de flujos de agua y electricidad por unidad funcional de 1 kg de biodiesel, considerando un año de operación Adaptado de (Branco-Vieira, Costa, et al., 2020a).

	Flujo entrada	Valor	Unidad/ kg	Flujo salida	Valor	Unidad/ kg
Etapa 1						
Cultivo	Agua de mar	13,07	m ³	Reutilización de agua	-11,77	m ³
	Agua dulce	3,715	m ³	-	-	-
	Electricidad	1,07	kWh	-	-	-
Cosecha	-	-	-	Agua residual	1,31	m ³
	Electricidad	20,25	kWh	-	-	-
Etapa 2						
Secado	Agua dulce	67,97	m ³	Vapor de agua	64,97	m ³
	Electricidad	40,79	kWh	-	-	-
Disrupción celular	Electricidad	22,43	kWh	-	-	-
Extracción	Electricidad	7,5	kWh	-	-	-
Refinación	Agua de lavado	4,10 10 ⁻²	m ³	Agua residual	0,05	m ³
	Electricidad	3,17 10 ⁻²	kWh	-	-	-
Transesterificación	Agua de lavado	0,25	m ³	-	-	-
	Electricidad	0,06	kWh	-	-	-

Por otro lado, para la obtención de los datos secundarios se utilizó como referencia la base de datos Quantis para determinar la cantidad de agua consumida para la producción de energía eléctrica (W_e) en Chile, el cual se supone que es el 1 % de la tasa de evaporación utilizada para las centrales eléctricas

de embalse (Vionnet, 2012). Así, el agua consumida en la producción de energía eléctrica es $0,0312 \text{ m}^3/\text{kWh}$.

5.1.2.1. Cálculo de la huella hídrica

Siguiendo los pasos descritos en la Sección 4.2.1. se obtuvieron los siguientes resultados para el consumo directo de agua:

Tabla 11: Consumo de agua directo para las etapas del proceso de producción de biodiesel a partir de microalgas.

	Total	Cultivo	Cosecha	Secado	Refinación	Extracción de lípidos	Transesterificación
Consumo de agua (m^3)	5,32	5,02	-0,22	0,28	-0,01	0	0,25

De esta manera, el uso total de agua durante todo el proceso se puede calcular mediante la Ecuación 1. Así,

$$F_{wd} = 5,32 \frac{\text{m}^3}{\text{kg biodiesel} \cdot \text{año}}$$

Considerando que para producir 1 kg de biodiesel es necesario disponer de unos 12 kg de biomasa algal seca, se tiene que la huella hídrica directa (HH_d) es:

$$HH_d = 0,44 \frac{\text{m}^3}{\text{kg biomasa seca} \cdot \text{año}}$$

Por otro lado, mediante la Ecuación 4 se obtiene que el consumo indirecto de agua es igual a:

$$F_{wi} = 2,84 \frac{\text{m}^3}{\text{kg biodiesel} \cdot \text{año}}$$

Considerando que para producir 1 kg de biodiesel es necesario disponer de unos 12 kg de biomasa algal seca, se tiene que la huella hídrica indirecta (HH_i) es:

$$HH_i = 0,24 \frac{\text{m}^3}{\text{kg biomasa seca} \cdot \text{año}}$$

Finalmente, la huella hídrica total de la producción de biocombustibles a partir de microalgas *Phaedactylum tricorutum* es:

$$HH_t = 0,44 + 0,24 = 0,68 \frac{m^3}{kg \text{ biomasa seca} \cdot \text{año}}$$

5.1.3. Evaluación de impactos

Para determinar los impactos hacia la calidad de los ecosistemas y para la salud humana asociados a los usos consuntivos y degradativos del agua en la producción de biodiesel en la planta piloto ubicada en Concepción, se utilizó el software SimaPro v.9.4.0. Los resultados obtenidos de las categorías de impacto mencionadas en la sección 4.3 se muestran a continuación.

5.1.3.1. Método de evaluación ReCiPe 2016 (H)

Se aplicó el método ReCiPe 2016 (H) de punto medio, dado que el uso del agua es un factor crítico para la producción de biodiesel a partir de la especie de microalgas seleccionada. Se elige la perspectiva jerárquica, ya que se basa en el consenso científico con respecto al marco temporal y la plausibilidad de los mecanismos de impacto.

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 12 para los procesos aguas arriba y en la Tabla 13 para los procesos aguas abajo.

Tabla 12: Resultados obtenidos mediante el método ReCiPe 2016 (H) para los procesos aguas arriba.

Categoría de impacto	Unidad	Cultivo	Cosecha	Total de los procesos aguas arriba
Eutrofización de agua dulce	kg P eq	$7,51 \cdot 10^{-6}$	$5,53 \cdot 10^{-6}$	$1,30 \cdot 10^{-5}$
Ecotoxicidad en agua dulce	kg 1,4-DCB eq	$1,23 \cdot 10^{-3}$	$2,49 \cdot 10^{-4}$	$1,48 \cdot 10^{-3}$
Toxicidad cancerígena humana	kg 1,4-DBC eq	$1,90 \cdot 10^{-3}$	$3,76 \cdot 10^{-4}$	$2,27 \cdot 10^{-3}$
Toxicidad humana no cancerígena	kg 1,4-DBC eq	1,54	$2,34 \cdot 10^{-1}$	1,78

Potencial de calentamiento global	kg CO ₂ eq	3,99 10 ⁻²	3,62 10 ⁻²	7,62 10 ⁻²
--	-----------------------	-----------------------	-----------------------	-----------------------

Tabla 13: Resultados obtenidos mediante el método ReCiPe 2016 (H) para los procesos aguas abajo.

Categoría de impacto	Unidad	Secado	Disrupción celular	Extracción de lípidos	Refinación y transesterificación	Total de los procesos aguas abajo
Eutrofización de agua dulce	kg P eq	1,03 10 ⁻⁵	5,59 10 ⁻⁶	4,02 10 ⁻⁶	3,81 10 ⁻⁷	2,03 10 ⁻⁵
Ecotoxicidad en agua dulce	kg 1,4-DCB eq	4,08 10 ⁻⁴	2,22 10 ⁻⁴	2,47 10 ⁻⁴	2,78 10 ⁻⁵	9,05 10 ⁻⁴
Toxicidad cancerígena humana	kg 1,4-DBC eq	6,48 10 ⁻⁴	3,43 10 ⁻⁴	2,67 10 ⁻⁴	8,59 10 ⁻⁵	1,34 10 ⁻³
Toxicidad humana no cancerígena	kg 1,4-DBC eq	3,60 10 ⁻¹	2,20 10 ⁻¹	2,40 10 ⁻¹	1,33 10 ⁻²	8,33 10 ⁻¹
Potencial de calentamiento global	kg CO ₂ eq	9,70 10 ⁻³	9,70 10 ⁻³	8,70 10 ⁻³	7,11 10 ⁻⁴	3,70 10 ⁻²

5.1.3.2. Método de evaluación AWARE, Agotamiento de agua e Índice de estrés hídrico

En la siguiente tabla se resumen los resultados obtenidos por las categorías de impacto Water use, WDI y WSI mediante el software SimaPro v.9.4.0.

Tabla 14: Resultados obtenidos en las categorías de impacto Water use, WDI y WSI

Método de evaluación	Categoría de impacto	Unidad	Total
AWARE	Water use	m ³	5.02
Publicación de Berger	WDI	m ³	0.02
Publicación de Hoekstra	WSI	m ³	0.16

5.1.4. Interpretación de resultados

5.1.4.1. Modelo de evaluación ReCiPe 2016 (H)

En primer lugar, el análisis de la contribución de las categorías de impacto evaluadas a partir de este método se aplicó a los procesos aguas arriba y procesos aguas abajo. En la Figura 21 se representa el porcentaje de contribución de las 5 categorías de impacto evaluadas por el método ReCiPe 2016 (H), donde la mayor contribución proviene principalmente de los procesos aguas arriba, excepto para la categoría eutrofización de agua dulce donde el principal contribuyente corresponde a los procesos aguas abajo (61%). Esto se explica principalmente por el consumo de energía eléctrica, el cual proviene mayoritariamente de la etapa de secado y disrupción celular (Figura 22) y, a la emisión de fósforo por parte del sistema eléctrico chileno (Branco-Vieira, Costa, et al., 2020a).

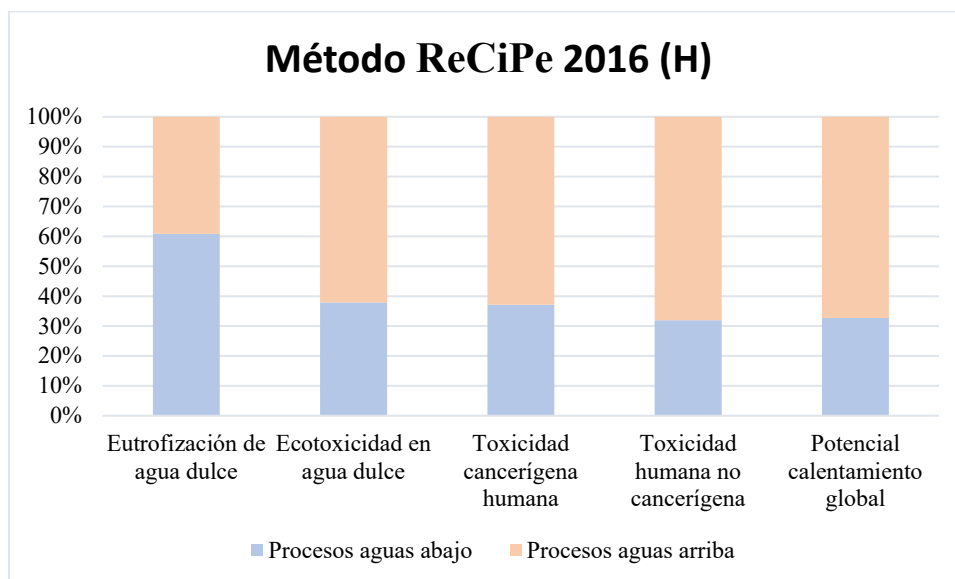
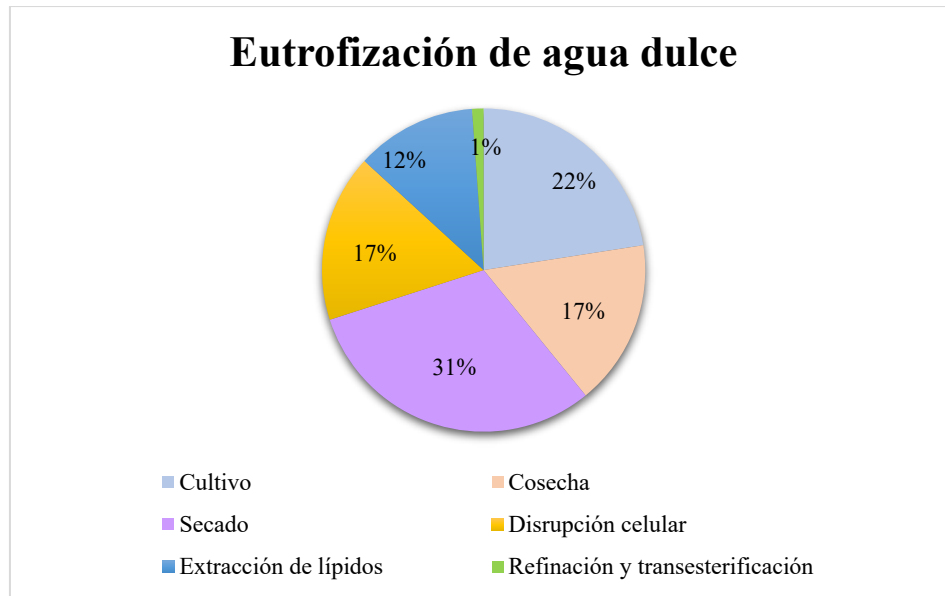


Figura 21: Análisis de la contribución de las categorías de impacto del método ReCiPe 2016 (H) sobre los procesos aguas arriba y aguas abajo.



Figura

22: Contribución de las principales etapas del proceso de producción de biodiesel en la eutrofización de agua dulce.

Sin embargo, la etapa de cultivo y cosecha también son grandes contribuyentes en esta categoría de impacto debido al consumo de energía y a la pérdida de nitrógeno y fósforo en el agua residual, tal como se indica en la Tabla 16 del Anexo I.

Por otro lado, la etapa de cultivo es el principal contribuyente en las categorías de impacto de toxicidad cancerígena humana (Figura 23), toxicidad humana no cancerígena (Figura 24) y ecotoxicidad en agua dulce (Figura 25). Esto se debe principalmente a la emisión de Zinc y Cromo VI, que son sustancias altamente tóxicas para la salud humana y el medio acuático. La misma situación ocurre durante la etapa de secado, la cual es la segunda etapa más contribuyente de estas categorías de impacto, ya que las sustancias tóxicas son emitidas al aire.

No obstante, el valor de las categorías de impacto evaluadas mediante el método ReCiPe 2016 (H) puede ser minimizado mediante la implementación de un sistema de tratamiento de aguas residuales, lo que ayudará a que la planta piloto tenga un mejor desempeño ambiental.

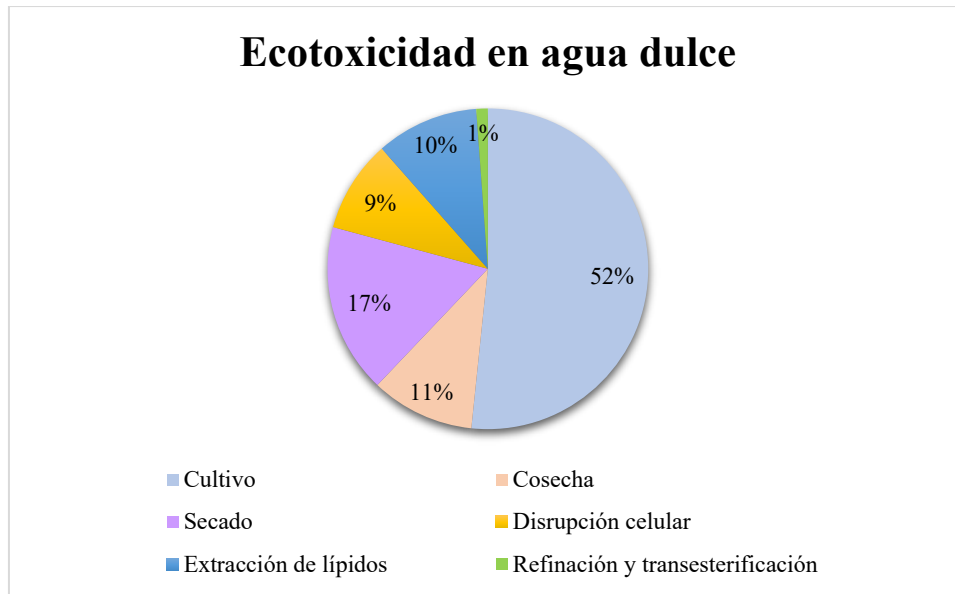


Figura 23: Contribución de las principales etapas del proceso de producción de biodiesel en la ecotoxicidad en agua dulce.

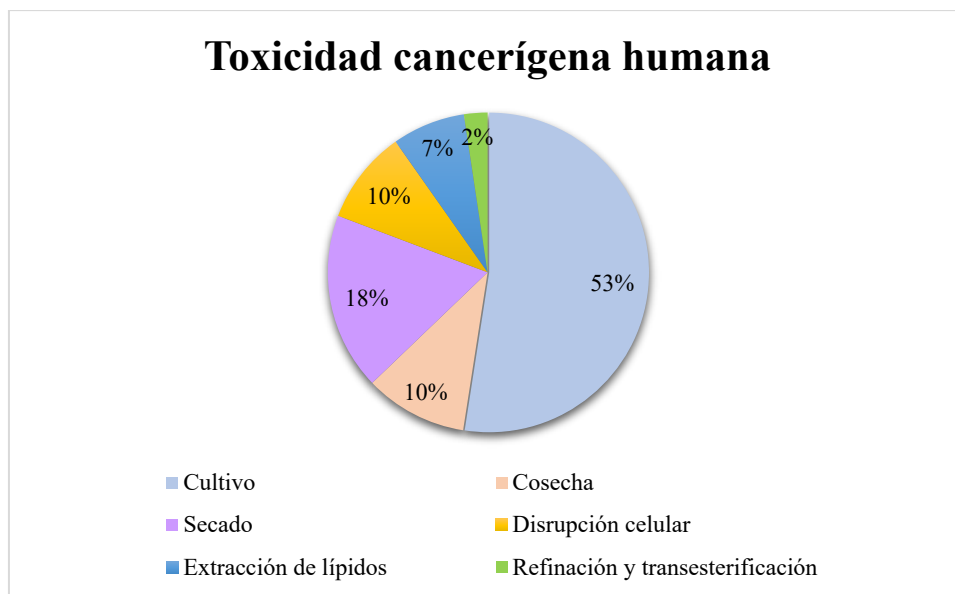


Figura 24: Contribución de las principales etapas del proceso de producción de biodiesel en la toxicidad cancerígena humana.

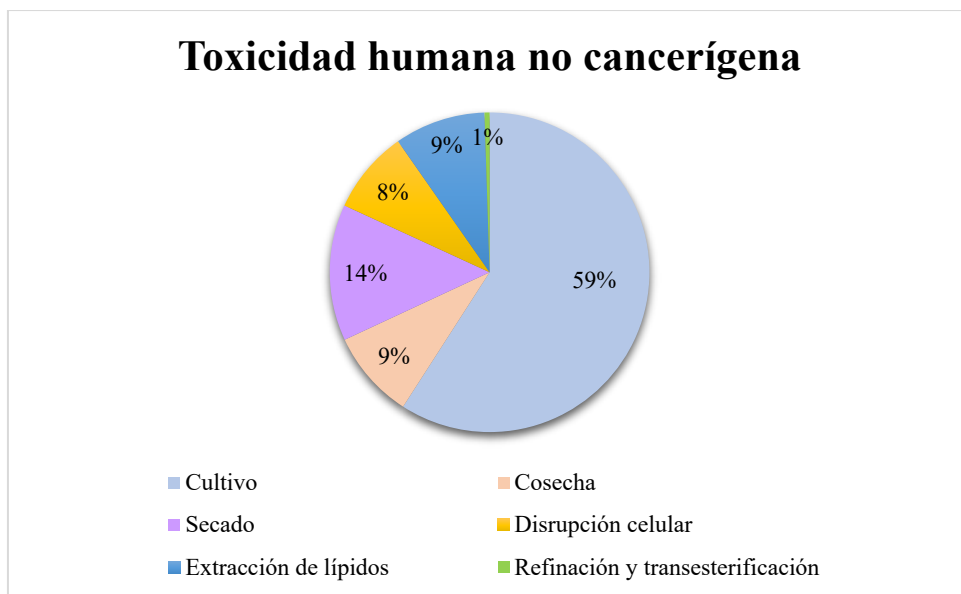


Figura 25: Contribución de las principales etapas del proceso de producción de biodiesel en la toxicidad humana no cancerígena.

Finalmente, el principal contribuyente para el indicador Potencial de Calentamiento Global corresponde a la fase de cultivo (Figura 26), ya que en esta etapa el alto índice de emisiones de carbono se debe al transporte de agua de mar en camión, desde el océano hasta la planta industrial. Además, se destaca que debido al consumo de CO₂ para el crecimiento de las microalgas existe una reducción de emisiones igual a 0,385 kg CO₂ eq. Por otro lado, en cuanto a los procesos de aguas abajo se tiene que el principal contribuyente corresponde a la etapa de secado (16%), ya que es el proceso más intensivo de energía. Durante esta etapa se ha contabilizado que alrededor del 98% de las emisiones de carbono provienen del consumo eléctrico (0,017 kg CO₂ eq) (Branco-Vieira, Costa, et al., 2020a).

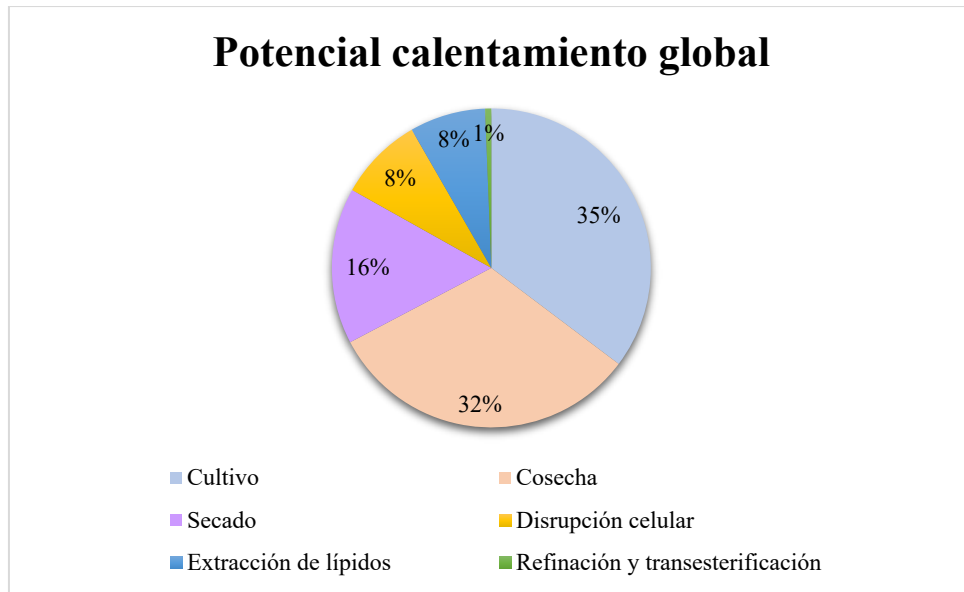


Figura 26: Contribución de las principales etapas del proceso de producción de biodiesel en el Potencial de Calentamiento Global.

5.1.4.2. Modelo de evaluación AWARE, Agotamiento de agua e Índice de estrés hídrico.

En primer lugar, se aplicó el método de evaluación de punto final propuesto por Hoekstra, donde se obtuvo la relación entre el agua consumida durante este proceso y el agua disponible. El valor obtenido fue de 0.158 m^3 el cual indica un estrés hídrico medio para el proceso descrito, aun así, se encuentra dentro de los umbrales de estrés hídrico aceptados (Boulay et al., 2011).

Luego, se aplicaron los métodos de evaluación de punto medio de agotamiento de agua propuesto por Berger y el método de evaluación AWARE. El software SimaPro entregó un valor $WDI = 0,0018 \text{ m}^3$, el cual indica que el riesgo de que el consumo de agua pueda conducir al agotamiento de los recursos de agua dulce es bajo (Berger et al., 2018). Esto se debe principalmente a que la planta piloto está ubicada en una zona estratégica donde la principal fuente de agua proviene del mar y al sistema de recirculación de agua implementado en la etapa de cosecha. De esta manera se reduce el consumo de agua dulce durante la producción de biodiesel a partir de microalgas.

Finalmente, del método de evaluación AWARE se obtuvo un valor igual a $5,017 \text{ m}^3$ el cual indica que la región posee alrededor de 5 veces menos disponible por área que el promedio mundial y no representa una mayor demanda de agua de la que está disponible en la zona (SimaPro, 2022).

5.1.4.3. Consumo de agua

El consumo total de agua por kg de biodiesel producido en un año es de 8,16 m³. El siguiente gráfico muestra el consumo porcentual por uso (directo e indirecto). El resultado muestra que el mayor consumo está relacionado con el uso directo de agua, el cual corresponde al agua directamente utilizada para la producción de biodiesel.

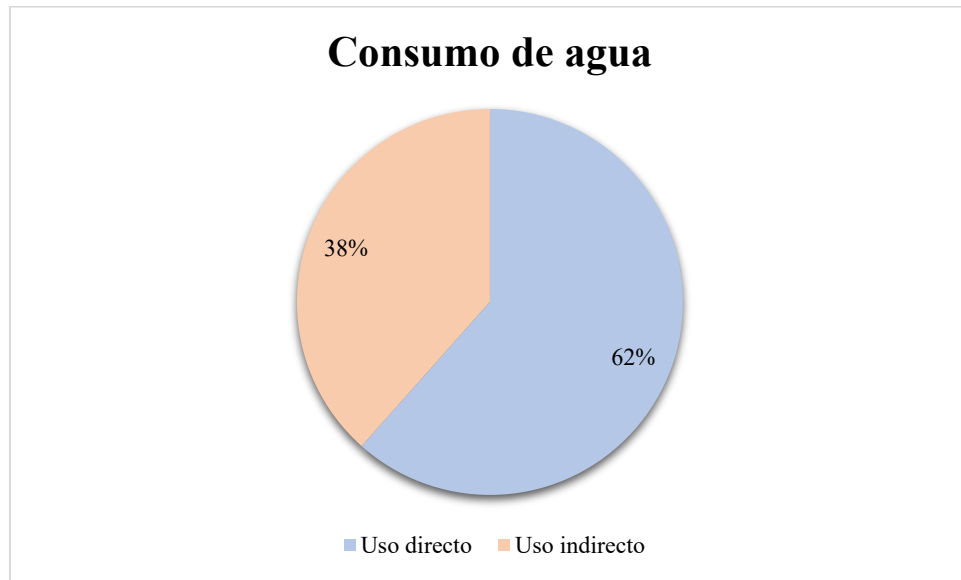


Figura 27: Consumo porcentual de agua por uso (directo e indirecto).

Alrededor del 90% de la categoría de impacto del consumo de agua directo está relacionada con el paso de cultivo, ya que el agua de mar es recolectada como medio de cultivo para las microalgas en el PBR. El uso efectivo de los recursos hídricos juega un papel importante en esta etapa, ya que las microalgas son microorganismos acuáticos que necesitan agua para su supervivencia y proliferación celular, por lo que se requiere una gran cantidad de agua para alcanzar la productividad óptima de la biomasa de microalgas (Murphy & Allen, 2011; Subhadra, 2011). Con el fin de reducir el costo total de operación y preservar el recurso hídrico, en este estudio se consideró un modelo de reutilización del 90% del agua durante la etapa de cosecha, lo que reduce considerablemente los impactos en el uso del agua, es decir, un resultado positivo en el desempeño ambiental de proceso. Este resultado es debido a que el medio de cultivo se devuelve casi en su totalidad al PBR (alrededor del 90%) y, por lo tanto, la cantidad de agua residual del proceso para su tratamiento es mínima. Además, debido a la composición que posee el agua residual, se puede enviar a una instalación típica de tratamiento de aguas residuales domésticas (Branco-Vieira, Costa, et al., 2020a). Las microalgas son muy útiles para proporcionar agua limpia, ya que las microalgas y las bacterias pueden desarrollar interacciones

mutuas en la eliminación de materiales orgánicos, exceso de nutrientes (principalmente nitrógeno y fósforo), contaminantes peligrosos, compuestos de metales pesados y patógenos (Wibisono et al., 2019). De esta manera las microalgas también se caracterizan por ser una forma alternativa y conveniente de minimizar el nivel de contaminación del agua (Lam & Lee, 2012). Por otro lado, la etapa de cosecha y la etapa de refinación tienen un efecto positivo sobre el impacto total del consumo de agua en la producción de biodiesel, el cual se ve representado por valores negativos en la Tabla 11.

El segundo paso del proceso de producción de biodiesel que más contribuye en el consumo de agua corresponde al proceso de secado. En esta etapa se tiene en cuenta el porcentaje de humedad de la biomasa de microalgas que se evaporará y, por lo tanto, no podrá ser reutilizada y, que alcanza un valor del 5% del impacto total. Además, la etapa de secado se caracteriza por ser el proceso con más contribución al uso indirecto de agua debido a la cantidad de energía utilizada. Tal como se indica en la Figura 28, la cantidad de electricidad utilizada durante la etapa de secado contribuye en aproximadamente un 44% al uso indirecto de agua, el cual se convierte en un aspecto crítico a considerar en la producción de biodiesel, ya que es el principal contribuyente en el impacto ambiental debido a su intensidad energética (Clarens et al., 2010). Sin embargo, para esta planta piloto el consumo de energía fue menor que en otros estudios, puesto que no se adoptó ningún sistema de calefacción durante el invierno. Esta es otra de las ventajas que tiene el cultivo de la microalga *Phaedactylum tricornutum* en la ciudad de Concepción, incluso con la reducción de biomasa durante esta estación del año (Branco-Vieira, Martin, Agurto, dos Santos, et al., 2018). Los estudios que consideran sistemas de regulación de temperatura para plantas pilotos que operan en verano, otoño e invierno han demostrado que el consumo de energía es la principal carga ambiental (Pérez-López et al., 2017).

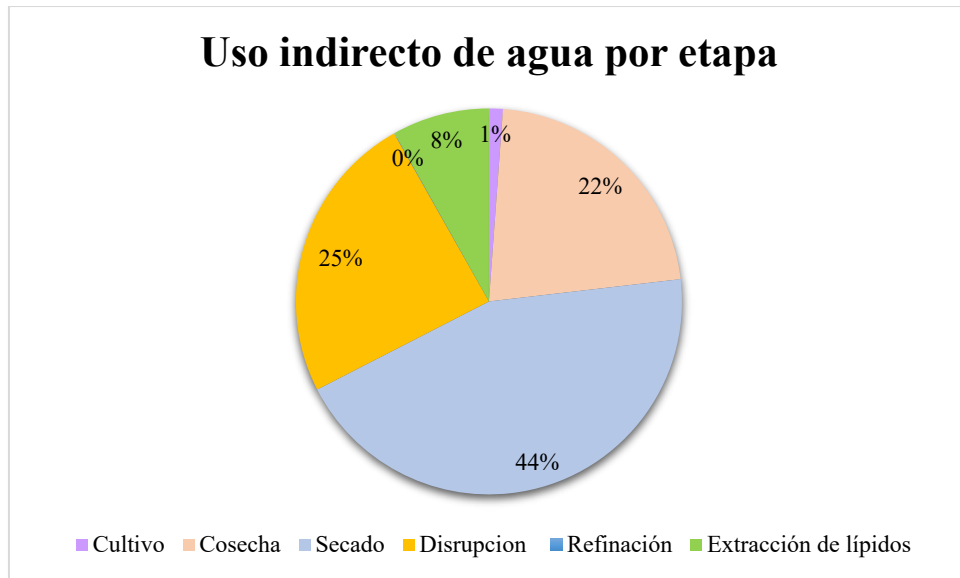


Figura 28: Uso indirecto de agua por etapa en el proceso de producción de biodiesel.

5.1.4.4. Análisis de sensibilidad

Para realizar el análisis de sensibilidad se consideraron los siguientes parámetros (Branco-Vieira, Costa, et al., 2020a):

- I. Uso de energía durante el proceso.
- II. Cantidad total de nitrógeno utilizado en el sistema de cultivo.
- III. Cantidad total de fósforo utilizado en el sistema de cultivo.
- IV. Tasa de recuperación de agua durante la etapa de cosecha.
- V. Cantidad de CO₂ utilizado en el proceso de extracción de lípidos.
- VI. Distancia de transporte de agua de mar desde el océano hasta la planta piloto.

Estos parámetros se escogieron teniendo en cuenta la importancia e impacto que tienen en el proceso. Tal como se mencionó anteriormente, la cantidad de energía utilizada es uno de los mayores contribuyentes en las categorías de impacto analizadas. Por otro lado, el nitrógeno y el fósforo son sustancias que influyen directamente en el crecimiento de las microalgas y, por lo tanto, en la cantidad de biomasa producida. También, se busca analizar las nuevas prácticas implementadas, como es la recirculación de agua y el uso de CO₂ en la extracción de lípidos y, evaluar el aspecto de ubicación de la planta piloto, ya que el transporte del agua podría implicar un mayor consumo de combustibles fósiles minerales.

Haciendo uso de la ecuación 3 y aplicando una variación de $\pm 10\%$ de los 6 parámetros mencionados anteriormente, se obtuvieron los resultados indicados en la siguiente tabla.

Tabla 15: Resultados del análisis de sensibilidad para una variación de $\pm 10\%$ de los parámetros seleccionados
Adaptado de (Branco-Vieira, Costa, et al., 2020a).

Categoría de impacto	Consumo de energía (%)	Cantidad de nitrógeno (%)	Cantidad de fósforo (%)	Uso de CO₂ (%)	Recirculación de agua (%)	Distancia de transporte (%)
Eutrofización de agua dulce	$\pm 5,33$	$\pm 0,19$	$\pm 0,10$	$\pm 0,44$	$\pm 0,01$	$\pm 1,17$
Ecotoxicidad en agua dulce	$\pm 4,01$	$\pm 0,32$	$\pm 0,14$	$\pm 0,65$	$\pm 0,01$	$\pm 4,24$
Toxicidad cancerígena humana	$\pm 3,98$	$\pm 0,21$	$\pm 0,52$	$\pm 0,41$	$\pm 0,04$	$\pm 3,98$
Toxicidad humana no cancerígena	$\pm 3,33$	$\pm 0,34$	$\pm 0,11$	$\pm 0,63$	$\pm 0,04$	$\pm 5,00$
Potencial de calentamiento global	$\pm 2,65$	$\pm 0,29$	$\pm 0,04$	$\pm 0,35$	$\pm 16,04$	$\pm 3,25$
Consumo de agua	$\pm 0,00$	$\pm 0,00$	$\pm 0,00$	$\pm 0,00$	$\pm 0,16$	$\pm 0,00$
WSI	$\pm 0,00$	$\pm 0,00$	$\pm 0,00$	$\pm 0,00$	$\pm 0,001$	$\pm 0,00$
WDI	$\pm 0,00$	$\pm 0,00$	$\pm 0,00$	$\pm 0,00$	$\pm 0,002$	$\pm 0,00$
AWARE	$\pm 0,00$	$\pm 0,00$	$\pm 0,00$	$\pm 0,00$	$\pm 0,02$	v

A partir de los resultados obtenidos en el análisis de sensibilidad, se observa que el consumo de energía y la distancia de transporte son los parámetros que más afectan en el desempeño ambiental del proceso de producción de biodiesel a partir de la microalga *Phaedactylum tricornutum*, afectando en mayor proporción en todas las categorías evaluadas mediante el método ReCiPe 2016 (H).

Por otro lado, el parámetro de reutilización de agua durante el proceso de cosecha también está relacionado con la cantidad de aguas residuales generadas por el proceso, por lo que, mientras más grande sea la cantidad de agua reutilizada, menores serán los impactos generados. Sin embargo, debe considerarse la calidad del agua que será reingresada al sistema, ya que de ser peor podría ocasionar una inhibición en el crecimiento de las microalgas lo cual afectaría directamente en la producción de biodiesel. Además, se destaca que el parámetro de reutilización de agua es el único que influye en las categorías de impacto WSI, WDI y AWARE, sin embargo, de acuerdo con el análisis de perturbaciones aplicado no tiene una influencia significativamente alta (Branco-Vieira, Costa, et al., 2020a). También, cabe destacar que este parámetro tiene la mayor sensibilidad de todos los escenarios en su contribución al GWP, ya que un cambio del 10% en este parámetro genera un cambio del 16% en los resultados.

Finalmente, la cantidad de CO₂ aplicado durante el proceso de extracción de lípidos y la cantidad de nitrógeno y fósforo usada como fertilizantes tampoco tienen una influencia significativa en las categorías de impacto evaluadas, ya que el valor obtenido está por debajo del 1%.

6. Conclusiones

En esta investigación, mediante la metodología ECV descrita en la norma ISO 14046 se cuantificó la huella hídrica y los impactos ambientales que posee la producción de biodiesel en una planta ubicada en Concepción. El estudio consideró una instalación ampliada utilizando datos experimentales reales que provienen desde la etapa de cultivo de la microalga *Phaedactylum tricornutum* hasta la obtención de biodiesel, considerando un año de operación y un sistema de cultivo cerrado.

Para esta planta piloto se obtuvo una huella hídrica igual a 8,16 m³/kg de biodiesel producido. Se tiene que este valor proviene principalmente del consumo directo de agua, el cual está relacionado con la etapa de cultivo. Sin embargo, el valor obtenido fue menor gracias a la implementación de un modelo de recirculación de agua y al uso de agua de mar, lo cual fue factible por la ubicación geográfica que posee la planta. Este método también tiene un impacto positivo en las categorías de impacto WSI, WDI y AWARE, que arrojaron resultados que indican que el umbral de estrés hídrico es aceptable, el riesgo de que el consumo de agua pueda conducir al agotamiento de los recursos de agua dulce es bajo y, no existe una mayor demanda de agua de la que está disponible en la zona, respectivamente.

Por otro lado, mediante el método de evaluación ReCiPe, se concluyó que las etapas más contribuyentes en la eutrofización de agua dulce corresponden a la etapa de secado debido a la cantidad de energía eléctrica utilizada y, a las etapas de cultivo y cosecha por la emisión de fósforo y nitrógeno. También, se obtuvo que los valores obtenidos para las categorías de impacto de ecotoxicidad de agua dulce y toxicidad humana provienen principalmente de la etapa de cultivo debido a la emisión de sustancias tóxicas como Zinc y Cromo VI, y que para la categoría de potencial de calentamiento global la etapa de cosecha es el principal contribuyente debido a las emisiones durante el transporte de agua de mar. Luego, se aplicó un análisis de sensibilidad a los 6 parámetros más importantes donde se obtuvo que el consumo de energía y la distancia de transporte son los parámetros que más afectan en el desempeño ambiental del proceso, afectando en mayor proporción en todas las categorías evaluadas.

Finalmente, se concluye que la planta piloto ubicada en Concepción es un sitio potencial para la producción de biocombustibles a partir de microalgas, ya que la huella hídrica del proceso es menor al indicado por la literatura o el de otras plantas de biocombustibles y, los impactos ambientales que conlleva pueden reducirse mediante la implementación de un sistema de tratamiento de aguas residuales.

7. Referencias

- Ahmad, A. L., Yasin, N. H. M., Derek, C. J. C., & Lim, J. K. (2011). Microalgae as a sustainable energy source for biodiesel production: A review. In *Renewable and Sustainable Energy Reviews* (Vol. 15, Issue 1, pp. 584–593). <https://doi.org/10.1016/j.rser.2010.09.018>
- Balasundaram, B., Skill, S. C., & Llewellyn, C. A. (2012). A low energy process for the recovery of bioproducts from cyanobacteria using a ball mill. *Biochemical Engineering Journal*, *69*, 48–56. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2012.08.010>
- Batan, L., Quinn, J. C., & Bradley, T. H. (2013). Analysis of water footprint of a photobioreactor microalgae biofuel production system from blue, green and lifecycle perspectives. *Algal Research*, *2*(3), 196–203. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2013.02.003>
- Berger, M., Eisner, S., van der Ent, R., Flörke, M., Link, A., Poligkeit, J., Bach, V., & Finkbeiner, M. (2018). *Enhancing the Water Accounting and Vulnerability Evaluation Model: WAVE+*. *52*(18), 10757–10766. <https://doi.org/10.14279/depositonce-9249>
- Berger, M., van der Ent, R., Eisner, S., Bach, V., & Finkbeiner, M. (2014). Water accounting and vulnerability evaluation (WAVE): Considering atmospheric evaporation recycling and the risk of freshwater depletion in water footprinting. *Environmental Science and Technology*, *48*(8), 4521–4528. <https://doi.org/10.1021/es404994t>
- Boulay, A.-M., Bulle, C., Bayart, J.-B., Deschênes, L., & Margni, M. (2011). Regional Characterization of Freshwater Use in LCA: Modeling Direct Impacts on Human Health. *Environmental Science & Technology*, *45*(20), 8948–8957. <https://doi.org/10.1021/es1030883>
- Branco-Vieira, M., Costa, D. M. B., Mata, T. M., Martins, A. A., Freitas, M. A. V., & Caetano, N. S. (2020a). Environmental assessment of industrial production of microalgal biodiesel in central-south Chile. *Journal of Cleaner Production*, *(5)* 266, 121756. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.121756>
- Branco-Vieira, M., Costa, D., Mata, T. M., Martins, A. A., Freitas, M. A. V., & Caetano, N. S. (2020b). A life cycle inventory of microalgae-based biofuels production in an industrial plant concept. *Energy Reports*, *6*, 397–402. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2019.08.079>
- Branco-Vieira, M., Martin, S. S., Agurto, C., dos Santos, M. A., Freitas, M. A. V., Mata, T. M., Martins, A. A., & Caetano, N. S. (2018). Potential of *Phaeodactylum tricornutum* for biodiesel production under natural conditions in Chile. *Energies*, *11*(1). <https://doi.org/10.3390/en11010054>
- Branco-Vieira, M., Martin, S. S., Agurto, C., Freitas, M. A. V., Mata, T. M., Martins, A. A., & Caetano, N. (2018). Biochemical characterization of *Phaeodactylum tricornutum* for microalgae-based biorefinery. *Energy Procedia*, *153*, 466–470. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2018.10.079>
- Branco-Vieira, M., Martin, S. S., Agurto, C., Santos, M. A., Freitas, M. A. V., & Caetano, N. S. (2017). Analyzing *Phaeodactylum tricornutum* lipid profile for biodiesel production. *Energy Procedia*, *136*, 369–373. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2017.10.251>

- Branco-Vieira, M., San Martin, S., Agurto, C., Freitas, M. A. V., Martins, A. A., Mata, T. M., & Caetano, N. S. (2020). Biotechnological potential of *Phaeodactylum tricornutum* for biorefinery processes. *Fuel*, *268*(15), 117357. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.117357>
- Bravo-Fritz, C. P., Sáez-Navarrete, C. A., Herrera Zeppelin, L. A., & Ginocchio Cea, R. (2015a). Site selection for microalgae farming on an industrial scale in Chile. *Algal Research*, *11*, 343–349. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.07.012>
- Bravo-Fritz, C. P., Sáez-Navarrete, C. A., Herrera Zeppelin, L. A., & Ginocchio Cea, R. (2015b). Site selection for microalgae farming on an industrial scale in Chile. *Algal Research*, *11*, 343–349. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.07.012>
- Bravo-Fritz, C. P., Sáez-Navarrete, C. A., Herrera-Zeppelin, L. A., & Varas-Concha, F. (2016). Multi-scenario energy-economic evaluation for a biorefinery based on microalgae biomass with application of anaerobic digestion. *Algal Research*, *16*, 292–307. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.03.028>
- Campbell, P. K., Beer, T., & Batten, D. (2011). Life cycle assessment of biodiesel production from microalgae in ponds. *Bioresource Technology*, *102*(1), 50–56. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.048>
- Cardenas, P. (2010). *Biodiesel a partir de microalgas antarticas*. [Tesis de pregrado, Universidad de Magallanes]. <https://silo.tips/downloadFile/biodiesel-a-partir-de-microalgas-antarticas-estudio-parametros-de-crecimiento-de>
- Chauton, M. S., Olsen, Y., & Vadstein, O. (2013). Biomass production from the microalga *Phaeodactylum tricornutum*: Nutrient stress and chemical composition in exponential fed-batch cultures. *Biomass and Bioenergy*, *58*, 87–94. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2013.10.004>
- Chhandama, M. V. L., Satyan, K. B., Changmai, B., Vanlalveni, C., & Rokhum, S. L. (2021). Microalgae as a feedstock for the production of biodiesel: A review. In *Bioresource Technology Reports* (Vol. 15), 100771. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2021.100771>
- Chisti, Y. (2007). Biodiesel from microalgae. In *Biotechnology Advances* (Vol. 25, Issue 3, pp. 294–306). <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.02.001>
- Chokshi, K., Pancha, I., Maurya, R., Paliwal, C., Ghosh, T., Ghosh, A., & Mishra, S. (2016). Growth medium standardization and thermotolerance study of the freshwater microalga *Acutodesmus dimorphus*—a potential strain for biofuel production. *Journal of Applied Phycology*, *28*(5), 2687–2696. <https://doi.org/10.1007/s10811-016-0826-3>
- Civit, B. M., Arena, A. P., Piastrellini, R., Curadelli, S., Colomer, J. S., & Leal, R. (2011). *Comparación entre la huella hídrica de biodiesel obtenido a partir de aceite de colza y aceite de soja*. *15*, 127-134. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/101853>.
- Clarens, A. F., Resurreccion, E. P., White, M. A., & Colosi, L. M. (2010). Environmental Life Cycle Comparison of Algae to Other Bioenergy Feedstocks. *Environmental Science & Technology*, *44*(5), 1813–1819. <https://doi.org/10.1021/es902838n>

- Contreras, C., Peña, J., Flores, L., & Cañizares, R. (2003). *Avances en el diseño conceptual de fotobiorreactores para el cultivo de microalgas* 28(8), 458-456. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442003000800004&Ing=es&tlng=es.
- Cooney, M. J., Young, G., & Pate, R. (2011). Bio-oil from photosynthetic microalgae: Case study. *Bioresource Technology*, 102(1), 166–177. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.134>
- Enamala, M. K., Enamala, S., Chavali, M., Donepudi, J., Yadavalli, R., Kolapalli, B., Aradhyula, T. V., Velpuri, J., & Kuppam, C. (2018). Production of biofuels from microalgae - A review on cultivation, harvesting, lipid extraction, and numerous applications of microalgae. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 94, 49–68. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.05.012>
- Essman, M. (2011). *Determinación de parámetros biológicos de la microalga Isochrysis Aff. Galbana: Comparación de un fotobiorreactor continuo vs un cultivo batch*. [Tesis de pregrado, Universidad Austral de Chile]. Universidad Austral de Chile.
- Fuentes-Grünewald, C., Garcés, E., Alacid, E., Rossi, S., & Camp, J. (2010). *Uso de microalgas marinas para la producción de biodiesel en Chile*. <https://digital.csic.es/handle/10261/52848?locale=en>.
- Fundación Chile, & ONG Agualimpia. (2017). *Manual de aplicación de evaluación de huella hídrica acorde a la norma ISO 14046*.
- García, A. E., Carmona, R. J., Lienqueo, M. E., & Salazar, O. (2011). The current status of liquid biofuels in Chile. *Energy*, 36(4), 2077–2084. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2010.06.005>
- Gerbens-Leenes, P. W., de Vries, G. J., & Xu, L. (2013). *The water footprint of biofuels from microalgae*. *Bioenergy and Water*, 191-200. <https://research.utwente.nl/en/publications/the-water-footprint-of-biofuels-from-microalgae>.
- González, C., & Brindley, C. (2020). *Estudio del crecimiento de la microalga Chlorella vulgaris y su capacidad de depuración de agua residual*. [Tesis de grado, Universidad de Almería]. Universidad de Almería.
- Goretti, F., Miranda, G., & Rosales, V. M. (2018). *Eutrofización, una amenaza para el recurso hídrico*. Universidad Nacional Autónoma de México. <http://ru.iiec.unam.mx/4269/>.
- Guieysse, B., Béchet, Q., & Shilton, A. (2013). Variability and uncertainty in water demand and water footprint assessments of fresh algae cultivation based on case studies from five climatic regions. *Bioresource Technology*, 128, 317–323. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.096>
- Heijungs, R., & Kleijn, R. (2001). Numerical approaches towards life cycle interpretation five examples. *International Journal of Life Cycle Assessment*, 6(3), 141–148. <https://doi.org/10.1007/BF02978732>
- Hernández-Pérez, A., & Labbé, J. I. (2014). Microalgas, cultivo y beneficios. In *Revista de Biología Marina y Oceanografía* (Vol. 49, Issue 2, pp. 157–173). Universidad de Valparaíso. <https://doi.org/10.4067/S0718-19572014000200001>

- Hiloidhari, M., Baruah, D. C., Singh, A., Kataki, S., Medhi, K., Kumari, S., Ramachandra, T. V., Jenkins, B. M., & Thakur, I. S. (2017). Emerging role of Geographical Information System (GIS), Life Cycle Assessment (LCA) and spatial LCA (GIS-LCA) in sustainable bioenergy planning. *Bioresource Technology*, 242, 218–226. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.03.079>
- Hoekstra, A., Chapagain, A., Aldaya, M., & Mekonnen, M. (2011). *Manual de evaluación de la huella hídrica, Establecimiento del estándar mundial*. Aenor. https://waterfootprint.org/media/downloads/Water_Footprint_Assessment_Manual_Spanish.pdf
- Hoekstra, A. Y., Mekonnen, M. M., Chapagain, A. K., Mathews, R. E., & Richter, B. D. (2012). Global Monthly Water Scarcity: Blue Water Footprints versus Blue Water Availability. *PLoS ONE*, 7(2), e32688. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0032688>
- Iberdrola S.A.. (2021). *Informe Huella Ambiental Corporativa*. <https://www.iberdrola.com/sostenibilidad/medio-ambiente/gestion-medioambiental/huella-ambiental/informe-huella-ambiental-corporativa>.
- International Organization for Standardization. (2016). *Environmental management-Water footprint-Principles, requirements and guidelines (ISO 14046:2014)*. <https://www.iso.org/standard/43263.html>
- Karthikeyan, S., Periyasamy, M., & Prathima, A. (2020). Biodiesel from microalgae: Environmental aspects. *Materials Today: Proceedings*, 33, 3664–3667. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.05.779>
- Khan, S., Naushad, M., Iqbal, J., Bathula, C., & Sharma, G. (2022). Production and harvesting of microalgae and an efficient operational approach to biofuel production for a sustainable environment. *Fuel*, 311. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2021.122543>
- Kiran, B., Kumar, R., & Deshmukh, D. (2014). Perspectives of microalgal biofuels as a renewable source of energy. *Energy Conversion and Management*, 88, 1228–1244. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2014.06.022>
- Kounina, A., Margni, M., Bayart, J.-B., Boulay, A.-M., Berger, M., Bulle, C., Frischknecht, R., Koehler, A., Milà i Canals, L., Motoshita, M., Núñez, M., Peters, G., Pfister, S., Ridoutt, B., van Zelm, R., Verones, F., & Humbert, S. (2013). Review of methods addressing freshwater use in life cycle inventory and impact assessment. *The International Journal of Life Cycle Assessment*, 18(3), 707–721. <https://doi.org/10.1007/s11367-012-0519-3>
- Kumar, L., Anand, R., Shah, M. P., & Bharadvaja, N. (2022). Microalgae biodiesel: A sustainable source of energy, unit operations, technological challenges, and solutions. *Journal of Hazardous Materials Advances*, 8, 100145. <https://doi.org/10.1016/j.hazadv.2022.100145>
- Kumar, M. (2020). Social, Economic, and Environmental Impacts of Renewable Energy Resources. In *Wind Solar Hybrid Renewable Energy System*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.89494>

- Lam, M. K., & Lee, K. T. (2012). Potential of using organic fertilizer to cultivate *Chlorella vulgaris* for biodiesel production. *Applied Energy*, 94, 303–308. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2012.01.075>
- Laxman Pachapur, V., Jyoti Sarma, S., Kaur Brar, S., le Bihan, Y., Ricardo Soccol, C., Buelna, G., & Verma, M. (2015). Co-culture strategies for increased biohydrogen production. *International Journal of Energy Research*, 39(11), 1479–1504. <https://doi.org/10.1002/er.3364>
- Lee, E., Jalalizadeh, M., & Zhang, Q. (2015). Growth kinetic models for microalgae cultivation: A review. In *Algal Research* (Vol. 12, pp. 497–512). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.10.004>
- Lee, R. A., & Lavoie, J. M. (2013). From first- to third-generation biofuels: Challenges of producing a commodity from a biomass of increasing complexity. *Animal Frontiers*, 3(2), 6–11. <https://doi.org/10.2527/af.2013-0010>
- Li, Y., Chen, Y.-F., Chen, P., Min, M., Zhou, W., Martinez, B., Zhu, J., & Ruan, R. (2011). Characterization of a microalga *Chlorella* sp. well adapted to highly concentrated municipal wastewater for nutrient removal and biodiesel production. *Bioresource Technology*, 102(8), 5138–5144. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.01.091>
- Machuca, M. (2022). *Evaluación de ciclo de vida (ECV) de un biofertilizante a partir de lodos y ensilado de peces*. [Tesis de magister, Universidad de Concepción] Universidad de Concepción. <http://repositorio.udec.cl/jspui/handle/11594/9783>
- Martinez, A., Chargoy, J. P., Puerto, M., Suppen, N., & Rojas, D. (2016). *Huella Agua ISO 14046 America Latina, análisis y recomendación para una coherencia regional*. Centro de Análisis de Ciclo de Vida y Diseño Sustentable CADIS, Embajada de Suiza en Colombia, Agencia Suiza para la Cooperación y el Desarrollo COSUDE, 90.
- Martinez, L. (2008). *Eliminación de CO2 con microalgas autóctonas*. [Tesis de Doctorado, Universidad de León]. Universidad de León. <https://buleria.unileon.es/handle/10612/1414>
- Martins, A. A., Marques, F., Cameira, M., Santos, E., Badenes, S., Costa, L., Vieira, V. V., Caetano, N. S., & Mata, T. M. (2018). Water footprint of microalgae cultivation in photobioreactor. *Energy Procedia*, 153, 426–431. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2018.10.031>
- Mata, T. M., Martins, A. A., & Caetano, N. S. (2010). Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. In *Renewable and Sustainable Energy Reviews* (Vol. 14, Issue 1, pp. 217–232). <https://doi.org/10.1016/j.rser.2009.07.020>
- Ministerio de Energía. (2015a). *Anexo de Consorcio de Biocombustibles AlgaeFuels*. <https://biblioteca.digital.gob.cl/handle/123456789/562>
- Ministerio de Energía. (2015b). *Consorcio de Biocombustibles AlgaeFuels*. <https://biblioteca.digital.gob.cl/handle/123456789/591>
- Ministerio de Energía. (2015c). *Consorcio de Biocombustibles Desert Bioenergy*. <https://biblioteca.digital.gob.cl/handle/123456789/553>

- Moheimani NR. (2005). *The culture of Coccolithophorid Algae for carbon dioxide bioremediation*. [PhD Thesis, Murdoch University]. <https://researchrepository.murdoch.edu.au/id/eprint/206/>.
- Montenegro, A. (2021). *Indicador de huella de agua territorial para Chile enfocado al sector productivo*. [Tesis de pregrado, Universidad de Chile]. <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/183901>
- Moody, J. W., McGinty, C. M., & Quinn, J. C. (2014). Global evaluation of biofuel potential from microalgae. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *111*(23), 8691–8696. <https://doi.org/10.1073/pnas.1321652111>
- Morais Junior, W. G., Gorgich, M., Corrêa, P. S., Martins, A. A., Mata, T. M., & Caetano, N. S. (2020). Microalgae for biotechnological applications: Cultivation, harvesting and biomass processing. *Aquaculture*, *528*, 735562. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735562>
- Morris, B. (2003). The components of the Wired Spanning Forest are recurrent. *Probability Theory and Related Fields*, *125*(2), 259–265. <https://doi.org/10.1007/s00440-002-0236-0>
- Muñiz, R. (2017). El Biodiesel de Microalgas ¿Una Alternativa Adecuada para el Sector Energético? In *Rev. Tekhné* 20(1). <https://revistasenlinea.saber.ucab.edu.ve/index.php/tekhne/article/view/3393>.
- Murphy, C. F., & Allen, D. T. (2011). Energy-Water Nexus for Mass Cultivation of Algae. *Environmental Science & Technology*, *45*(13), 5861–5868. <https://doi.org/10.1021/es200109z>
- Nagappan, S., Devendran, S., Tsai, P.-C., Dinakaran, S., Dahms, H.-U., & Ponnusamy, V. K. (2019). Passive cell disruption lipid extraction methods of microalgae for biofuel production – A review. *Fuel*, *252*, 699–709. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2019.04.092>
- Naik, S. N., Goud, V. v., Rout, P. K., & Dalai, A. K. (2010). Production of first and second generation biofuels: A comprehensive review. In *Renewable and Sustainable Energy Reviews* (Vol. 14, Issue 2, pp. 578–597). <https://doi.org/10.1016/j.rser.2009.10.003>
- Oliveira, O., Giancesella, S., Silva, V., Mata, T., & Caetano, N. (2017). Lipid and carbohydrate profile of a microalga isolated from wastewater. *Energy Procedia*, *136*, 468–473. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2017.10.305>
- Ong, H. C., Silitonga, A. S., Masjuki, H. H., Mahlia, T. M. I., Chong, W. T., & Boosroh, M. H. (2013). Production and comparative fuel properties of biodiesel from non-edible oils: *Jatropha curcas*, *Sterculia foetida* and *Ceiba pentandra*. *Energy Conversion and Management*, *73*, 245–255. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2013.04.011>
- Pandey, R., & Kumar, G. (2017). A Comprehensive Review on Generations of Biofuels: Current Trends, Development and Scope. *International Journal on Emerging Technologies (Special Issue NCETST-2017)*, *8*(1), 561–565. www.researchtrend.net
- Park, J. B. K., Craggs, R. J., & Shilton, A. N. (2011). Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. *Bioresource Technology*, *102*(1), 35–42. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.158>

- Pate, R., Klise, G., & Wu, B. (2011). Resource demand implications for US algae biofuels production scale-up. *Applied Energy*, 88(10), 3377–3388. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2011.04.023>
- Pérez-López, P., de Vree, J. H., Feijoo, G., Bosma, R., Barbosa, M. J., Moreira, M. T., Wijffels, R. H., van Boxtel, A. J. B., & Kleinegris, D. M. M. (2017). Comparative life cycle assessment of real pilot reactors for microalgae cultivation in different seasons. *Applied Energy*, 205, 1151–1164. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2017.08.102>
- Ramachandra, T. V., Aithal, B. H., & Sreejith, K. (2015). GHG footprint of major cities in India. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 44, 473–495. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.12.036>
- Román-Figueroa, C., & Paneque, M. (2015). Ethics and Biofuel Production in Chile. *Journal of Agricultural and Environmental Ethics*, 28(2), 293–312. <https://doi.org/10.1007/s10806-015-9535-1>
- Rubio, F. C., Camacho, F. G., Sevilla, J. M. F., Chisti, Y., & Grima, E. M. (2003). A mechanistic model of photosynthesis in microalgae. *Biotechnology and Bioengineering*, 81(4), 459–473. <https://doi.org/10.1002/bit.10492>
- Russell, C., Rodriguez, C., & Yaseen, M. (2022). Microalgae for lipid production: Cultivation, extraction & detection. In *Algal Research* (Vol. 66). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102765>
- Saad, M. G., Dosoky, N. S., Zoromba, M. S., & Shafik, H. M. (2019). Algal Biofuels: Current Status and Key Challenges. *Energies*, 12(10), 1920. <https://doi.org/10.3390/en12101920>
- Sachin Powar, R., Singh Yadav, A., Siva Ramakrishna, C., Patel, S., Mohan, M., Sakharwade, S. G., Choubey, M., Kumar Ansu, A., & Sharma, A. (2022). Algae: A potential feedstock for third generation biofuel. *Materials Today: Proceedings*, 63, A27–A33. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.07.161>
- Saladini, F., Patrizi, N., Pulselli, F. M., Marchettini, N., & Bastianoni, S. (2016). Guidelines for energy evaluation of first, second and third generation biofuels. In *Renewable and Sustainable Energy Reviews* (Vol. 66, pp. 221–227). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.07.073>
- Santana, A., Jesus, S., Larrayoz, M. A., & Filho, R. M. (2012). Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Algal Lipids for the Biodiesel Production. *Procedia Engineering*, 42, 1755–1761. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2012.07.569>
- Saranya, G., & Ramachandra, T. v. (2020). Life cycle assessment of biodiesel from estuarine microalgae. *Energy Conversion and Management: X*, 8. <https://doi.org/10.1016/j.ecmx.2020.100065>
- Silva Benavides, A. M., Torzillo, G., Kopecký, J., & Masojídek, J. (2013). Productivity and biochemical composition of *Phaeodactylum tricornutum* (Bacillariophyceae) cultures grown outdoors in tubular photobioreactors and open ponds. *Biomass and Bioenergy*, 54, 115–122. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2013.03.016>

- SimaPro. (2022). *SimaPro database manual Methods library*.
<https://support.simapro.com/s/article/SimaPro-Methods-manual>.
- Singh, A., Nigam, P. S., & Murphy, J. D. (2011). Renewable fuels from algae: An answer to debatable land based fuels. *Bioresource Technology*, 102(1), 10–16.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.032>
- Spruijt, J., Schipperus, R., Kootstra, M., Visser, C. L. M., & de Parker, B. (2015). *AlgaEconomics: bio-economic production models of micro-algae and downstream processing to produce bio energy carriers. Public output report of the EnAlgae project, number WP2A7.10 Swansea*.
- Subhadra, B. G. (2011). Water management policies for the algal biofuel sector in the Southwestern United States. *Applied Energy*, 88(10), 3492–3498.
<https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2010.10.024>
- Tewelde, A. G. (2019). Evaluating the Economic Water Productivity underfull and deficit irrigation;the case of sesamecrop (Sesumum indicum L.)in woreda Kafta-Humera,Tigrai-Ethiopia. *Water Science*, 33(1), 75–83. <https://doi.org/10.1080/11104929.2019.1617481>
- United Nations. (2004). *Information on Global Warming Potentials: Technical Paper*. United Nations Digital Library System. <https://digitalibrary.un.org/record/552705?ln=es>
- Verenice, C., Cornelio, B., García, A. N., Carlos, J., & Heredia, R. (2022). Obtención de biocombustibles a partir de biomasa de Chlorella vulgaris. In *Environmental, Sciences and Practices* 1(1). <https://www.mlsjournals.com/Environmental-Science-Practices/article/view/1365>
- Vionnet, S., Lessard, L., Offutt, A., Levova, T. & Humbert, S. (2012). *Quantis Water Database- Technical report*. (1). Quantis. https://quantis.com/wp-content/uploads/2017/02/wdb_technicalreport_2012-03-19_quantis-1.pdf
- Wibisono, Y., Nugroho, W. A., Devianto, L. A., Sulianto, A. A., & Bilad, M. R. (2019). Microalgae in food-energy-water nexus: A review on progress of forward osmosis applications. In *Membranes* 9(12), 166.MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/membranes9120166>
- Wood, D. A. (2021). Microalgae to biodiesel - Review of recent progress. *Bioresource Technology Reports*, 14. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2021.100665>
- Yang, J., Xu, M., Zhang, X., Hu, Q., Sommerfeld, M., & Chen, Y. (2011a). Appendix A: Life-cycle analysis on biodiesel production from microalgae: Water footprint and nutrients balance. *Bioresource Technology*, 102(1), 159–165. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.07.017>
- Yang, J., Xu, M., Zhang, X., Hu, Q., Sommerfeld, M., & Chen, Y. (2011b). Life-cycle analysis on biodiesel production from microalgae: Water footprint and nutrients balance. *Bioresource Technology*, 102(1), 159–165. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.07.017>
- Zare, L. (2018). *Uso de ensilado a base de residuos de truca arcoiris (Oncorhynchus mykiss) como fertilizante orgánico para la producción de la microalga marina Tetraselmis suecica*". [Tesis de

grado, Universidad Nacional Agraria La Molina].
<https://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/20.500.12996/3706>

Zhu, L., & Ketola, T. (2012). Microalgae production as a biofuel feedstock: risks and challenges. *International Journal of Sustainable Development & World Ecology*, 19(3), 268–274.
<https://doi.org/10.1080/13504509.2011.636083>

8. Anexo I

Tabla 16: Datos de inventario por unidad funcional para los procesos agua arriba, considerando un año de operación (Branco-Vieira, Costa, et al., 2020b).

	Flujo entrada	Valor	Unidad	Flujo salida	Valor	Unidad/ kg
Cultivo						
Químicos	ZnCl ₂	2,62E-07	kg	-	-	-
	CoCl ₂ ,6H ₂ O	2,50 E-07	kg	-	-	-
	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ H ₂ O	1,12 E-07	kg	-	-	-
	CuSO ₄ ,5H ₂ O	2,50 E-07	kg	-	-	-
	Vitamina B12	1,25 E-08	kg	-	-	-
	Vitamina B1	1,25 E-08	kg	-	-	-
	Vitamina H	2,50 E-08	kg	-	-	-
	FeCl ₃ ,6H ₂ O	1,62 E-02	kg	-	-	-
	MnCl ₂ ,2H ₂ O	4,50 E-03	kg	-	-	-
	H ₃ BO ₃	0,42	kg	-	-	-
	EDTA	0,56	kg	-	-	-
	NaH ₂ PO ₄ ,2H ₂ O	0,25	kg	-	-	-
	NaNO ₃	1,25	kg	-	-	-
	Na ₂ SiO ₃	0,21	kg	-	-	-
CO ₂	-24,06	kg	-	-	-	
Energía	Electricidad	1,07	kWh	-	-	-
Agua	Agua de mar	13,07	m ³	Reutilización de agua	-11,77	m ³
	Agua dulce	3,715	m ³	-	-	-
Biomasa	-	-	-	Cultivo	12,50	m ³
Cosecha						
Agua	-	-	-	Agua residual	1,31	m ³
	-	-	-	Fósforo	0,22	kg

	-	-	-	Nitrógeno	0,51	kg
Energía	Electricidad	20,25	kWh	-	-	-
Biomasa	Cultivo	12,50	m ³	Pasta de biomasa	79,97	kg

Tabla 17: Datos de inventario por unidad funcional de 1 kg de biodiesel para los procesos agua abajo, considerando un año de operación (Branco-Vieira, Costa, et al., 2020b).

	Flujo entrada	Valor	Unidad/ kg	Flujo salida	Valor	Unidad/ kg
Secado						
Agua	Agua dulce	67,97	m ³	Vapor de agua	64,97	m ³
Energía	Electricidad	40,79	kWh	-	-	-
Biomasa	Pasta de biomasa	79,97	kg	Biomasa seca	12,00	kg
	-	-	-	Biomasa perdida	2,17	kg
Disrupción celular						
Energía	Electricidad	22,43	kWh	-	-	-
Biomasa	Biomasa seca	12,00	kg	Biomasa procesada	12,00	kg
Extracción						
Energía	Electricidad	7,5	kWh	-	-	-
Biomasa	Biomasa procesada	12,00	m ³	Biomasa residual	10,97	kg
Gas	CO ₂	9,57	kg	-	-	-
Aceite	-	-	-	Lípidos	1,03	kg
Refinación						
Agua	Agua de lavado	4,10E-02	m ³	Agua residual	0,05	m ³
Químicos	H ₃ PO ₄	1,05E-04	kg	-	-	-

	NaOH	3,16E-04	kg	-	-	-
	C ₆ H ₈ O ₇	6,62E-05	kg	-	-	-
Energía	Electricidad	3,17E-02	kWh	-	-	-
Transesterificación						
Agua	Agua de lavado	0,25	m ³	-	-	-
Energía	Electricidad	0,06	kWh	-	-	-
Químicos	KOH	0,01	kg	-	-	-
	H ₂ SO ₄	8,87E-03	kg	-	-	-
	CH ₃ OH	0,22	kg	CH ₃ OH	0,11	kg
	-	-	-	CH ₃ OH recuperado	0,1	kg
Productos	Aceite refinado	1,02	kg	Biodiesel	1,00	kg
	-	-	-	Glicerina	0,10	kg
	-	-	-	Biomasa residual	10,97	kg