



Universidad de Valladolid



PROGRAMA DE DOCTORADO EN INGENIERÍA QUÍMICA Y AMBIENTAL

TESIS DOCTORAL:

Optimización de cultivos de microalgas para el tratamiento de aguas residuales ganaderas y limpieza de biogás

Presentada por **César Ruiz Palomar** para optar al grado de
Doctor por la Universidad de Valladolid.

Dirigida por:

Dr. Ignacio de Godos Crespo

Dra. Daphne Hermosilla Redondo

A mi familia

Índice

Resumen	I
<i>Abstract</i>	V
Lista de publicaciones	VIII
Contribución a los trabajos incluidos en la tesis.....	IX
Capítulo 1. Introducción.....	1
1.1. Necesidades de gestión eficiente de subproductos en el sector alimentario	3
1.2. Mercado global del biogás: tendencias y mejoras	6
1.3. Tecnologías de <i>upgrading</i> del biogás	9
1.3.1. Tecnologías fisicoquímicas.....	11
1.3.2. Tecnologías basadas en procesos biológicos	17
1.4. <i>Upgrading</i> fotosintético del biogás	20
1.4.1. Fundamentos.....	20
1.4.2. Las aguas residuales y digestatos como medio de cultivo de microalgas	25
1.4.3. Pretratamiento de aguas residuales para el cultivo de microalgas.....	27
1.4.4. Parámetros que afectan al tratamiento del biogás en el <i>upgrading</i> fotosintético	32
1.5. Referencias	37
Capítulo 2. Objetivos y alcance de la tesis	51
2.1. Justificación de la tesis	53
2.2. Objetivos principales	54
2.3. Desarrollo de la tesis.....	55
Capítulo 3. Ozonation as Pretreatment of Digested Swine Manure Prior to Microalgae Culture	57
Capítulo 4. Comparative Analysis of Livestock Wastewater Reuse Under Summer and Winter Conditions at a Scale-Down Microalgae Culture	59
Capítulo 5. Effect of liquid-gas ratio and hydraulic residence time on large-scale absorption columns for photosynthetic biogas upgrading	63

Índice

Capítulo 6. Pre-Commercial Demonstration of a Photosynthetic Upgrading Plant: Investment and Operating Cost Analysis	87
Capítulo 7. Discusión general	91
Capítulo 8. Conclusiones y trabajo futuro	97
Capítulo 9. Sobre el autor	101

Resumen

El cultivo de microalgas ha ganado mucha atención en la investigación reciente debido a sus múltiples aplicaciones, especialmente en el tratamiento de aguas y la captura de CO₂. El problema de la escasez de agua dulce en el planeta una necesidad de aplicación de sistemas avanzados de depuración de las aguas contaminadas. Las microalgas son organismos unicelulares, autótrofos, que realizan la fotosíntesis. Aprovechan la luz para sintetizar compuestos celulares a la vez que capturan CO₂ y nutrientes de las aguas residuales. Este enfoque no solo ayuda a purificar aguas residuales, sino que también permite la producción de biocombustibles, y otros bioproductos de alto valor como fertilizantes y alimentos. El cultivo de microalgas para la depuración de aguas residuales ha despertado un creciente interés en los últimos años. Esta tecnología ofrece ventajas significativas en comparación con los métodos convencionales, ya que es altamente eficiente en la eliminación de contaminantes, transformándolos en recursos aprovechables, además de contribuir a la captura de CO₂. En este contexto, la presente tesis se centra en la depuración de aguas a través del uso de microalgas, que absorben nutrientes y contaminantes, mejorando así la calidad del agua. También se estudia la capacidad de las microalgas para la captura del CO₂, en este sentido puede ser aprovechada en el refinado del biogás, aumentando la eficiencia del proceso y reduciendo las emisiones de gases de efecto invernadero. La sinergia entre estos procesos presenta una solución sostenible que podría contribuir a mitigar problemas ambientales contemporáneos.

Los objetivos de esta tesis son estudiar el cultivo de microalgas para la depuración de aguas residuales y demostrar la viabilidad y eficiencia de la tecnología de upgrading fotosintético del biogás a gran escala y bajo coste, comparándola con otras tecnologías de upgrading convencionales.

En el **Capítulo 3**, Se investigó la ozonización como una estrategia para la eliminación del color seguida del cultivo de microalgas. La digestión anaeróbica del estiércol animal genera biogás y elimina materia orgánica biodegradable, mientras que la mayor parte del nitrógeno y fósforo permanece en niveles muy altos después del proceso. Un posterior cultivo de microalgas en el digestato proporciona la absorción de nutrientes a muy bajos costos operativos y de instalación. Sin embargo, el color oscuro del digestato de estiércol impide la penetración de luz, reduciendo las tasas de crecimiento de las algas. Aunque se

logró una producción de biomasa similar en digestatos tratados y no tratados (1.09 vs. 0.99 g L^{-1}), el efecto positivo de la ozonización se evidenció por las tasas significativamente más altas de oxígeno producido fotosintéticamente: 0.804 y $0.18 \text{ mg O}_2 \text{ mg}^{-1} \text{ TSS min}^{-1}$, respectivamente, en digestatos ozonizados y no tratados, revelando una actividad algar cuatro veces mayor. Sin embargo, esta considerable actividad superior no se correlacionó con un mejor rendimiento en la eliminación de nutrientes, ya que el tratamiento con microalgas se evaluó a una escala considerablemente reducida con una alta relación de iluminación por volumen. Un análisis de costos operativos reveló que la ozonización podría ser competitiva frente a otras estrategias de reducción de color, como la dilución o los procesos de coagulación/floculación.

En el **Capítulo 4**. Se evaluó el tratamiento continuo de digestato de ganado en un estanque experimental de algas de alta tasa (HRAP) que recrea las condiciones encontradas en experimentos al aire libre. Se analizó la eliminación de contaminantes químicos y biológicos, así como la respuesta de la actividad fotosintética. La eliminación de contaminantes varía entre estaciones, mientras que el verano se caracterizó por una elevada eliminación de nitrógeno y fósforo (81 y 69% , respectivamente), por otro lado, el invierno presentó una mayor eliminación de materia orgánica (91%) y patógenos. En este sentido, la eliminación de *P. aeruginosa* fue notablemente superior en invierno (100%) que en verano (50%). La mayor penetración de la luz y la mayor eficiencia fotosintética en invierno, junto con las mayores fluctuaciones en las concentraciones de pH y oxígeno disuelto, contribuyeron a una mayor eliminación de patógenos. Las pruebas de respuesta fotosintética indicaron una mayor producción de oxígeno por unidad de biomasa en invierno, lo que sugiere adaptaciones fisiológicas a condiciones de menor luz. Esta adaptación se correlacionó con los valores relativamente altos de pH y oxígeno disuelto registrados. Los resultados ponen de manifiesto la adaptación y robustez de los cultivos de algas como solución para el tratamiento y reutilización de aguas residuales en el sector primario.

En el **Capítulo 5**, se estudió la optimización del upgrading fotosintético a gran escala de biogás en biometano. Se evaluaron los efectos del tiempo de residencia hidráulico y la relación líquido/gas (L/G) en una columna de absorción acoplada a un estanque de algas de alta tasa (HRAP) al aire libre. Dentro de la columna, el biogás asciende a través de un lecho de microalgas, mejorando su calidad. La mayor concentración de biometano alcanzada fue del $96,3\%$ con una relación L/G de $1,12$ y un TRH de 10 minutos. Tiempos

de residencia más cortos dieron lugar a mayores concentraciones de CH_4 . Las microalgas eliminaron eficazmente el CO_2 y el H_2S , produciendo biometano con una pureza superior al 95%. El sistema demostró una gran estabilidad, permitiendo una purificación eficaz del biogás sin necesidad de carbonatación media y cumpliendo las especificaciones para aplicaciones de gas natural comprimido (GNC) para vehículos.

En el **Capítulo 6**, Se realizó un estudio comparativo de los costos de capital y operación entre un sistema de upgrading fotosintético y los sistemas convencionales de refinado del biogás. Las granjas porcinas han sido identificadas como una de las fuentes más importantes de emisiones de gases de efecto invernadero. Este estudio demuestra la producción de biometano vehicular en una planta prototipo a escala real, basada en la tecnología de upgrading fotosintético, donde el CO_2 y el H_2S presentes en el biogás son consumidos por un cultivo de microalgas. La información recopilada durante la construcción del prototipo permitió una evaluación de los costos de capital y operación de esta novedosa tecnología de upgrading de biogás con otros sistemas convencionales. Con este objetivo, se calcularon los costos de los equipos que comprenden el sistema de limpieza y purificación de biogás considerando un caudal de biogás de $5 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$, correspondiente a una planta de biogás pequeña-mediana y un tamaño medio de granja porcina. Se demostró la sostenibilidad y competitividad del sistema de upgrading de algas y los bajos costos de capital y operación frente a otras tecnologías de upgrading. Con una producción neta de energía de 687 kWh día^{-1} y un beneficio anual de 30.348 € en una explotación porcina de 3.500 cabezas, esta tecnología se puede instalar fácilmente en explotaciones ganaderas, aumentando los beneficios y reduciendo la huella de carbono.

Abstract

Microalgae cultivation has gained much attention in recent research due to its multiple applications, especially in water treatment and CO₂ capture. The problem of the scarcity of fresh water on the planet has created a need for the application of advanced systems for the purification of polluted water. Microalgae are unicellular, autotrophic organisms that perform photosynthesis. They harness light to synthesize cellular compounds while capturing CO₂ and nutrients from wastewater. This approach not only helps to purify wastewater, but also enables the production of biofuels, and other high value bioproducts such as fertilizers and food. The cultivation of microalgae for wastewater purification has attracted increasing interest in recent years. This technology offers significant advantages compared to conventional methods, since it is highly efficient in the elimination of pollutants, transforming them into usable resources, as well as contributing to CO₂ capture. In this context, this thesis focuses on water purification using microalgae, which absorbs nutrients and pollutants, thus improving water quality.

The objectives of this thesis are to study the cultivation of microalgae for wastewater treatment and to demonstrate the feasibility and efficiency of large-scale, low-cost photosynthetic biogas upgrading technology compared to other conventional upgrading technologies.

In **Chapter 3**, ozonation was investigated as a strategy for color removal followed by microalgae cultivation. Anaerobic digestion of animal manure generates biogas and removes biodegradable organic matter, while most of the nitrogen and phosphorus remain at very high levels after the process. Subsequent cultivation of microalgae on the digestate provides nutrient uptake at very low operational and installation costs. However, the dark color of the manure digestate prevents light penetration, reducing algal growth rates. Although similar biomass production was achieved in treated and untreated digestate (1.09 vs. 0.99 g L⁻¹), the positive effect of ozonation was evidenced by significantly higher rates of photosynthetically produced oxygen: 0.804 and 0.18 mg O₂ mg⁻¹ mg⁻¹ TSS min⁻¹, respectively, in ozonated and untreated digestate, revealing four times higher algal activity. However, this considerable higher activity did not correlate with better nutrient removal performance, as the microalgae treatment was evaluated at a considerably reduced scale with a high illumination per volume ratio. An operational cost analysis

revealed that ozonation could be competitive with other color reduction strategies, such as dilution or coagulation/flocculation processes.

In **Chapter 4**, the continuous treatment of cattle digestate in an experimental high-rate algae pond (HRAP) that recreates the conditions found in outdoor experiments was evaluated. The removal of chemical and biological contaminants was analyzed, as well as the response of photosynthetic activity. The removal of pollutants varied between seasons, while summer was characterized by a high removal of nitrogen and phosphorus (81 and 69%, respectively), on the other hand, winter presented a higher removal of organic matter (91%) and pathogens. In this sense, the elimination of *P. aeruginosa* was notably higher in winter (100%) than in summer (50%). Higher light penetration and photosynthetic efficiency in winter, together with greater fluctuations in pH and dissolved oxygen concentrations, contributed to greater pathogen removal. Photosynthetic response tests indicated higher oxygen production per unit biomass in winter, suggesting physiological adaptations to lower light conditions. This adaptation correlated with the relatively high pH and dissolved oxygen values recorded. The results highlight the adaptation and robustness of algal cultures as a solution for wastewater treatment and reuse in the primary sector.

In **Chapter 5**, the optimization of large-scale photosynthetic upgrading of biogas to biomethane was studied. The effects of hydraulic residence time and liquid/gas ratio (L/G) were evaluated in an absorption column coupled to an open-air high-rate algae pond (HRAP). Inside the column, the biogas rises through a bed of microalgae, improving its quality. The highest biomethane concentration achieved was 96.3% with an L/G ratio of 1.12 and an HRT of 10 minutes. Shorter residence times resulted in higher CH₄ concentrations. The microalgae effectively removed CO₂ and H₂S, producing biomethane with purity greater than 95%. The system demonstrated high stability, allowing efficient biogas purification without the need for medium carbonation and meeting specifications for compressed natural gas (CNG) vehicle applications.

In **Chapter 6**, a comparative study of the capital and operating costs between a photosynthetic upgrading system and conventional biogas refining systems was conducted. Pig farms have been identified as one of the most important sources of greenhouse gas emissions. This study demonstrates the production of vehicle biomethane in a full-scale prototype plant based on photosynthetic upgrading technology, where the

Abstract

CO₂ and H₂S present in the biogas are consumed by a microalgae culture. The information gathered during the construction of the prototype allowed an evaluation of the capital and operating costs of this novel biogas upgrading technology with other conventional systems. With this objective, the costs of the equipment comprising the biogas cleaning and purification system were calculated considering a biogas flow rate of 5 m³ h⁻¹, corresponding to a small-medium biogas plant and an average size pig farm. The sustainability and competitiveness of the algae upgrading system and the low capital and operating costs compared to other upgrading technologies were demonstrated. With a net energy production of 687 kWh day⁻¹ and an annual profit of 30,348€ on a 3,500 head pig farm, this technology can be easily installed on livestock farms, increasing profits and reducing the carbon footprint.

Lista de publicaciones

Las siguientes publicaciones se presentan como parte de la presente tesis. Todos los trabajos fueron publicados en revistas internacionales indexadas en Journal Citation Reports (JCR).

Artículo I. C. Ruiz Palomar, A. García Álvaro, D. Hermosilla, A. Gascó, R. Muñoz, and I. de Godos. Ozonation as Pretreatment of Digested Swine Manure Prior to Microalgae Culture. *Water (Basel)*, vol. 16, no. 12, p. 1740, Jun. 2024. doi: 10.3390/w16121740.

Artículo II. C. Ruiz Palomar, A. García Álvaro, D. Hermosilla, F.G. Gonzalo Ibrahím, R. Muñoz and I. de Godos. Comparative Analysis of Livestock Wastewater Reuse Under Summer and Winter Conditions at a Scale-Down Microalgae Culture. *Water (basel)*, vol. 17, no. 10, p.1483, May 2025. doi: 0.3390/w17101483.

Artículo III. C. Ruiz Palomar, A. García Álvaro, F.G. Gonzalo Ibrahím, R. Muñoz and I. de Godos. Effect of liquid-gas ratio and hydraulic residence time on large-scale absorption columns for photosynthetic biogas upgrading. *Bite*. (In review).

Artículo IV. C. Ruiz Palomar, A. García Álvaro, R. Muñoz, C. Repáraz, M. F. Ortega, and I. de Godos. Pre-Commercial Demonstration of a Photosynthetic Upgrading Plant: Investment and Operating Cost Analysis. *Processes*, vol. 12, no. 12, p. 2794, Dec. 2024. doi: 10.3390/pr12122794.

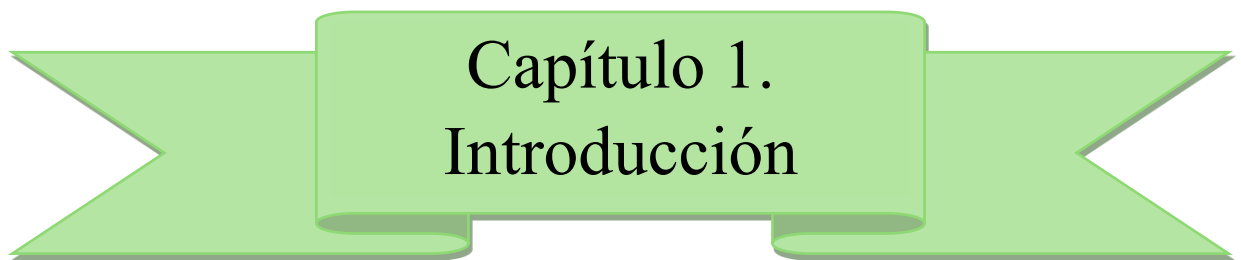
Contribución a los trabajos incluidos en la tesis

Artículo I. En este trabajo fui el responsable del diseño, puesta en marcha y operación del montaje experimental en colaboración con el Dr. Alfonso García Álvaro y bajo la supervisión del Dr. Ignacio de Godos y la Dra. Daphne Hermosilla. Realicé la evaluación de los resultados y la preparación del artículo en colaboración con el Dr. Alfonso García Álvaro y bajo la supervisión del Dr. Ignacio de Godos y la Dra. Daphne Hermosilla.

Artículo II. En este trabajo fui el encargado de diseñar y ejecutar el montaje experimental, en colaboración con el Dr. Alfonso García Álvaro y el Dr. Víctor Alonso Gómez, bajo la supervisión del Dr. Ignacio de Godos y el Dr. Raúl Muñoz. Asimismo, realicé el análisis de los resultados y la redacción del artículo científico, también en colaboración con el Dr. Alfonso García Álvaro y bajo la supervisión de los doctores Ignacio de Godos y Raúl Muñoz.

Artículo III. En este estudio, me centré en el diseño y ejecución de los experimentos en la planta prototipo, en colaboración con el Dr. Alfonso García Álvaro y bajo la supervisión del Dr. Ignacio de Godos y el Dr. Raúl Muñoz. Asimismo, realicé el análisis de los resultados y la preparación del artículo científico, también en colaboración con el Dr. Alfonso García Álvaro y bajo la supervisión de los doctores Ignacio de Godos y Raúl Muñoz.

Artículo IV. En esta investigación fui el responsable del diseño, puesta en marcha y seguimiento operativo de la planta experimental en colaboración con el Dr. Alfonso García Álvaro y bajo la supervisión del Dr. Ignacio de Godos y el Dr. Marcelo Ortega. Realicé el análisis de los resultados y la preparación del artículo en colaboración con el Dr. Alfonso García Álvaro y bajo la supervisión del Dr. Ignacio de Godos y la Dra. Daphne Hermosilla.



Capítulo 1. Introducción

1.1. Necesidad de gestión eficiente de subproductos en el sector alimentario.

En las últimas cuatro décadas la población mundial se ha duplicado, alcanzando los 8.119 millones de personas en 2024 [1]. Con una tasa de crecimiento anual del 1,08 %, se proyecta que para el año 2037 la población global superará los 9.000 millones. Este rápido aumento poblacional ejerce una gran presión sobre la producción ganadera para satisfacer la creciente demanda general de alimentos y en particular de proteínas, impulsando la expansión de sistemas de producción animal intensivos [2]. El crecimiento de la población mundial, junto con la mejora de las condiciones socioeconómicas en muchos países, ha impulsado un aumento en el consumo global de carne, incluida la carne de cerdo [3]. En particular, la carne de cerdo de capa blanca ha ganado popularidad debido a la reducción de los costos de producción y a su calidad nutricional [4]. Actualmente, la carne de cerdo es una de las más consumidas a nivel mundial. Según una encuesta reciente, en 2022 representó el 34 % del consumo global de carne, frente al 40 % de las aves de corral y el 22 % de la carne vacuno [5]. Entre 1990 y 2022, el consumo mundial de carne de cerdo creció un 77 %, pasando de 63,5 a 122 millones de toneladas [6]. Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), la población mundial de ganado porcino ha aumentado 2,31 veces en los últimos 80 años y sigue en crecimiento [7]. En comparación, el consumo de aves de corral aumentó un 287 % y el de carne vacuno un 49 % en el mismo período [8]. En España la carne de cerdo supone un 42 % de toda la carne consumida en los hogares [9]. Debido al continuo crecimiento demográfico y el avance económico, se espera que esta tendencia al alza en el consumo de carne de cerdo continúe, lo que exigirá una mayor producción y por tanto un mayor volumen de subproductos y residuos asociados.

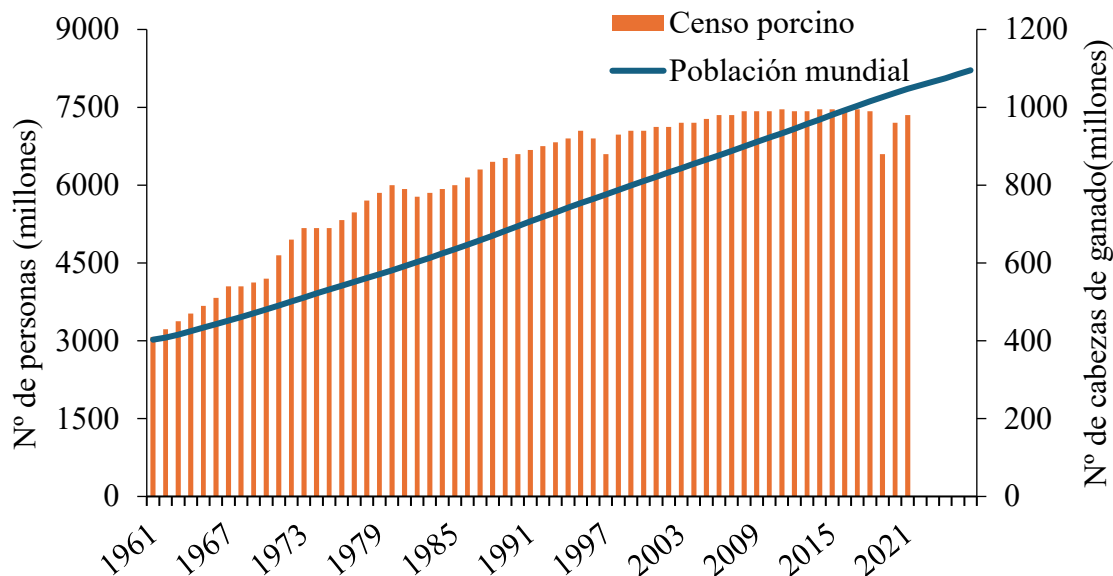


Figura 1. Evolución de la población mundial y censo porcino.

La carne de cerdo proviene de la cría porcina, una actividad que ha crecido significativamente: entre 1961 y 2021, la producción porcina mundial aumentó un 140 %, y actualmente se crían cerca de mil millones de cerdos en todo el mundo [5]. La Figura 1 muestra la estimación del número de cabezas de ganado para el año 2025, que se proyecta en 1.284,3 millones. Estos datos destacan a China como el principal productor de ganado porcino en el mundo, seguido por la Unión Europea y Estados Unidos [7], [10].

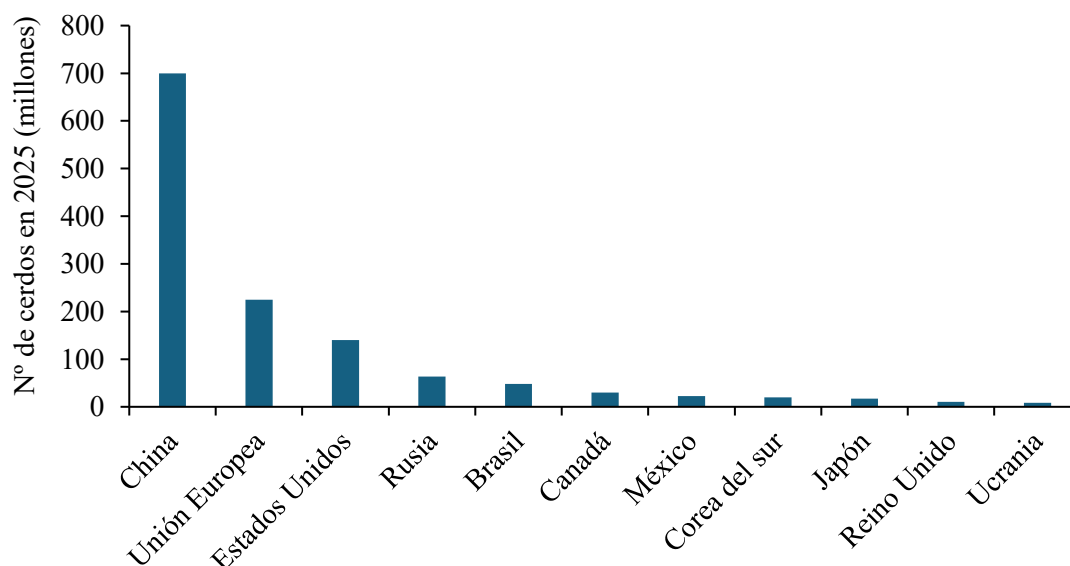


Figura 2. Estimación del número de cabezas de ganado porcino en 2025.

Con la expansión global de la producción porcina, tanto los criadores de cerdos como las fábricas de alimentos están adoptando modelos de integración para mejorar la eficiencia

y maximizar las ganancias. Un ejemplo notable es el caso de Estados Unidos, donde en los últimos 25 años se ha producido un cambio significativo en la estructura de la industria. En 1995, los 25 principales productores de cerdos del país poseían unos 1,3 millones de cerdas. Para 2020, ese número había aumentado a aproximadamente 4,1 millones, lo que representa el 65% de la población total de cerdas en el país. En los principales países productores de ganado porcino, los grandes productores suelen adquirir empresas más pequeñas y productores independientes como parte de una estrategia para integrar verticalmente toda la cadena de producción. Lo cual permite optimizar recursos, mejorar la rentabilidad y aumentar la eficiencia operativa. Esto genera un ciclo que refuerza la tendencia hacia una mayor consolidación e integración sistémica en la industria porcina [3].

Este incremento en la producción conlleva la generación de grandes volúmenes de estiércol. De acuerdo con estadísticas recientes, por cada diez mil cerdos sacrificados se generan anualmente aproximadamente 4 millones de toneladas de estiércol y orina [11], [12]. Esto equivale a un total estimado de 2109,46 millones de toneladas al año, cuya gestión inadecuada representa un desafío ambiental de gran magnitud a nivel mundial [13]. La producción de purines de cerdo ha sido significativa en los últimos años, especialmente en países como China, Estados Unidos y Brasil, con una alta densidad de producción porcina [14]. En España, líder europeo en producción de carne de cerdo, se generan más de 40 millones de toneladas de purines anualmente. A pesar de la implementación de numerosas normativas nacionales e internacionales para controlar la eliminación de estos residuos, el estiércol y su gestión continúa liberando grandes volúmenes de gases de efecto invernadero, materiales orgánicos y otros compuestos, representando un riesgo significativo para la integridad de los recursos naturales. Un ejemplo claro es la contaminación de aguas subterráneas y superficiales debido a la descarga incontrolada de efluentes en suelos y cuerpos de agua [2]. En este sentido la presencia de contaminantes reduce la calidad de las aguas de consumo en municipios de pequeño tamaño y pone en riesgo los ecosistemas acuáticos. La gestión adecuada de estos residuos es crucial para garantizar una producción de alimentos compatible con la conservación de los recursos y de las condiciones de vida adecuada en el medio rural. En la actualidad se están desarrollando métodos innovadores para transformar los purines en bioenergía, fertilizantes y otros bienes de consumo, promoviendo estrategias de economía circular en la ganadería [15], [16], [17], [18], [19], [20]. Como métodos de valorización

energética destaca la producción de biogás mediante digestión anaerobia de los purines que permite simultáneamente evitar emisiones de gases de efecto invernadero (fundamentalmente metano) y generar un recurso energético imprescindible para muchas actividades como es el gas natural.

1.2. Mercado global del biogás: tendencias y mejoras.

Como se mencionó anteriormente, el constante crecimiento de la población no solo ha provocado un aumento en la generación de residuos, sino que también ha intensificado el consumo de recursos naturales y energía. El consumo de combustibles fósiles se ha incrementado en los últimos años, generando gran cantidad de gases de efecto invernadero que resultan en un calentamiento progresivo de la atmósfera, siendo los principales el CO₂ y el CH₄ [21]. Por tanto, es de vital importancia poner en marcha actividades, procesos y hábitos de consumo que reduzcan el consumo energético, las emisiones y que fomenten la reutilización de materiales. Entre estas estrategias destaca el denominado “*Waste-to-energy*”, este concepto se refiere a diferentes procesos mediante los cuales los residuos sólidos se convierten en energía utilizable, como electricidad, calor o combustible [22], [23], [24]. La producción de biogás a partir del proceso anaeróbico de descomposición de residuos ganaderos puede cubrir las necesidades energéticas, incluyendo la generación de electricidad, calor y la reducción del uso de combustibles derivados del gas natural fósil [25], [26]. A nivel europeo se está incrementando la producción de biogás y biometano de forma gradual y sustituyendo el consumo de gas natural. En la figura 1 se representa la producción de biometano y biogás en forma de energía. El término 'biogás' se refiere al biogás en su forma original, mientras que el biometano representa una versión mejorada de este biogás crudo mediante el proceso de limpieza, también denominado enriquecimiento o “*upgrading*”. El biogás generado a partir de la gasificación y producción sintética no aparece reflejado en la siguiente figura 3.

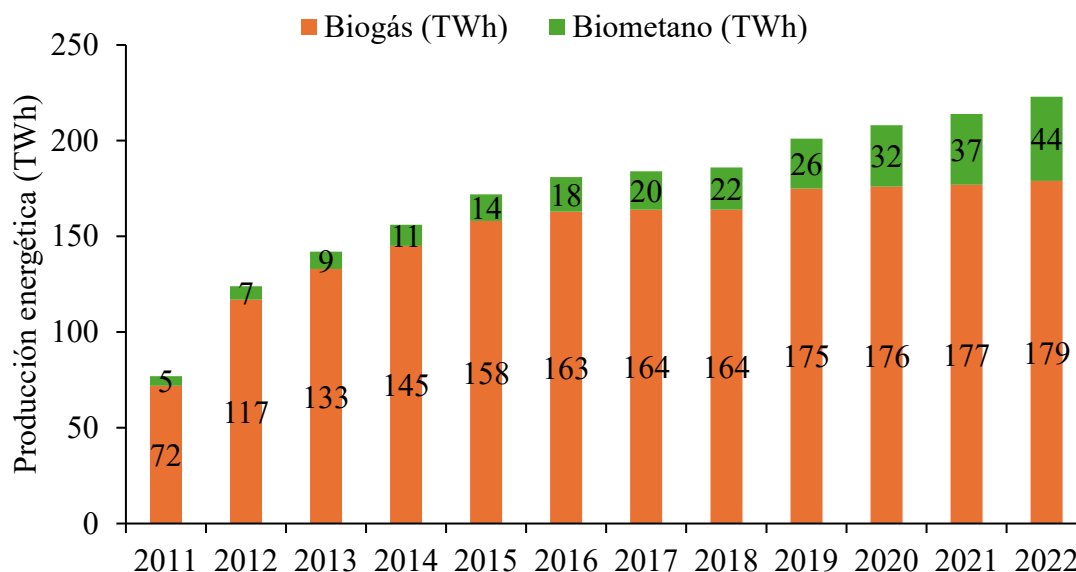


Figura 3. Producción energética del biogás y biometano (TWh).

En la figura 4 se muestra el incremento de la producción energética de biometano en Europa, en los últimos 12 años, expresada en billones de metros cúbicos (bcm).

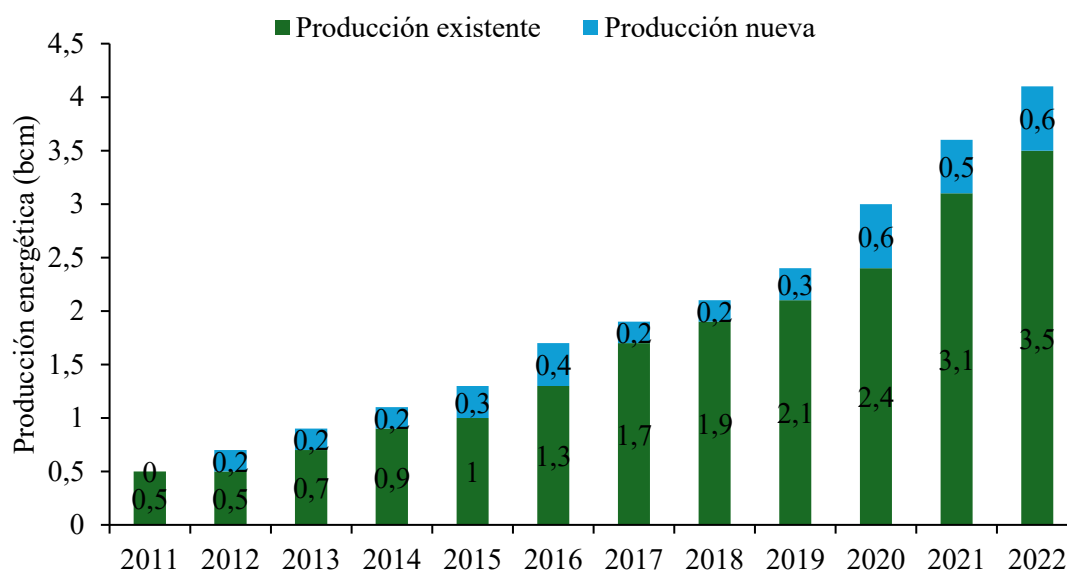


Figura 4. Evolución de la producción energética de biometano en Europa (bcm).

El incremento del número de plantas de biometano, es decir las que generan biogás que es purificado en gas natural renovable, en Europa es del 111 % en los últimos 5 años. Este aumento ha sido exponencial, impulsado por el crecimiento en el número de nuevas instalaciones que usan materias primas procedentes del sector agrícola y ganadero principalmente.

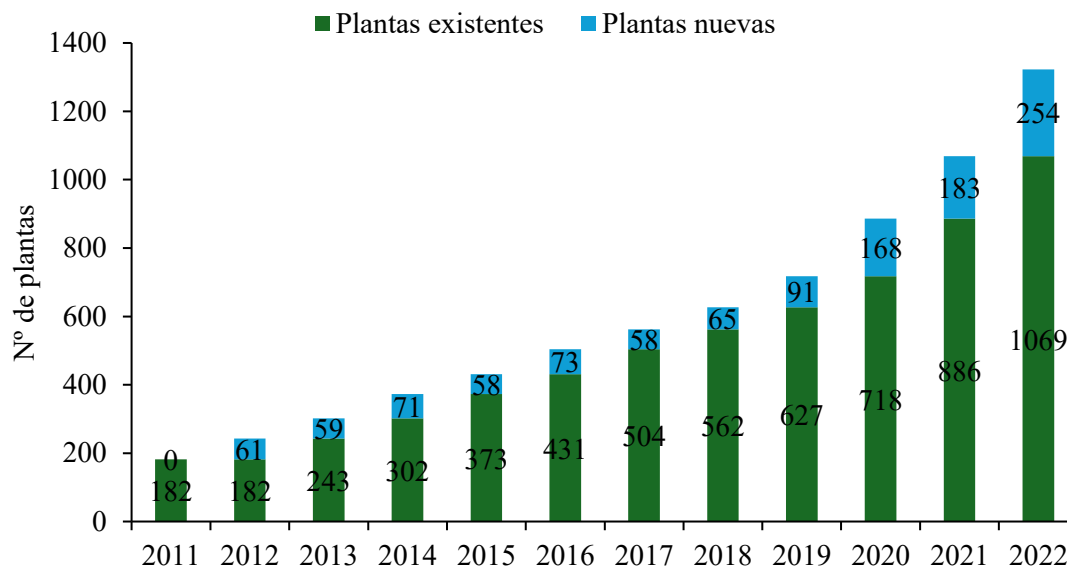


Figura 5. Evolución del número de instalaciones de biometano en Europa [27].

Alemania es el país que produce mayor cantidad de energía en forma de biometano con 13.027 TWh en el año 2022. España se encuentra en el 10 lugar con una producción de 229 TWh de biometano. Sin embargo, la disponibilidad de subproductos o residuos apropiados para la generación de biogás en nuestro país es considerablemente elevada y en varios estudios se ha demostrado el enorme potencial de sustitución de gas natural por biometano que existe en las zonas donde predominan las actividades económicas del sector primario [27].

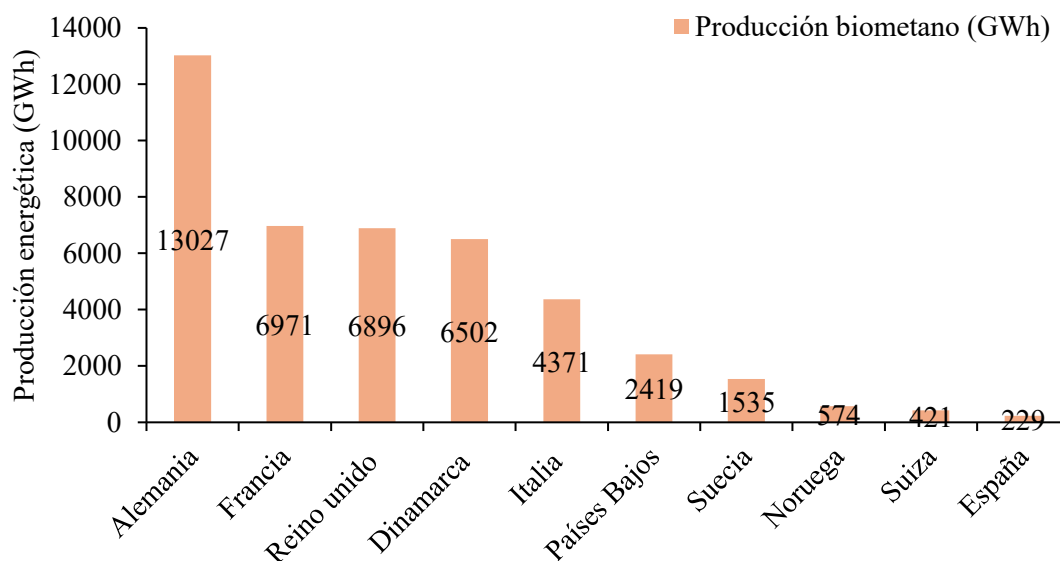


Figura 6. Ranking de los 10 países líderes en producción de biometano en 2022, ordenados de mayor a menor (GWh) [27].

Como se muestra en la Figura 7, la mayor parte de la producción de biometano en Europa proviene de instalaciones dependientes de sustratos agrícolas para la generación de biogás. La segunda fuente más importante de producción de biometano son los residuos sólidos urbanos orgánicos, que representan el 19%. En tercer y cuarto puesto se encuentran instalaciones industriales (alimentos y residuos) y lodos de depuradora con un 7% y 6% respectivamente.

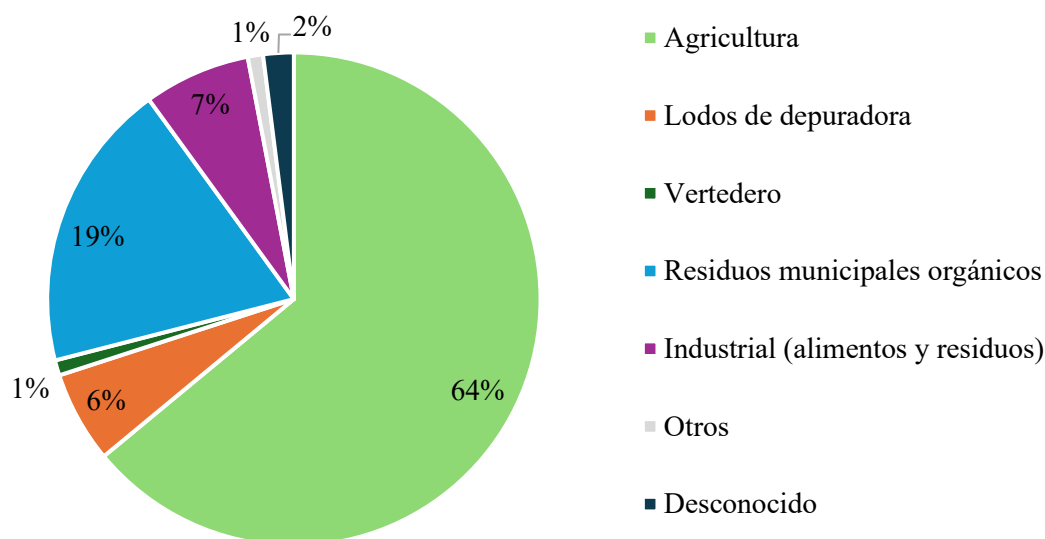


Figura 7. Distribución por tipo de planta del porcentaje de producción europea de biometano en 2022

1.3. Tecnologías de *upgrading* del biogás

La limpieza del biogás es necesaria para poder utilizarlo como combustible tanto para inyección a red como para uso vehicular debido a su contenido en impurezas. El biogás bruto puede contener las siguientes concentraciones de impurezas: (CH_4 , 40-75%) y dióxido de carbono (CO_2 , 15-60%). Trazas de otros componentes como agua (H_2O , 5-10%), sulfuro de hidrógeno (H_2S , 0,005-2%), siloxanos (0-0,02%), hidrocarburos halogenados, compuestos orgánicos volátiles (COV, <0,6%), amoníaco (NH_3 , <1%), oxígeno (O_2 , 0-1%), monóxido de carbono (CO , <0,6%) y nitrógeno (N_2 , 0-2%) [28], [29] estos compuestos pueden ser un inconveniente cuando no se eliminan del biogás para su almacenamiento y utilización como combustible [30]. El CO_2 es un gas que no tiene poder calorífico y el H_2S genera problemas de corrosión en los depósitos de almacenamiento, en el uso en calderas y motores de combustión.

Existen diversas tecnologías disponibles para convertir biogás en biometano por medio del *upgrading*. Según la Figura 6, en Europa más de $\frac{3}{4}$ partes de las plantas de biometano en funcionamiento actualmente emplean la separación por membrana (51%), el lavado con agua (14%) o la absorción química (12%) como método de tratamiento del biogás. Las instalaciones restantes utilizan adsorción por cambio de presión (10%), depuración física (2%) y separación criogénica (1%). En cuanto al 10% restante de las plantas de biometano en Europa, aún no se han proporcionado datos sobre la tecnología de actualización a la base de datos de la Asociación Europea del Biogás.

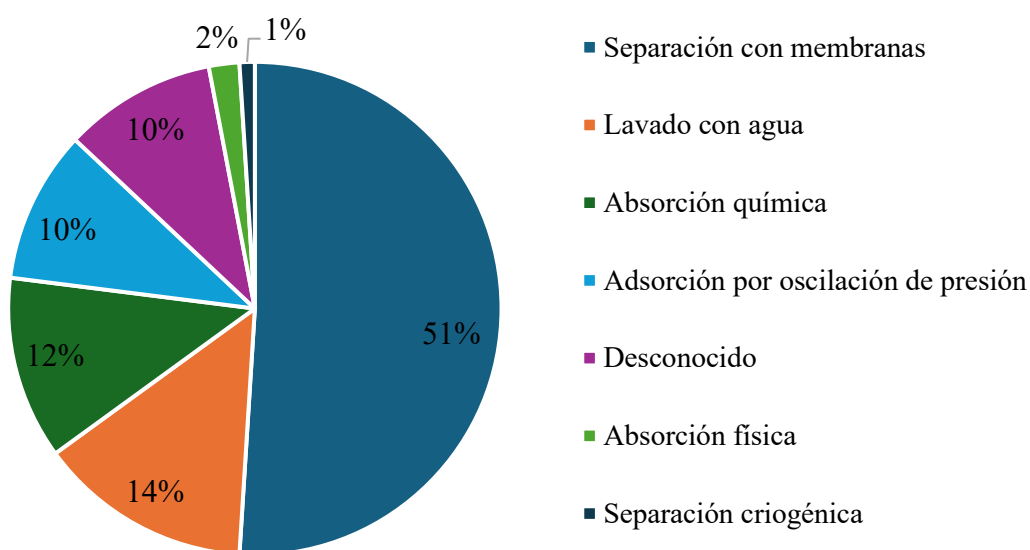


Figura 8. Distribución del uso de diferentes tecnologías de upgrading en Europa en 2022

En el contexto español, destaca la tecnología de *upgrading* mediante separación con membranas, utilizada en un 40% de las instalaciones, seguida por el lavado con agua con un 20% y la adsorción por variación de presión también con un 20%. El 20% restante corresponde a otras tecnologías para las cuales no dispone de datos específicos, de acuerdo con los informes de la Asociación Europea del Biogás (Ver Fig. 7).

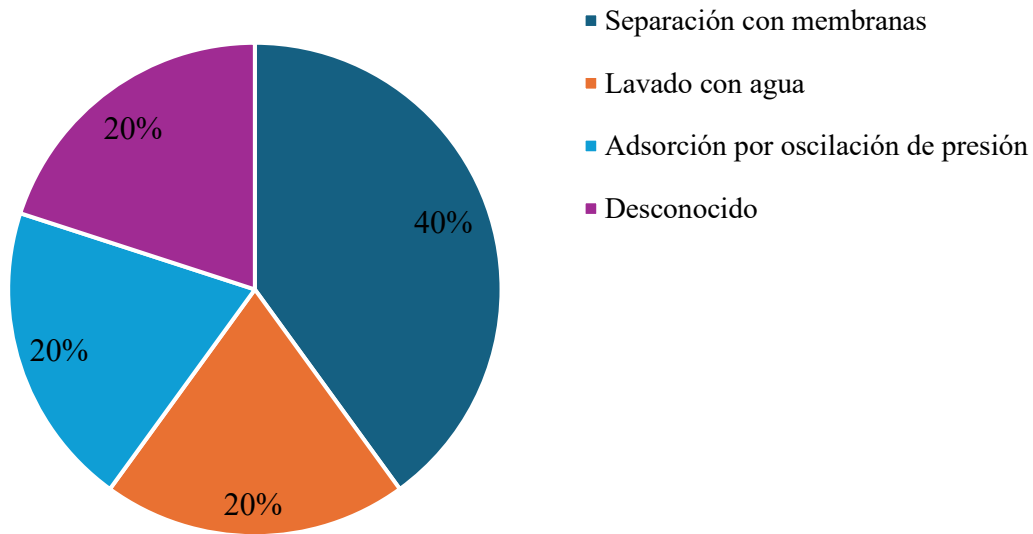


Figura 9. Distribución del uso de diferentes tecnologías de upgrading en España en 2022

1.3.1. Tecnologías fisicoquímicas

1.3.1.1. Separación con membranas:

En esta tecnología de *upgrading* se emplean membranas selectivas que permiten el paso de las moléculas de CO_2 y retienen las moléculas de CH_4 , ya que el CO_2 es más permeable que el CH_4 [31]. Este proceso puede llevarse a cabo mediante la separación gas-líquido utilizando alcanolaminas o soluciones acuosas alcalinas bajo condiciones atmosféricas de presión, o mediante la separación en múltiples etapas gas-gas con una presión entre 20 y 40 bar. Algunos autores han informado concentraciones del 98-99 % en sistemas gas-líquido y del 92-94 % en sistemas gas-gas [26], [32]. Sin embargo, esta tecnología conlleva algunos inconvenientes como: el alto costo de mantenimiento debido a la necesidad de reemplazar periódicamente las membranas y la pérdida de metano en los procesos de una sola etapa [26], [33].

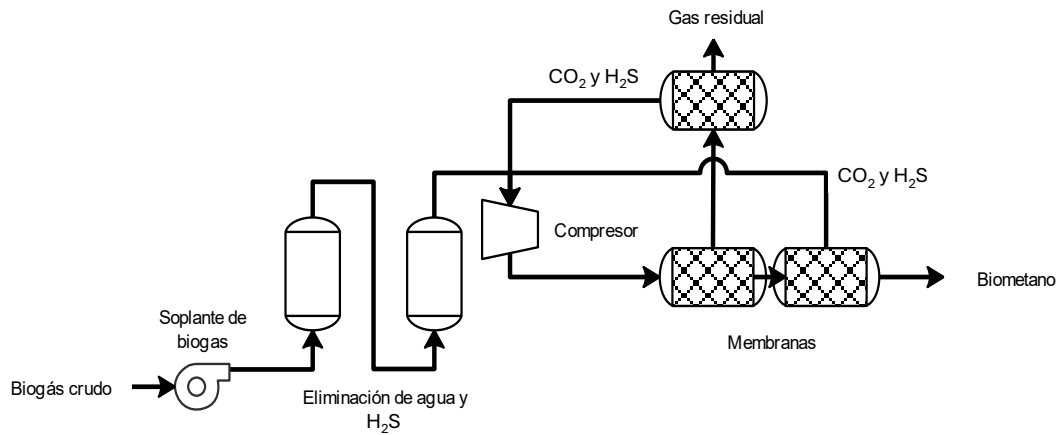


Figura 10. Separación con membranas.

1.3.1.2. Lavado con agua:

Esta tecnología se basa en la diferencia de solubilidad entre el CO₂ y el CH₄ en un medio acuoso, así como en la transferencia de masa gas-líquido. El CO₂ tiene una constante de Henry de $3,3 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1} \text{ atm}^{-1}$, significativamente mayor que la del CH₄, que es de $1,4 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1} \text{ atm}^{-1}$, lo que lo hace más soluble. El biogás se introduce por la parte inferior de una columna de absorción donde se introduce agua por la parte superior a presión (entre 6 y 10 bar) en contracorriente [34]. El agua cargada con CO₂ y H₂S luego se lleva a una columna de lavado, donde se disminuye la presión (entre 2,5 y 3,5 bar) para recuperar trazas de CH₄ disuelto en el agua. Si se emplea agua limpia, el proceso incluye un paso adicional: el agua se hace pasar por una columna de desorción, donde se produce la eliminación del CO₂ y H₂S utilizando aire para regenerar el agua [31].

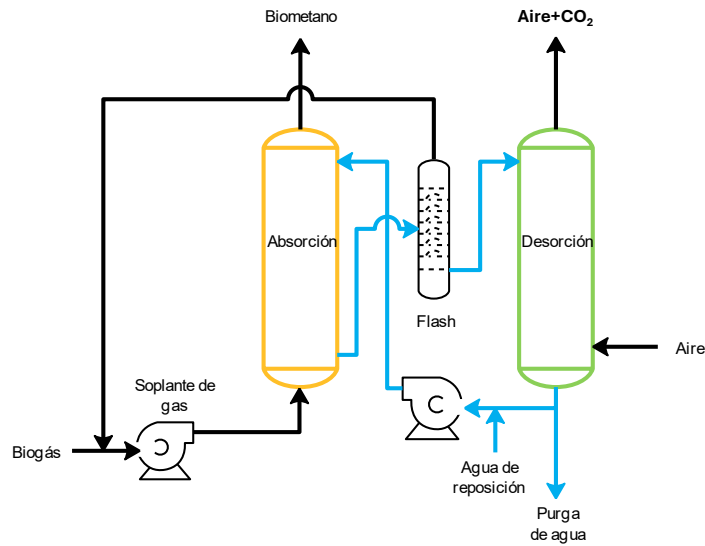


Figura 11. Lavado con agua

1.3.1.3. Absorción química:

Esta tecnología emplea el mecanismo de absorción selectivo de CO_2 , empleando un absorbente químico que consigue aumentar la eliminación de CO_2 comúnmente se emplea una base química de elevado pH con gran afinidad al CO_2 como: KOH , NaOH , K_2CO_3 , $\text{Fe}(\text{OH})_3$ o FeCl_3 . La presión de funcionamiento oscila entre (1 – 2,2) Bar [35]. El sistema es similar al del lavado con agua/orgánico, ya que emplea una disposición del flujo a contracorriente para la transferencia de masa líquido-gas. Está comprendido por una columna de absorción y otra de extracción, esta última trabaja a una temperatura de 120 – 160 °C. Por medio de esta tecnología se consiguen enriquecimientos del CH_4 de hasta el 96 – 99% de concentración [36].

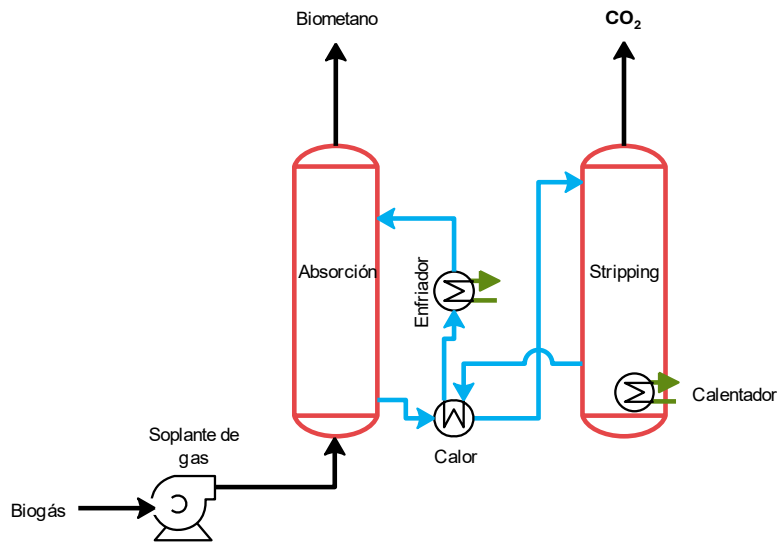


Figura 12. Absorción química.

1.3.1.4. Adsorción por oscilación de presión:

Esta técnica, también conocida como adsorción por cambio de presión (PSA), por sus siglas en inglés *Pressure Swing Adsorption*, se fundamenta en la captura selectiva de CO_2 mediante adsorbentes y la variación de la presión del gas [31]. La mayor afinidad del CO_2 por estos adsorbentes, junto con su menor tamaño molecular (0.34 nm) en comparación con el CH_4 (0.38 nm), posibilita su retención. Entre los adsorbentes más utilizados se encuentran el carbón activado, el gel de sílice, la zeolita, la alúmina activada y los polímeros, todos los cuales presentan una amplia superficie porosa. Los sistemas de purificación suelen constar de 4 columnas verticales rellenas del material adsorbente, que conforman las 4 etapas de funcionamiento: Adsorción, despresurización, regeneración o purga y presurización. La presión de funcionamiento oscila entre 3 y 8 bar y 50 a 60 °C. Se han registrado concentraciones máximas de CH_4 entre el 96% y el 98% en el biometano producido [31], [34]. Esta tecnología puede trabajar a un rango entre 10 y 10.000 $\text{m}^3 \text{h}^{-1}$ de caudal de biogás [37].

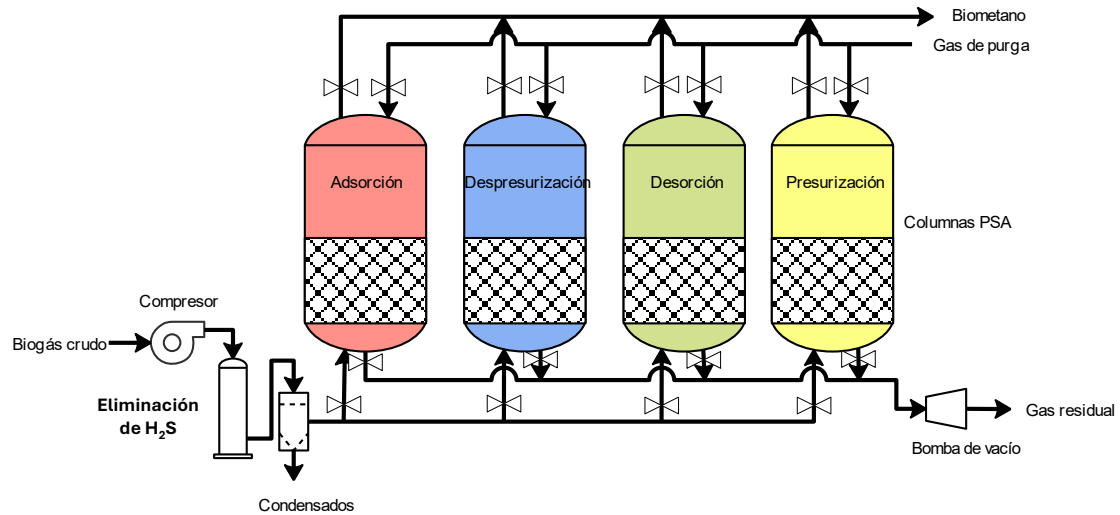


Figura 13. Absorción por oscilación de presión.

1.3.1.5. Lavado con disolventes orgánicos:

Este enfoque opera bajo el mismo principio que el lavado con agua, no obstante, la captura de CO_2 y H_2S no se lleva a cabo en una solución acuosa, sino a través de disolventes orgánicos, como las mezclas de metanol (CH_3OH) y ésteres de polietilenglicol (PEG). Estos disolventes, disponibles comercialmente como Genosorb y Selexol, son empleados en el proceso de purificación [38]. Durante esta depuración utilizando disolventes orgánicos, el biogás crudo es inicialmente comprimido a 6 - 8 bar y luego enfriado a 20 °C antes de ser inyectado por la base de la columna de absorción. El disolvente orgánico utilizado en la columna de absorción sale de la parte baja de la columna y se le aplica un intercambio de calor con el líquido orgánico que será introducido de nuevo en la parte superior de la misma columna. Posteriormente, este líquido orgánico es introducido en la torre de destilación *flash*, donde el CH_4 disuelto y una pequeña cantidad de CO_2 son liberados a presión reducida y recirculados de vuelta a la entrada del biogás. Tras el lavado, el disolvente orgánico utilizado suele ser regenerado calentándolo a 80 °C y despresurizándolo a 1 bar mediante el uso de una columna de desorción. Este disolvente regenerado se enfría hasta los 20 °C antes de ser inyectado por la parte superior de la columna de absorción, ya que la temperatura operativa puede influir en la constante de Henry, que regula la solubilidad de los gases [39].

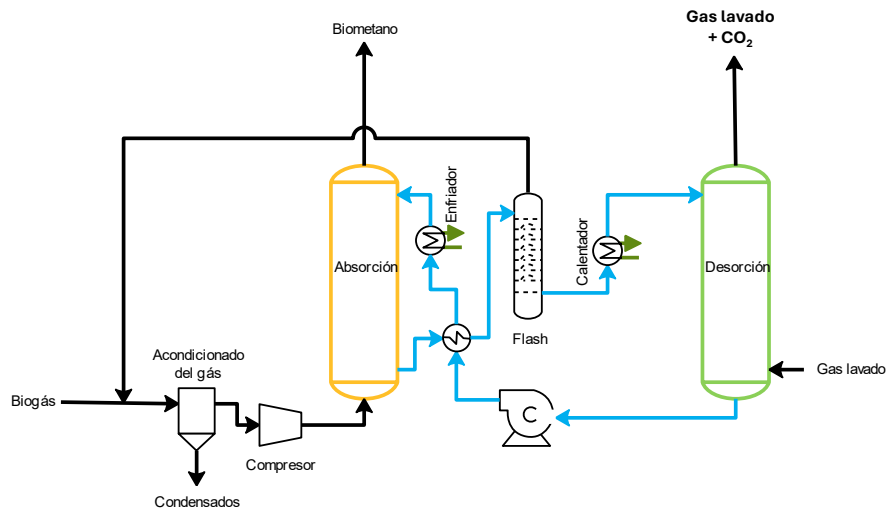


Figura 14. Lavado con solventes orgánicos.

1.3.1.6. Separación criogénica:

Este método tecnológico implica exponer el biogás crudo a temperaturas muy bajas con el propósito de separar de manera selectiva sus distintos componentes, los cuales tienen puntos de condensación diferentes. El punto de condensación del CO_2 es de $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, mientras que el del H_2S es de $60\text{ }^{\circ}\text{C}$, y el del CH_4 es de $-161\text{ }^{\circ}\text{C}$ [40]. Se aplica un aumento gradual de la presión al biogás hasta alcanzar los 80 bares, junto con una temperatura que oscila entre -45 y $-55\text{ }^{\circ}\text{C}$, con el fin de convertir el CO_2 en estado líquido. En una etapa posterior, se reduce la presión a 8-10 bares, al tiempo que la temperatura desciende a $-110\text{ }^{\circ}\text{C}$, logrando así que el CO_2 pase a estado sólido [40]. Este enfoque tecnológico permite alcanzar concentraciones de CH_4 entre el 97 % y el 98 % en el biometano obtenido [39]; [26], al mismo tiempo que se logra la eliminación simultánea del H_2S y el CO_2 . No obstante, su principal desventaja radica en su alto consumo energético, así como en los elevados costos asociados con la inversión y la operación.

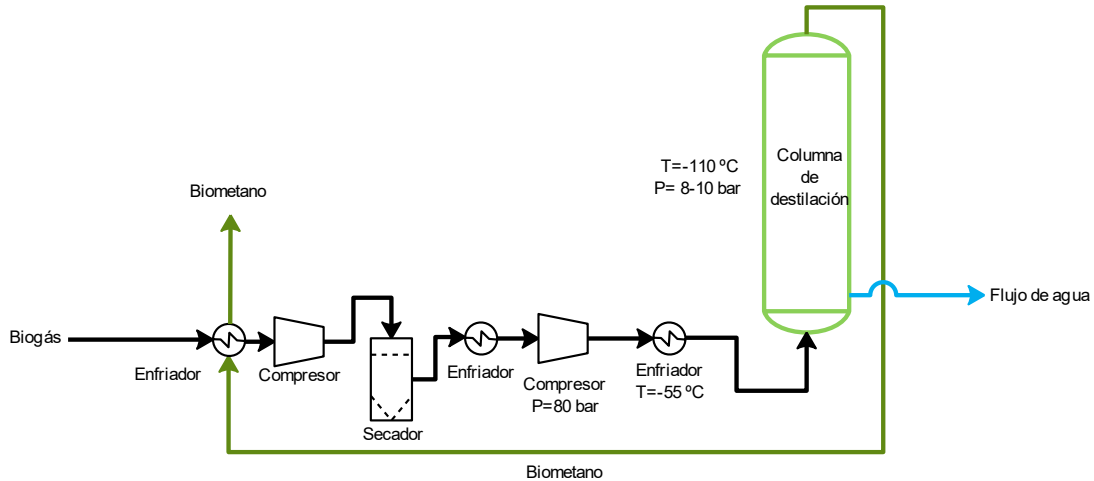


Figura 15. Separación criogénica

1.3.2. Tecnologías basadas en procesos biológicos

Los métodos de tratamiento de biogás biológicos representan una opción más sostenible en comparación con las tecnologías fisicoquímicas, además de ser más rentables económicamente. Esto se debe a que se usan procesos biológicos en los cuales los gases no deseados del biogás son eliminados en rutas metabólicas de organismos. Por tanto, no se consumen reactivos químicos ni importantes cantidades de energía en el proceso. Estas metodologías se encuentran actualmente en fase de desarrollo o han sido implementadas a escalas semi-industriales. Asimismo, presentan la ventaja de eliminar el CO₂ y el H₂S en un solo proceso, como es el caso del proceso de *upgrading* fotosintético.

1.3.2.1. Eliminación de CO₂

También es factible reducir la concentración de CO₂ en el biogás mediante procesos biológicos, aunque en la actualidad no existen tecnologías biológicas disponibles en el mercado. Las metodologías biológicas más destacadas que se encuentran actualmente en investigación y desarrollo son los procesos hidrogenotróficos del biogás y fotosintéticos.

1.3.2.1.1. Upgrading hidrogenotrófico:

El *upgrading* hidrogenotrófico del biogás consiste en la bioconversión del CO₂ en CH₄ mediante el uso de H₂ como donante de electrones según la siguiente reacción química [29]:



En este proceso intervienen microorganismos metanógenos hidrogenotróficos de los géneros: *Methanomicrobium*, *Methanobacterium*, *Methanoculleus* y *Methanothermobacter*. El procedimiento de transformación se lleva a cabo en reactores anaeróbicos especialmente diseñados para este propósito, donde se introduce H_2 y se ajusta el pH al nivel óptimo para el crecimiento bacteriano, con valores de pH de 6,5 y 8 para condiciones mesófilas y termófilas respectivamente. Para que esta tecnología sea ambientalmente sostenible, es fundamental que el origen del H_2 sea renovable, a través del proceso de hidrólisis del agua utilizando fuentes de electricidad como la solar o eólica, entre otras [41]. Existen dos configuraciones distintas de reactores, tanto *ex situ* como *in situ*. La versión *in situ* implica la inyección directa de H_2 en el mismo reactor anaeróbico. El principal desafío de esta tecnología en desarrollo es la baja solubilidad del H_2 en la fase líquida del reactor, dado que este gas tiene una baja constante de Henry (K_h) de $8,5 \cdot 10^{-4} \text{ mol atm}^{-1} \text{ L}^{-1}$ a 20°C , lo que limita la transferencia de masa gas-líquido e impide el contacto con las arqueas hidrogenotróficas. Además, el pH del reactor aumenta debido a la eliminación del CO_2 [42]. En la versión *ex situ*, el H_2 se introduce en un reactor anaeróbico adicional diseñado para facilitar un mayor intercambio gas-líquido, lo que permite maximizar la eficiencia de conversión del CO_2 en CH_4 . Sin embargo, este sistema conlleva un costo adicional al incorporar otro biorreactor suplementario [43]. Se ha estudiado un proceso híbrido entre los dos sistemas mencionados anteriormente, en el cual parte del H_2 generado por hidrólisis se inyecta en el reactor anaeróbico para aumentar la concentración de CH_4 ; posteriormente, este biogás parcialmente mejorado se introduce en un segundo biorreactor al que también se le agrega H_2 para lograr un *upgrading* completo del biogás [39], [44].

1.3.2.1.2. *Upgrading* fotosintético o basado en microalgas

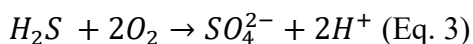
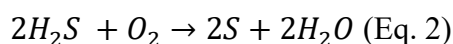
Este proceso se basa en el consumo de CO_2 por parte de organismos fotosintéticos microscópicos (denominados microalgas). Este grupo de organismos está compuesto por cianobacterias, clorofitas y otros microorganismos fotosintéticos, los cuales son principalmente unicelulares o filamentosos, con un tamaño pequeño, menor a 0,9 mm, característico del fitoplancton microscópico [45]. Esta tecnología ha sido objeto de estudio y desarrollo tecnológico en esta tesis doctoral por lo que se explica en detalle en el apartado 1.4 de la sección de introducción y los capítulos 5 y 6.

1.3.2.2. Eliminación de H_2S

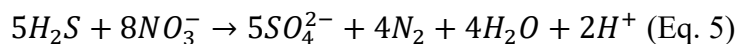
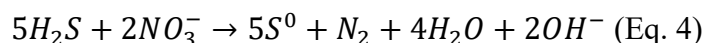
Es posible disminuir la presencia de H_2S en el biogás a través de la oxidación biológica que lo convierte en sulfato o azufre elemental. Las técnicas biológicas más ampliamente utilizadas incluyen la eliminación microaeróbica de H_2S *in situ* y el tratamiento biológico de H_2S mediante filtración [32].

1.3.2.2.1. Filtración biológica del H_2S :

Esta tecnología tiene dos variantes, la basada en la desulfuración aeróbica y anóxica del biogás. La desulfuración aeróbica del biogás implica el uso de una columna de biofiltración rellena con materiales estructurados o al azar, como espuma de poliuretano o anillos *Pall* fabricados en polipropileno, que promueven un crecimiento efectivo de la biopelícula. Estas columnas funcionan con una fase acuosa recirculante que contiene los nutrientes vitales requeridos para el desarrollo de las bacterias que oxidan el azufre. Estas bacterias utilizan: el H_2S como fuente energética, el O_2 como aceptor de electrones y el CO_2 como fuente de carbono (Eq 2) [32], [46]. En la columna, el biogás se mezcla con una cantidad de aire controlada inyectado por bombeo. Además, se riega la columna periódicamente para proporcionar nutrientes y humedad a las bacterias [47].



La biofiltración anóxica se basa en la oxidación del H_2S mediante la reducción de nitratos, actuando estos como aceptores de electrones para oxidar completa o parcialmente el H_2S según las ecuaciones 4 y 5 [48].



De esta forma se consigue también eliminar la concentración de nitrógeno disuelto en los digestatos mediante la desnitrificación [48].

1.3.2.2.2. Eliminación microaeróbica de H_2S *in situ*

Esta tecnología implica la inyección controlada de O_2 en el digestor durante la producción de biogás. La inyección puede llevarse a cabo de varias maneras: en el espacio en la parte superior del digestor anaerobio, en el digestato o en el biogás recirculado, con una concentración de O_2 que varía según el tiempo de residencia del gas y el porcentaje de

H₂S presente en el biogás [32]. Independientemente de donde se inyecte el O₂, la desulfuración se produce en el espacio en cabeza del reactor [49]. La dosificación controlada de O₂ en el digestato mejora la descomposición de la materia orgánica, lo que a su vez aumenta la producción de metano. La selección del punto de dosificación, así como la geometría del espacio en la parte superior del digestor puede afectar al flujo de biogás y a la eficiencia en el proceso, por tanto, puede influir en la producción de metano [50]. Gracias a la actividad de bacterias oxidantes de sulfuro (SOB) se consigue la oxidación del H₂S a azufre elemental [50]. La aplicación de pequeñas dosis de oxígeno no afecta de forma negativa en la actividad de las bacterias anaerobias ya que se consume rápidamente y de forma completa [51]. Con esta tecnología no es necesaria la instalación de un sistema de desulfuración adicional. No obstante, conlleva un mayor mantenimiento del digestor debido a la acumulación de azufre elemental en sus paredes. Por otro lado, se están encontrando soluciones mediante la instalación de objetos de sacrificio para fomentar el desarrollo de biopelículas en dichos objetos en lugar de en las paredes del biorreactor. [50]. El rendimiento de eliminación de H₂S puede llegar a 97%, empleando tiempos de residencia de 5 h. La tasa de O₂ de entrada frente a producción de biogás es ajustable pudiendo variar entre 0,3 y 3 % [26].

1.4. *Upgrading* fotosintético del biogás

A través del proceso de limpieza del biogás mediante cultivos de microalgas y bacterias, se logra aumentar la concentración de metano al mismo tiempo que se eliminan tanto el CO₂ como el H₂S en una única etapa. La asimilación del dióxido de carbono en forma de biomasa de las microalgas hace que sea un proceso sostenible y totalmente neutro en emisiones de gases de efecto invernadero [52], [53], [54].

1.4.1. Fundamentos

Las microalgas absorben CO₂ como fuente de carbono para su crecimiento, resultando en una gran disminución de la concentración de CO₂ presente en el biogás. Además, la concentración de H₂S se reduce mediante oxidación biológica a sulfato o azufre elemental utilizando las altas concentraciones de oxígeno disuelto (OD) presentes en el caldo de cultivo generado por la actividad fotosintética. [55], [56]. El proceso de consumo de H₂S se lleva a cabo por bacterias aerobias que viven en simbiosis con los microorganismos fotosintéticos. La mejora o *upgrading* del biogás con microalgas, también denominado fotosintético, se ha investigado y demostrado principalmente en fotobiorreactores de

diferentes escalas y dimensiones, siendo los más comunes los abiertos, como los estanques de algas de alta tasa, conocidos como *High Rate Algae Ponds* (HRAP). Estos sistemas presentan un fácil diseño, mientras que los costes materiales, de construcción y funcionamiento son económicos. Resultando en un bajo coste de inversión respecto a otras tecnologías [52], [57]. Después de la disolución del CO_2 y el H_2S el gas resultante "biometano", está compuesto por un 95 a 97 % de metano (CH_4) y un 1 a 3 % de dióxido de carbono (CO_2) [52], [58].

Como ya se comentó anteriormente, el biometano puede utilizarse como alternativa al gas natural, lo que resulta más beneficioso para el medio ambiente. Tras la eliminación de CO_2 y H_2S en el biogás, resulta en un aumento del poder calorífico de este biometano generado y, por tanto, reduce los costes de transporte y evita la corrosión que se produce por el uso de biogás bruto en: tuberías, motores o compresores producida por el H_2S [26].

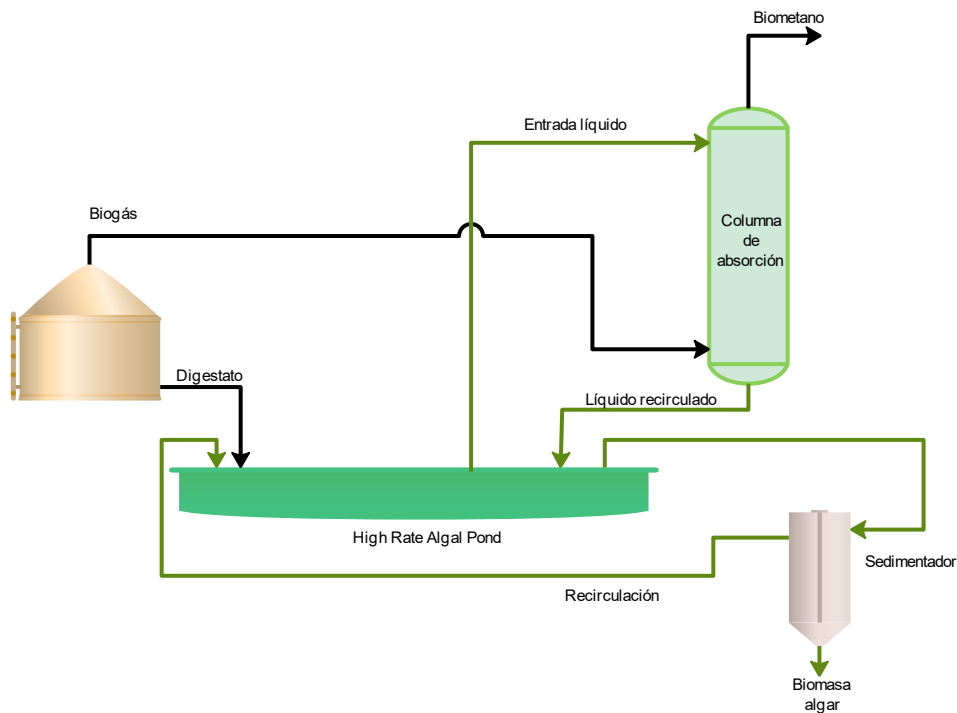
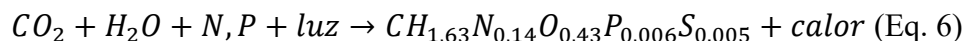


Figura 16. Upgrading fotosintético.

El dispositivo que permite el contacto entre el cultivo de microalgas más utilizado son las columnas de absorción acopladas a los HRAP o raceways. El biogás bruto entra en este equipo y las algas absorben el CO_2 y el H_2S , obteniendo un biometano enriquecido. Las microalgas se dirigen de nuevo al fotobiorreactor para fijar el CO_2 en su biomasa algal

mediante el proceso redox conocido como fotosíntesis, según se muestra la siguiente ecuación (6) [52], [53], [58].



El H_2S también se elimina del biogás en la columna de absorción, de hecho, es 3 veces más soluble que el CO_2 . Por tanto, la concentración de ambos compuestos se reduce en el mismo proceso. El H_2S que se ha disuelto se oxida en el caldo de cultivo gracias al oxígeno producido por las microalgas durante la actividad fotosintética pasando a SO_4^{2-} . Las bacterias oxidantes del azufre (SOB) aprovechan la elevada concentración de oxígeno disuelto en el caldo de cultivo para oxidar el H_2S en SO_4^{2-} . La ecuación estequiométrica del proceso descrito se puede expresar de la siguiente forma.



Figura 17. Columna de absorción.

Para el desarrollo de la biomasa algar se necesita que el agua de cultivo disponga de los nutrientes esenciales, estos son: Carbono inorgánico (CI), nitrógeno total (NT), nitrógeno inorgánico en forma de NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- , fósforo en forma de fosfatos PO_4^{3-} y otros elementos. El aporte de estos nutrientes se puede conseguir de forma sostenible y económica mediante el uso de aguas residuales, de origen doméstico, agroindustrial, o efluentes de la propia digestión anaerobia conocido como digestato. Estos presentan alta concentración de nutrientes y materia orgánica que le confiere una coloración oscura. Varias experiencias documentadas en el desarrollo de la tecnología del *upgrading*

fotosintético en escala laboratorio y semi-industrial han utilizado digestato como aporte de nutrientes. Como en el trabajo de [59] que utiliza aguas residuales domésticas, con una concentración de DQO $782,42 \text{ mg L}^{-1}$ TN $310,87 \text{ mg L}^{-1}$ PT $42,19 \text{ mg L}^{-1}$ N- NO_3^- $15,8 \text{ mg L}^{-1}$ P- PO_4^{3-} $2,65 \text{ mg L}^{-1}$. También, Zhuang et al. (2023) [60], utilizaron un conjunto de aguas residuales urbanas cuya concentración es: DQO (50-65) mg L^{-1} , N- NH_4^+ (3-5) mg L^{-1} , NT (15-25) mg L^{-1} , PT (0,5-1) mg L^{-1} . [61] utilizaron aguas residuales de granjas con los siguientes parámetros: pH ($8,2 \pm 0,5$), $\text{CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ (1400 ± 53), SST ($290 \pm 50 \text{ mg L}^{-1}$), DQO ($3400 \pm 280 \text{ mg L}^{-1}$), DQO disuelta ($3000 \pm 8 \text{ mg L}^{-1}$), N- NH_4^+ ($790 \pm 10 \text{ mg L}^{-1}$). Estos efluentes orgánicos presentan una coloración oscura por lo que se suele aplicar dilución para reducir la turbidez y aumentar la transmitancia de luz que facilita el crecimiento de las microalgas [62], [63], [64].

En cuanto a los sistemas destinados a la producción de biomasa algal, existen diferentes propuestas tecnológicas: fotobiorreactores abiertos como los HRAP [52], [65]. O fotobiorreactores cerrados PBR, como los de columna de burbujas o tubulares horizontales o de panel plano [53]. La configuración más común descrita en la bibliografía especializada consiste en una columna de absorción conectada a un estanque de canal abierto de alto rendimiento (HRAP), para el cultivo de microalgas [52], [66], [67], [68]. Un ejemplo a escala real de esta configuración es la planta demostrativa de limpieza fotosintética de biogás utilizada en el proyecto LIFE SMART AgroMobility [69]. La profundidad de cultivo en estos estanques suele oscilar entre 0,15 y 0,45 metros, siendo lo normal 0,3 m [70], [71], [72]. La escasa profundidad de estas balsas tiene como objetivo el optimizar la penetración de la luz y evitar la sedimentación de la biomasa algal [73]. Para proporcionar la agitación se aplica movimiento gracias a una rueda de palas la cual proporciona velocidad lineal al cultivo, el cual fluye por el canal a una velocidad que suele variar entre los 0,15 a $0,3 \text{ m s}^{-1}$ [72].



Figura 18. Rueda de palas en HRAP.

Para la recirculación del cultivo de microalgas desde la balsa hasta la columna y el retorno de columna a balsa se realiza por bombeo. Con este diseño se maximiza la eliminación de dióxido de carbono (CO_2) y sulfuro de hidrógeno (H_2S) del biogás, al mismo tiempo que se favorece el desarrollo del cultivo. Esta solución suele ser la más económica ya que los costes de inversión son bajos y por consiguiente es la alternativa más popular. La concentración de biomasa algar que puede contener el líquido del cultivo en los HRAP varía desde 0,3 hasta 1,2 g SST L^{-1} siendo más baja que la concentración que pueden contener los fotobiorreactores cerrados (2 - 8 g SST L^{-1}). En cuanto a la tasa de producción diaria en los HRAP puede variar entre (60 -100 mg $\text{L}^{-1} \text{ día}^{-1}$) o (5 a 40 g $\text{m}^{-2} \text{ día}^{-1}$) dependiendo de las especies de algas y los factores ambientales [71], [72]. La instalación de reactores tipo HRAP tienen un coste de instalación de 6000 € $\text{m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ y un coste operativo de 0,03 € Nm^{-3} biogás tratado según los estudios publicados por [74][75]. Sin embargo, no existen estudios comparativos de costes basados en instalaciones a escala industrial o sistemas demostrativos, a excepción de los mostrados en esta tesis doctoral y las publicaciones adjuntas. En cuanto a los inconvenientes, se requiere una gran superficie para la instalación, hasta 600 m^2 por cada unidad de caudal de biogás ($\text{Nm}^{-3} \text{ h}^{-1}$) y la evaporación del agua de cultivo es elevada [74]. Estos sistemas suelen estar provistos de un sedimentador para la cosecha de la biomasa algar. Este sedimentador se conecta con el HRAP, bombeando el agua con microalgas del HRAP hacia la parte superior del sedimentador. Las microalgas se decantan y se extraen por la parte inferior del sedimentador [76].

Capítulo 1

Los fotobiorreactores cerrados tipo tubulares (TPBR) constan de un sistema de tubos interconectados, con un diámetro entre 30 y 120 mm. El material suele ser polietileno de alta transparencia o vidrio, ya que posee una alta transmisión $>90\%$, no corrosivo y resistente a un rango entre 3 y 14 pH. El control del caudal de flujo se realiza por bombeo, ajustándose entre $0,2$ y 1 m s^{-1} . Para diámetros superiores a 60 mm se consideran PBR de tipo columna [77]. Estos generan una alta transferencia de masa, son compactos y se consigue una buena mezcla. El principal inconveniente es que la propia biomasa genera autosombreado y por tanto se necesita iluminación interior, además la biomasa queda adherida en la pared interna reduciendo la penetración de la luz, resultando en costes adicionales en su mantenimiento. Los reactores de placa plana suelen estar formados por fibras flexibles que actúan como soporte de la biopelícula, las cuales proporcionan una gran superficie específica y alta capacidad de adsorción. Estos haces de fibra facilitan la recolección de la biomasa adherida de una forma sencilla [78].

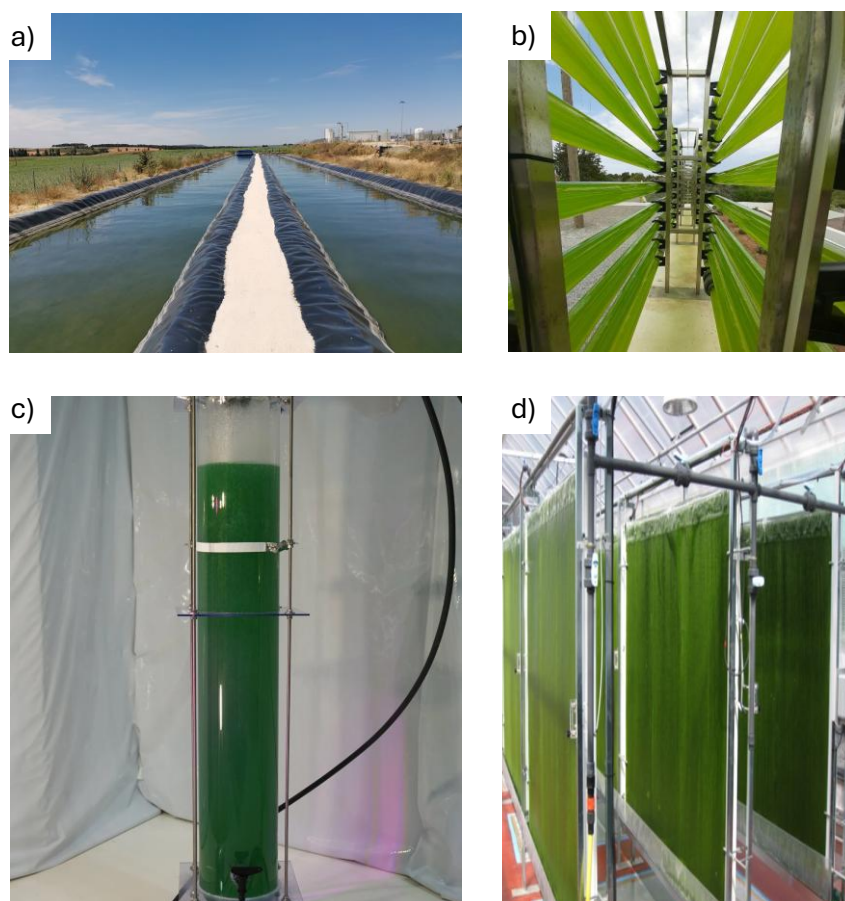


Figura 19. a) fotobiorreactor abierto HRAP, b) fotobiorreactor cerrado tubular TPBR, c) fotobiorreactor cerrado de columna, d) fotobiorreactor cerrado de placa plana [79].

1.4.2. Las aguas residuales y digestatos como medio de cultivo de microalgas

Los cultivos de microalgas se han usado como sistema de depuración de aguas residuales, centrándose casi todos los estudios en aguas domésticas y urbanas [80], [81]. Al igual que ocurre con las tecnologías de *upgrading* fotosintético, al estar basados en la reacción de la fotosíntesis, estos procesos presentan unos costes de operación bajos en comparación con los sistemas convencionales [74], [75]. Estos microorganismos fotosintéticos oxigenan el medio de cultivo lo que favorece el crecimiento de bacterias simbiotas que consumen la materia orgánica, además asimilan una gran cantidad de nutrientes (N y P) creando unos efluentes con bajos niveles de contaminación. Las condiciones creadas por las microalgas favorecen la disminución o incluso desaparición de los organismos patógenos. Por tanto, estos sistemas se usan como tratamientos destinados a la reutilización de aguas residuales en aguas regeneradas [80], [81]. Existen pocos estudios enfocados en la reducción de contaminantes presentes en aguas residuales ganaderas con el objetivo de su reutilización en zonas de alto consumo hídrico, como las áreas rurales. En estos entornos, su uso principal se destina al riego de cultivos [82]. Por ello, el **Capítulo 4** de la presente tesis se dedica al estudio del uso de microalgas como alternativa biológica para la depuración de aguas residuales procedentes del porcino. Las aguas residuales urbanas, junto con las generadas por la industria agroalimentaria y los efluentes procedentes de la digestión anaerobia, conocidos como digestatos, presentan elevadas concentraciones de materia orgánica y compuestos cromóforos, como los ácidos húmicos y fúlvicos [83]. Asimismo, muestran una demanda química de oxígeno (DQO) significativa, así como una alta carga de compuestos de carbono, tanto orgánicos como inorgánicos, y nutrientes esenciales como nitrógeno y fósforo. Estas aguas también contienen una elevada concentración de patógenos, incluidos *Escherichia coli* y otros coliformes, lo que representa un riesgo sanitario si se utilizan en actividades como el riego de cultivos destinados al consumo humano, pudiendo provocar enfermedades en la población [84], [85]. Además, es fundamental eliminar estos contaminantes de las aguas residuales antes de su vertido en los ecosistemas acuáticos para evitar problemas ambientales como la eutrofización originada por la disminución del oxígeno disuelto y la muerte de organismos acuáticos [86], [87], [88]. Actualmente, se presta especial atención

a la eliminación y recuperación de estos contaminantes presentes en las aguas residuales, así como a la reutilización de dichas aguas para riego y baldeo. Los primeros tratamientos de depuración se implementaron en el siglo XX. Las tecnologías utilizadas, como las estaciones depuradoras de aguas residuales (EDAR), suelen ser costosas y no resultan competitivas en escalas reducidas. Por esta razón, en los últimos años se han investigado alternativas que ofrezcan una depuración integral, más eficiente y de menor coste [89]. Una alternativa más eficiente y respetuosa con el medio ambiente es la fitorremediación mediante microalgas [81]. Estas se adaptan a medios de cultivo basados en aguas contaminadas con nutrientes y patógenos, además, tienen la ventaja de fijar CO₂ en su biomasa. Su aplicación es especialmente adecuada en la fase final de los tratamientos terciarios en las estaciones depuradoras de aguas residuales (EDAR), ya que permite la eliminación simultánea de nitrógeno y fósforo sin necesidad de añadir carbono orgánico. El oxígeno generado durante la fotosíntesis actúa como agente oxidante, facilitando la eliminación de amonio y compuestos orgánicos a través de la acción de bacterias. Además, la biomasa resultante contiene productos de alto valor, como lípidos o proteínas [86], [89]. Los digestatos derivados de la digestión anaerobia son los lodos más empleados como medio de cultivo para microalgas, gracias a su pH elevado, que oscila entre 8 y 10, y a su alta alcalinidad. Además, estos digestatos presentan un contenido significativo de nitrógeno y fósforo, que varía según los parámetros operativos del digestor, en comparación con las aguas residuales urbanas, que contienen una menor carga de nutrientes.

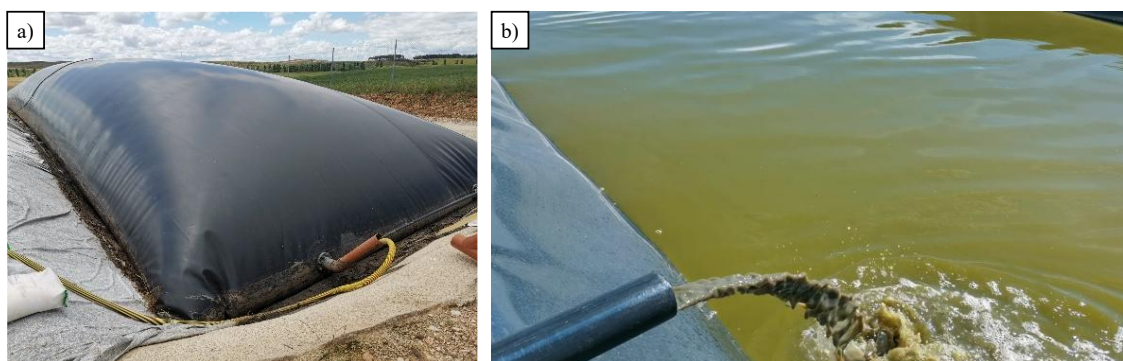


Figura 20. a) digestor anaerobio del proyecto LIFE SMART AgroMobility. b) aplicación de aguas residuales en cultivo de microalgas.

1.4.3. Pretratamiento de aguas residuales para el cultivo de microalgas

Como se ha mencionado en el punto anterior, los digestatos pueden emplearse como sustrato, aportando nutrientes para el cultivo de microalgas. Sin embargo, suelen presentar un alto contenido de amoníaco y una elevada turbidez [90], lo que puede dificultar su crecimiento. El nitrógeno en forma de NH_4^+ es asimilable por estas microalgas; sin embargo, cuando el pH supera el valor de 8, pasa a predominar la forma NH_3 [91]. Es importante tener en cuenta que la concentración de amoníaco puede resultar tóxica cuando supera los 100 mg L^{-1} , produciendo inhibición en el crecimiento [92]. Además, la turbidez impide la penetración de la luz solar en las balsas de algas, lo que limita la actividad fotosintética provocando un bajo desarrollo de estos microorganismos [93]. El procedimiento más común consiste en diluir el digestato con agua dulce o en reducir la tasa de entrada del digestato a la balsa de microalgas [94]. Sin embargo, el elevado volumen de los fotobiorreactores requiere una gran cantidad de agua dulce, lo que compromete la viabilidad económica y ambiental del sistema [63]. Esto ha motivado el desarrollo de técnicas de pretratamiento destinadas a la eliminación de turbidez previamente al cultivo. Actualmente, se están desarrollando métodos para el pretratamiento de digestatos que permitan reducir eficazmente la cromaticidad y eliminar compuestos recalcitrantes. Entre ellos destaca el pretratamiento mediante ozonización, analizado en el **Capítulo 3** de esta tesis, el cual ha demostrado ser una estrategia eficaz para la disminución del color y ha mostrado resultados prometedores en el crecimiento de microalgas [88], [90], [95]. Los pretratamientos se pueden clasificar en: físicos, químicos y biológicos. Los pretratamientos físicos más utilizados son: Adsorción, filtración, centrifugación y destilación. Los químicos son: ozonización, *stripping* del amonio, coagulación/ floculación, tratamientos de oxidación con peróxido de hidrógeno, precipitación con estruvita. Y los biológicos: Oxidación biológica, y pretratamiento con bacterias autóctonas.

1.4.3.1. Pretratamientos físicos

- **Adsorción:** Para reducir la turbidez y el contenido de nitrógeno amoniacal del digestato se emplean adsorbentes como el carbón activado o la zeolita. Según [96] se consigue reducir la densidad óptica un 88% al aplicar 40 g L^{-1} de carbón activado durante un tiempo de contacto de 10 min. No se considera necesaria la dilución del digestato resultante para el cultivo de microalgas. En otro estudio [97] aplican zeolita natural como adsorbente de esta forma se reduce la concentración inicial de nitrógeno amoniacal de 1180 mg L^{-1} a 10 mg L^{-1} , lo que permite el crecimiento de las microalgas sin que se produzca una inhibición

inicial, y liberando el nitrógeno amoniacal de forma lenta a lo largo del ensayo, de esta forma las microalgas lo asimilan de forma gradual, logrando un crecimiento de 1500 mg biomasa L⁻¹ aplicando 60 mg zeolita L⁻¹. Por el contrario, no se produjo crecimiento en el digestato sin tratar. Existen pocos estudios sobre adsorción, siendo necesario un mayor conocimiento de los mecanismos que intervienen en la adsorción: Relleno de poros, la interacción hidrofóbica y electrostática, enlace de hidrógeno.

- **Filtración:** El proceso más común es la ultrafiltración del digestato por filtros de fibra de acetato de celulosa de 0,45 µm, es necesaria una dilución previa o posterior a la filtración. Se han desarrollado varios estudios basados en nanofiltración para el cultivo de microalgas. Como el de [98] que utilizaron digestato ultrafiltrado en un cultivo mixto, sin conseguir eliminar el color marrón oscuro del digestato, por lo que fue necesario la dilución de este para favorecer la penetración de la luz. Otro ensayo [99] diluyeron 1:10 el digestato seguido de ultrafiltración, consiguiendo un aumento significativo en la producción de biomasa algal. Consiguiendo para *Chlorella vulgaris* 98 a 539 millones de células ml⁻¹. En el estudio de [100] el digestato se diluyó con agua destilada a concentraciones de (2,5%, 5%, 10%, 15%), 20% previamente a la fase de ultrafiltración. Este proceso dio como resultado un digestato casi transparente, logrando un mejor crecimiento con dilución de 2,5%, ya que a mayor dilución se produce una eliminación de fosfatos, lo que ocasiona un aumento en la relación N:P. que puede perjudicar en el correcto desarrollo algal [100].

- **Centrifugación:** Mediante este pretratamiento se consigue una eliminación más eficiente de sólidos, DQO y amoniacal en el digestato. Se investigó sobre este proceso [101] sin conseguir un incremento en el desarrollo de las microalgas, ni aun diluyendo 1:5. Sin embargo se consiguió un incremento cuando se aplicó cal y cloruro de hierro como agente precipitante antes de la centrifugación. [102] realizaron un estudio utilizando centrifugación a alta velocidad con fuerzas de 15000 G, mediante este proceso se consigue reducir la densidad óptica de 0.544 a 0.045 a 680 nm. En el estudio de [99] se reporta un mayor crecimiento de *Chlorella vulgaris* en el digestato centrifugado 479 millones de células ml⁻¹ con respecto al sin centrifugar 98 millones de células ml⁻¹. La centrifugación del digestato previamente diluido 1:5 se realizó a 5000 rpm durante 5 min. También en el trabajo de [103] se observó una reducción de la DQO y del nitrógeno en un 42% al centrifugar el digestato a 5000 rpm durante 5 min.

- **Destilación:** Es necesaria una investigación más profunda sobre este pretratamiento de digestatos. A primera vista, este método se presenta como una opción prometedora, ya que ofrece la ventaja de requerir una menor dilución en comparación con la centrifugación, así como un menor consumo energético y una operación más sencilla. Además, permite recuperar el nitrógeno del digestato transfiriéndolo en forma de amoníaco a la fase vapor mediante un control adecuado.[104]. En un ensayo comparativo entre la destilación y la centrifugación [103] se requirió menor dilución para el crecimiento algar de *Clorella vulgaris* y *Arthrospira platensis* en el digestato destilado 1:2 que en el digestato centrifugado 1:10. En ambos procesos se consigue una eliminación del 42% de nitrógeno total.

1.4.3.2. Pretratamiento químico

- **Ozonización:** El ozono es un oxidante muy potente que sirve para el tratamiento de efluentes como aguas residuales de la industria, la ganadería y los digestatos [105], [106]. La acción oxidante reduce la coloración y favorece la transmitancia de la luz en el digestato para adecuarlo al cultivo de microalgas. El mecanismo de este tratamiento se basa en la capacidad que tiene el ozono para la ruptura de los enlaces entre átomos de carbono (C=C). Transformando los compuestos orgánicos de alto peso molecular en compuestos con menor peso. De esta forma se reduce su coloración, pasando de tonalidades oscuras a pálidas [107]. Se han probado digestatos tratados con ozono para caldo de cultivo de microalgas. Como en el caso de [83] que aplicaron una dosis de 1.1, 1.6, y 2.1 mg O₃ mg C⁻¹ durante 10, 15, 20 min en digestato anaerobio de purín de cerdo, el cual mejoró la transmitancia del 4% al 51%, logrando una mejora en el crecimiento de biomasa algar de 1000 mg L⁻¹ a 3000 mg L⁻¹. También [107] estudiaron la aplicación de ozono en dosis entre 0.3 a 12 mg O₃ mg C⁻¹ alcanzando un máximo de producción de biomasa 4300 mg L⁻¹ cuando se aplicó 2 mg O₃ mg C⁻¹. Para mayores dosis de ozono 12 mg O₃ mg C⁻¹ no se consigue mayor producción de biomasa, 3700 mg L⁻¹. Por tanto, la dosis adecuada se encuentra próxima a 2 mg O₃ mg C⁻¹ para conseguir un mayor rendimiento en el desarrollo de la biomasa de microalgas [83]. Otros estudios recomiendan el uso de 2 mg O₃ mg DQO⁻¹ [108], [109]

- Extracción de amoníaco:

La concentración de amoníaco en el digestato puede reducirse mediante burbujeo de aire, extrayendo parte del amoníaco disuelto y rompiendo el equilibrio entre el amoníaco

ionizado y el disuelto. A medida que disminuye la concentración de amoníaco disuelto, una fracción del amoníaco ionizado se convierte en su forma disuelta, lo que facilita su eliminación y contribuye a la reducción del amonio total [110]. Según lo reportado por Li et al (2019), el tratamiento con un caudal superior a 6 L min^{-1} no fue eficiente económicamente. En algunos ensayos realizados a escala laboratorio, se utilizó biochar fabricado a partir de biomasa para eliminar la concentración de amoníaco de la fase líquida del purín de cerdo, logrando eliminaciones del 60 % [20]. Otros trabajos han reportado una mayor eliminación aplicando carbón activado, logrando una reducción del 97 % [111].

- Coagulación/ floculación:

A través de la coagulación y floculación de los sólidos suspendidos en el digestato, se logra reducir su turbidez, lo que favorece una mayor penetración de la luz y, en consecuencia, un mejor desarrollo de las microalgas. Algunos autores han demostrado eliminación de DQO, fósforo total, sólidos suspendidos totales, y color en un 28.4 %, 53.1 %, 78.4 %, 41.5 % respectivamente, mediante electrocoagulación a partir de un campo eléctrico débil de 1.7 V cm^{-1} , un pH 8.6, una temperatura entre 30 y 35 °C [112]. En otros estudios, se han aplicado agentes floculantes orgánicos e inorgánicos, como el cloruro de polialuminio y la poliacrilamida aniónica, logrando una reducción del 35 % en la DQO, del 58,57 % en los SST, del 10 % en el amoníaco y del 55,28 % en la cromaticidad del digestato [19]. Otros autores han señalado que los floculantes biológicos naturales pueden ser una opción efectiva para reducir la coloración. Además, los lodos generados pueden utilizarse como fertilizantes naturales sin causar efectos perjudiciales al medio ambiente, a diferencia de los coagulantes sintéticos [113].

- Oxidación con peróxido de hidrógeno:

Además del ozono, se está estudiando el empleo de peróxido de hidrógeno como agente oxidante para el pretratamiento del digestato anaeróbico; no obstante, la oxidación con peróxido por sí sola no suele ser efectiva [114]. Se han realizado ensayos combinando peróxido de hidrógeno con luz ultravioleta. El problema es la presencia de peróxido residual en el digestato tratado que puede ocasionar toxicidad en las células de microalgas. Huo et al. (2021) [115] realizó un estudio en el que aplicaron un método de electrocoagulación Fenton combinado con peróxido de hidrógeno. Los resultados mostraron que, al superar una dosis de $150 \text{ mg H}_2\text{O}_2 \text{ L}^{-1}$, la eficiencia del proceso para

eliminar la turbidez del digestato disminuye, además de acumularse una concentración residual de H_2O_2 .

- **Precipitación con estruvita:**

Recientemente, la estruvita ha sido estudiada como una alternativa para la recuperación de contaminantes en aguas residuales, especialmente fósforo y nitrógeno. A continuación, se presentan algunos estudios que han evaluado el cultivo de microalgas en aguas tratadas con estruvita: [116] en el que se agregaron fuentes de magnesio y fósforo, consiguiendo un aumento de la transmitancia del 0.11 al 80 %, se consiguió eliminar el 90 % del nitrógeno, incrementando la producción de biomasa algar de $161,06 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$. En un estudio [117] se empleó únicamente magnesio para inducir la precipitación de estruvita en el digestato, logrando una reducción en la coloración del 16 %, así como en las concentraciones de NH_4^+ 44 % y PO_4^{3-} 92 %. La relación molar N/P pasó de 2.1 a 14.4 tras el pretratamiento, acercándose a la relación óptima (16). Al aplicar una dilución 1/2 al digestato tratado, se observó que el crecimiento fue cinco veces mayor con el digestato tratado en comparación con el no tratado.

1.4.3.3. Pretratamiento biológico

- **Oxidación biológica:**

La oxidación biológica por contacto es un proceso que consiste en la aireación del digestato para promover la nitrificación del amonio a través de la actividad de bacterias nitrificantes, facilitando así su eliminación. Zhou et al. (2019) [16] llevó a cabo un experimento a escala de laboratorio en el que combinó el pretratamiento de oxidación biológica con floculación, logrando una reducción del 40 % en la concentración de NH_4^+ . Sin embargo, al aplicar la misma técnica a escala piloto, la eliminación fue solo del 16 %, lo que se atribuyó a una aireación desigual y a variaciones de temperatura que pudieron haber afectado a la actividad de las bacterias nitrificantes. En otro estudio, [118] se empleó aireación con lodos activados y se utilizó el sobrenadante centrifugado para el cultivo de microalgas. Mediante el pretratamiento se consiguió una reducción del 99.8 % en la concentración de NH_4^+ , atribuida a la asimilación microbiana y a su nitrificación a NO_3^- . Además, la concentración de PO_4^{3-} disminuyó en un 24 %.

- **Pretratamiento con bacterias nativas.**

El efecto de las bacterias autóctonas puede manifestarse de diversas maneras: reduciendo la inhibición causada por la DQO y la turbidez, produciendo elementos que favorecen el crecimiento y facilitan la absorción de nutrientes por las microalgas, así como descomponiendo compuestos orgánicos macromoleculares en formas más pequeñas y asimilables por estos microorganismos. En este estudio [119], se probó el empleo de bacterias nativas como pretratamiento del digestato con el objetivo de optimizar el crecimiento de la biomasa algar cultivada en él. Otros autores han previsto inhibición en el crecimiento de las microalgas debido a las bacterias residuales que pueden permanecer en el digestato tratado. Para evitar este problema han probado diferentes soluciones: esterilizando el medio con 121 °C, 30 min. antes de la inoculación con biomasa algar [119]. Praveen et al. (2018) [92] utilizaron un biorreactor de membrana para evitar el contacto entre bacterias y microalgas. Wang et al. (2019) [120] aplicaron un proceso previo de filtración del digestato tratado para la eliminación las bacterias nativas.

1.4.4. Parámetros que afectan al tratamiento del biogás en el *upgrading* fotosintético

Para cumplir con los estándares de calidad del biometano y asegurar el adecuado crecimiento de biomasa de microalgas de tal forma que se maximice la fijación de CO₂, es fundamental mantener bajo control diversos parámetros propios del medio de cultivo, tales como la densidad celular, transmitancia de luz, el contenido de nutrientes, el pH, la alcalinidad y la concentración de oxígeno disuelto (OD), además hay que tener en cuenta factores ambientales de gran importancia como: la temperatura y la irradiación solar. Por otra parte, el proceso de absorción está afectado por los parámetros propios de la operación del intercambiador líquido/gas (la columna de adsorción): ratios, TRH, difusores, altura de la columna.

1.4.4.1. Parámetros propios del medio de cultivo

1.4.4.1.1. Densidad celular:

En cuanto a la densidad celular, es necesario alcanzar una densidad adecuada de microalgas en el medio de cultivo y mantener la concentración de biomasa algar mediante el retirado o cosecha de esta biomasa. Un exceso de biomasa genera autosombreado, que impide la penetración de la luz en el caldo de cultivo, además, puede ocasionar riesgo de eutrofización. Cuando se superan los 0.3 g SSV L⁻¹ comienza a notarse el efecto de sombreado sobre los 15 cm superiores, por tanto, es necesario que los HRAP dispongan

de un sistema de agitación con rueda de palas que genere turbulencia a lo largo del estanque, logrando que las células estén en movimiento y puedan recibir una adecuada cantidad de luz para su desarrollo [121]. Mantener la actividad fotosintética es de vital importancia en este proceso ya que es la responsable de que se fije el CO_2 en la biomasa algal.

1.4.4.1.2. Contenido de nutrientes:

El medio para el cultivo de microalgas debe disponer de una concentración adecuada de nutrientes esenciales, como fósforo, calcio, potasio y nitrógeno. Sin embargo, cuando la concentración de NH_4^+ supera los 100 mg L^{-1} , puede inhibir el crecimiento de las algas [122]. Por lo tanto, es necesario diluir el medio de cultivo, ya que, aunque las microalgas asimilan el amonio de forma más eficiente que el nitrato, una concentración excesiva de amonio puede limitar el crecimiento de la biomasa algal [91]. En caso del uso de digestatos, que destacan por presentar una elevada concentración de amoníaco, debe considerarse la aplicación de diluciones o tratamientos que reduzcan la concentración de este compuesto.

1.4.4.1.3. Transmitancia de luz:

La transmitancia de luz en el medio de cultivo es un parámetro clave que influye directamente en el crecimiento de la biomasa de microalgas. Una mayor transmitancia permite una penetración más eficiente de la luz, lo cual es esencial para el proceso fotosintético y, por ende, para la captación de CO_2 en el interior del fotobiorreactor. En cambio, una baja transmitancia, asociada a una elevada densidad óptica del medio de cultivo, causada por la presencia de sólidos, color o turbidez, disminuye la disponibilidad de luz, lo que limita la actividad fotosintética y, como resultado, reduce el crecimiento celular [123].

1.4.4.1.4. pH:

El elevado pH del medio de cultivo >10 evita la contaminación por bacterias u otros microorganismos, promoviendo una mayor estabilidad de las poblaciones de microalgas en el caldo. Además, favorece la absorción química por transferencia de masa de los compuestos contaminantes del biogás como el H_2S y el CO_2 [124]. Se trata de un parámetro directamente afectado por la disponibilidad de luz y condiciones meteorológicas, además de la capacidad de buffer del medio de cultivo.

1.4.4.1.5. Alcalinidad y concentración de carbono inorgánico:

La concentración de carbono inorgánico (CI) en las balsas de microalgas puede variar según el tipo de sustrato utilizado como caldo de cultivo. Esta concentración tiene un impacto significativo en el *upgrading* del biogás, influyendo tanto en la eliminación de CO₂ como en la de H₂S. Según una buena parte de las investigaciones publicadas en sistemas experimentales, cuando la concentración de carbono inorgánico se encuentra por debajo de 1500 mg IC L⁻¹, el efecto buffer del caldo de cultivo depurador es limitado, lo que puede reducir la transferencia de masa de CO₂ del biogás debido a una rápida acidificación del caldo [125]. Por lo tanto, la alcalinidad se puede considerar un parámetro ambiental clave que influye en la calidad del biometano [125].

1.4.4.1.6. Concentración de oxígeno disuelto:

La concentración de oxígeno disuelto OD, en el caldo de cultivo de las microalgas varía según la radiación solar. El incremento de la actividad fotosintética tiene como resultado el aumento de la concentración de oxígeno disuelto (OD) en el HRAP. Durante las horas centrales del día, se observa un mayor nivel de OD en el líquido, lo que provoca la liberación de parte del O₂ en la columna de absorción, apareciendo en el biometano enriquecido. La presencia de este gas está limitada a un 1 % en la mayor parte de las normas que regulan la calidad del biometano para inyección en red y uso vehicular [126].

1.4.4.1.7. Temperatura:

La actividad biológica de las microalgas y sus procesos metabólicos dependen de la temperatura. En el cultivo existen diferentes especies que prosperarán en función de la temperatura ambiente. Por ejemplo, la temperatura óptima para *Clorella sp* y *N. oculata* se encuentra entre los 25 y 25,5 °C [93]. *C. sorokiniana* ha demostrado un rendimiento óptimo a 27,5 °C [93]. Siendo el rango óptimo para la mayoría de las especies de microalgas de 20 a 30 °C [127]. Cuando la temperatura es inferior al rango óptimo, la fotosíntesis se ve afectada negativamente, principalmente por una disminución en la asimilación de carbono. Esta condición también reduce la afinidad por los nutrientes esenciales, lo que limita tanto el crecimiento celular como el rendimiento de biomasa [128]. Las temperaturas elevadas provocan la desactivación de proteínas de membrana involucradas en la fotosíntesis, lo que reduce la eficiencia del proceso fotosintético y ocasiona alteraciones en la fluidez de la membrana, el tamaño celular y la tasa de

respiración. Asimismo, temperaturas superiores a los 30 °C inducen estrés oxidativo en las células de microalgas, afectando negativamente su fisiología [129]. Por otra parte, la solubilidad de los gases también varía según la temperatura del líquido, siendo mayor a temperaturas bajas. Por lo tanto, la solubilidad de los gases presentes en el proceso de *upgrading*, como el N₂, O₂, CO₂ y H₂S, será mayor a temperaturas más bajas, lo que resulta en una mayor absorción de CO₂ y H₂S en la columna cuando la temperatura del agua disminuye [65], [130].

1.4.4.1.8. Irradiación solar:

La presencia de luz es un factor que influye en la actividad fotosintética, cuando no existe limitación de nutrientes, la actividad fotosintética es directamente proporcional la presencia de luz, hasta alcanzar la tasa máxima de crecimiento de las microalgas. La actividad fotosintética decae cuando se alcanza el punto de saturación por exceso de irradiación, ocasionando fotooxidación de las células e inhibición de la productividad [93], [131].

1.4.4.2. **Parámetros propios de operación del sistema de *upgrading***

1.4.4.2.1. Ratios líquido – gas (L/G):

La relación entre los caudales del medio de cultivo (líquido) y del biogás que circulan a través de la columna, conocida como ratio L/G, es un parámetro clave que influye directamente en el intercambio de gases y, por tanto, en la eficiencia del proceso de purificación del biogás. Según ensayos a escala piloto y laboratorio, cuando este ratio se establece en 1, se obtiene un biometano con un alto contenido de CH₄. Sin embargo, un valor excesivo puede provocar la desorción de oxígeno y nitrógeno disueltos en el líquido, lo que conduce a la contaminación del biometano. Por otro lado, si el ratio es inferior al valor óptimo, no se logra una adecuada eliminación del CO₂, ya que el medio líquido no es capaz de absorberlo eficientemente [52], [67].

1.4.4.2.2. Tiempo de residencia hidráulico:

El tiempo de residencia del medio de cultivo en la columna de absorción está determinado por el cociente entre el volumen de la columna y el caudal de líquido que la atraviesa. Al incrementar los caudales de gas y líquido, se favorece una mayor transferencia de masa y un aumento de la turbulencia dentro de la columna, lo que mejora significativamente la disolución del CO₂ en el líquido con microalgas [132], [133], [134].

1.4.4.2.3. Difusores:

Los difusores son sistemas que inyectan gas en la parte inferior de la columna de absorción. Su función es generar microburbujas de pequeño tamaño y gran superficie específica, lo que favorece un alto coeficiente de transferencia de masa. Se han empleado distintos tipos de difusores en sistemas de absorción, tales como metálicos, de piedra porosa, de membrana polimérica y de membrana cerámica con diferentes porosidades (0,2 y 0,4 μm). Diversos estudios han evaluado configuraciones con estos difusores en columnas de absorción de 2,5 L, obteniéndose los mejores resultados en la composición del biometano con el uso de un difusor metálico, alcanzando una pureza de CH_4 del 95,2 % [58]. En otro estudio, Rodero et al. (2019) [65] emplearon una columna de mayor volumen (150 L) con un difusor de membrana polimérica, reportando una concentración menor de metano, del 90 %.

1.4.4.2.4. Altura de la columna:

La altura habitual de estas columnas es de 4 metros [132], con una relación altura-diámetro que oscila entre 8 y 10. Incrementar la altura más allá de este valor no aporta mejoras significativas, ya que, a medida que las burbujas ascienden, tienden a coalescer, disminuyendo su número e incrementando su tamaño. Esto reduce la superficie específica de las burbujas de gas, afectando negativamente a la transferencia de masa [135]. La sobrepresión en la salida del biometano hace que se reduzca la altura de la columna de agua, lo que disminuye el tiempo de contacto entre las burbujas de gas que ascienden en el medio líquido. Esta reducción del tiempo de contacto limita el intercambio gas-líquido, pudiendo afectar al rendimiento del sistema de *upgrading*.

1.5. Referencias

- [1] UNFPA, “Panel de población mundial.” Accessed: Mar. 18, 2025. [Online]. Available: <https://www.unfpa.org/data/world-population-dashboard>
- [2] A. A. Ivanenko *et al.*, “Effect of indirect electrochemical pretreatment on the anaerobic digestion of swine manure,” *Int J Hydrogen Energy*, vol. 95, pp. 278–289, Dec. 2024, doi: 10.1016/J.IJHYDENE.2024.11.184.
- [3] S. W. Kim, A. Gormley, K. B. Jang, and M. E. Duarte, “— Invited Review — Current status of global pig production: an overview and research trends,” *Anim Biosci*, vol. 37, no. 4, pp. 719–729, Apr. 2024, doi: 10.5713/ab.23.0367.

- [4] M. M. Roberts, S. D. Perkins, B. L. Anderson, J. T. Sawyer, and T. D. Brandebourg, "Characterization of Growth Performance, Pork Quality, and Body Composition in Mangalica Pigs," *Foods*, vol. 12, no. 3, p. 554, Jan. 2023, doi: 10.3390/foods12030554.
- [5] "FAOSTAT." Accessed: May 09, 2025. [Online]. Available: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>
- [6] "Producción de carne de cerdo." Accessed: Mar. 19, 2025. [Online]. Available: <https://ourworldindata.org/grapher/pigmeat-production-tonnes?tab=table&time=earliest..2022>
- [7] "Número de cerdos en el mundo por país en 2024 | Statista." Accessed: Mar. 20, 2025. [Online]. Available: <https://www.statista.com/statistics/263964/number-of-pigs-in-selected-countries/>
- [8] "Consumo de carne | OCDE." Accessed: May 09, 2025. [Online]. Available: <https://www.oecd.org/en/data/indicators/meat-consumption.html>
- [9] "Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación." Accessed: May 12, 2025. [Online]. Available: <https://www.mapa.gob.es/es/>
- [10] "Producción de Ganado porcino por país en miles de cabezas - Ranking de países." Accessed: Mar. 20, 2025. [Online]. Available: https://www.indexmundi.com/agriculture/?l=es&producto=ganado-porcino&variable=produccion&utm_source=chatgpt.com
- [11] H. Fan *et al.*, "Evaluation of pollution potential in swine manure across growth stages: Impact of dietary nutrients and management strategies," *Science of The Total Environment*, vol. 958, p. 177942, Jan. 2025, doi: 10.1016/J.SCITOTENV.2024.177942.
- [12] H. Fan *et al.*, "Concomitant management of solid and liquid swine manure via controlled co-composting: Towards nutrients enrichment and wastewater recycling," *Resour Conserv Recycl*, vol. 168, p. 105308, May 2021, doi: 10.1016/J.RESCONREC.2020.105308.
- [13] Y. Xiao *et al.*, "Improved biogas production of dry anaerobic digestion of swine manure," *Bioresour Technol*, vol. 294, p. 122188, Dec. 2019, doi: 10.1016/J.BIORTECH.2019.122188.
- [14] "Número de cerdos, 2022." Accessed: Mar. 20, 2025. [Online]. Available: <https://ourworldindata.org/grapher/pig-livestock-count-heads>
- [15] N. Duan, B. Khoshnevisan, C. Lin, Z. Liu, and H. Liu, "Life cycle assessment of anaerobic digestion of pig manure coupled with different digestate treatment technologies," *Environ Int*, vol. 137, p. 105522, Apr. 2020, doi: 10.1016/J.ENVINT.2020.105522.
- [16] J. Zhou *et al.*, "Pretreatment of pig manure liquid digestate for microalgae cultivation via innovative flocculation-biological contact oxidation approach," *Science of The Total Environment*, vol. 694, p. 133720, Dec. 2019, doi: 10.1016/J.SCITOTENV.2019.133720.
- [17] J. Zhou *et al.*, "Biogas production and microbial community shift through neutral pH control during the anaerobic digestion of pig manure," *Bioresour Technol*, vol. 217, pp. 44–49, Oct. 2016, doi: 10.1016/J.BIORTECH.2016.02.077.
- [18] J. Zhou *et al.*, "Pretreatment of pig manure liquid digestate for microalgae cultivation via innovative flocculation-biological contact oxidation approach," *Science of The Total Environment*, vol. 694, p. 133720, Dec. 2019, doi: 10.1016/J.SCITOTENV.2019.133720.

- [19] J. Zhou *et al.*, “Pretreatment of pig manure liquid digestate for microalgae cultivation via innovative flocculation-biological contact oxidation approach,” *Science of The Total Environment*, vol. 694, p. 133720, Dec. 2019, doi: 10.1016/J.SCITOTENV.2019.133720.
- [20] S. Kizito *et al.*, “Evaluation of slow pyrolyzed wood and rice husks biochar for adsorption of ammonium nitrogen from piggery manure anaerobic digestate slurry,” *Science of The Total Environment*, vol. 505, pp. 102–112, Feb. 2015, doi: 10.1016/J.SCITOTENV.2014.09.096.
- [21] “FAOSTAT.” Accessed: Apr. 02, 2025. [Online]. Available: <https://www.fao.org/faostat/es/#data/GT>
- [22] “Biogas from Waste and Renewable Resources,” *Focus on Catalysts*, vol. 2011, no. 9, p. 8, Sep. 2011, doi: 10.1016/S1351-4180(11)70392-0.
- [23] R. Yang *et al.*, “Pyrolysis mechanism and gasification characteristics of actual municipal solid waste: A kinetic study through two-stage reaction models,” *Journal of the Energy Institute*, vol. 120, p. 102026, Jun. 2025, doi: 10.1016/J.JOEI.2025.102026.
- [24] S. Imran *et al.*, “Municipal solid waste valorization to biofuel production: Comparative evaluation, policies, challenges, and practices,” *J Taiwan Inst Chem Eng*, p. 106099, Mar. 2025, doi: 10.1016/J.JTICE.2025.106099.
- [25] S. Mavridis and E. A. Voudrias, “Using biogas from municipal solid waste for energy production: Comparison between anaerobic digestion and sanitary landfilling,” *Energy Convers Manag*, vol. 247, p. 114613, Nov. 2021, doi: 10.1016/J.ENCONMAN.2021.114613.
- [26] R. Muñoz, L. Meier, I. Diaz, and D. Jeison, “A review on the state-of-the-art of physical/chemical and biological technologies for biogas upgrading,” *Rev Environ Sci Biotechnol*, vol. 14, no. 4, pp. 727–759, 2015, doi: 10.1007/s11157-015-9379-1.
- [27] Secretaría de Estado de Energía, “Hoja de Ruta del Biogás. Marco Estratégico de Energía y Clima,” Madrid, Mar. 2022.
- [28] R. Muñoz, L. Meier, I. Diaz, and D. Jeison, “A review on the state-of-the-art of physical/chemical and biological technologies for biogas upgrading,” *Rev Environ Sci Biotechnol*, vol. 14, no. 4, pp. 727–759, Dec. 2015, doi: 10.1007/s11157-015-9379-1.
- [29] I. Angelidaki *et al.*, “Biogas upgrading: Current and emerging technologies,” in *Biomass, Biofuels, Biochemicals: Biofuels: Alternative Feedstocks and Conversion Processes for the Production of Liquid and Gaseous Biofuels*, Elsevier, 2019, pp. 817–843. doi: 10.1016/B978-0-12-816856-1.00033-6.
- [30] E. Rykebosch, M. Drouillon, and H. Vervaeren, “Techniques for transformation of biogas to biomethane,” *Biomass Bioenergy*, vol. 35, no. 5, pp. 1633–1645, May 2011, doi: 10.1016/J.BIOMBIOE.2011.02.033.
- [31] I. Angelidaki *et al.*, “Biogas upgrading and utilization: Current status and perspectives,” *Biotechnol Adv*, vol. 36, no. 2, pp. 452–466, Mar. 2018, doi: 10.1016/J.BIOTECHADV.2018.01.011.
- [32] H. Karne, U. Mahajan, U. Ketkar, A. Kohade, P. Khadilkar, and A. Mishra, “A review on biogas upgradation systems,” *Mater Today Proc*, vol. 72, pp. 775–786, Jan. 2023, doi: 10.1016/J.MATPR.2022.09.015.

- [33] F. M. Baena-Moreno, E. le Saché, L. Pastor-Pérez, and T. R. Reina, “Membrane-based technologies for biogas upgrading: a review,” *Environ Chem Lett*, vol. 18, no. 5, pp. 1649–1658, Sep. 2020, doi: 10.1007/s10311-020-01036-3.
- [34] F. Bauer, T. Persson, C. Hulteberg, and D. Tamm, “Biogas upgrading - technology overview, comparison and perspectives for the future,” *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, vol. 7, no. 5, pp. 499–511, Sep. 2013, doi: 10.1002/bbb.1423.
- [35] S. F. Ahmed *et al.*, “Biogas upgrading, economy and utilization: a review,” Dec. 01, 2021, *Springer Science and Business Media Deutschland GmbH*. doi: 10.1007/s10311-021-01292-x.
- [36] M. Struk, I. Kushkevych, and M. Vítězová, “Biogas upgrading methods: recent advancements and emerging technologies,” Sep. 01, 2020, *Springer*. doi: 10.1007/s11157-020-09539-9.
- [37] P. Rosha, A. K. Rosha, H. Ibrahim, and S. Kumar, “Recent advances in biogas upgrading to value added products: A review,” Jun. 15, 2021, *Elsevier Ltd*. doi: 10.1016/j.ijhydene.2021.03.246.
- [38] A. Krich, K. Augenstein, and D. Batmale, “UC Berkeley Planning & Evaluation Title Biomethane from Dairy Waste, a Sourcebook for the Production and Use of Renewable Natural Gas Publication Date,” 2005.
- [39] P. Gkotsis, P. Kougias, M. Mitrakas, and A. Zouboulis, “Biogas upgrading technologies – Recent advances in membrane-based processes,” *Int J Hydrogen Energy*, vol. 48, no. 10, pp. 3965–3993, Feb. 2023, doi: 10.1016/J.IJHYDENE.2022.10.228.
- [40] I. Ullah Khan *et al.*, “Biogas as a renewable energy fuel – A review of biogas upgrading, utilisation and storage,” *Energy Convers Manag*, vol. 150, pp. 277–294, Oct. 2017, doi: 10.1016/J.ENCONMAN.2017.08.035.
- [41] R. Núñez, N. Merayo, D. Hermosilla, A. Gascó, A. J. Dos santos-García, and Á. Caravaca, “Electrochemical treatment of industrial wastewater for hydrogen production,” *Curr Opin Electrochem*, vol. 46, p. 101533, Aug. 2024, doi: 10.1016/J.COEELEC.2024.101533.
- [42] M. Palù *et al.*, “In-situ biogas upgrading assisted by bioaugmentation with hydrogenotrophic methanogens during mesophilic and thermophilic co-digestion,” *Bioresour Technol*, vol. 348, p. 126754, Mar. 2022, doi: 10.1016/J.BIORTECH.2022.126754.
- [43] K. M. Muñoz-Páez, K. Y. Ramos-Arechiga, and G. Buitrón, “Ex-situ biogas enrichment by hydrogenotrophic methanogens at low H₂/CO₂ ratios: Effect of empty bed residence time,” *Fuel*, vol. 381, p. 133330, Feb. 2025, doi: 10.1016/J.FUEL.2024.133330.
- [44] R. Kapoor, P. Ghosh, M. Kumar, and V. K. Vijay, “Evaluation of biogas upgrading technologies and future perspectives: a review,” 2019, *Springer Verlag*. doi: 10.1007/s11356-019-04767-1.
- [45] F. Leliaert *et al.*, “Phylogeny and Molecular Evolution of the Green Algae,” *CRC Crit Rev Plant Sci*, vol. 31, no. 1, pp. 1–46, Jan. 2012, doi: 10.1080/07352689.2011.615705.
- [46] P. Cherosky and Y. Li, “Hydrogen sulfide removal from biogas by bio-based iron sponge,” *Biosyst Eng*, vol. 114, no. 1, pp. 55–59, Jan. 2013, doi: 10.1016/j.biosystemseng.2012.10.010.

- [47] A. Toledo-Cervantes, R. Lebrero, C. Cavinato, and R. Muñoz, “Biogas upgrading using algal-bacterial processes,” *Microalgae-Based Biofuels and Bioproducts: From Feedstock Cultivation to End-Products*, pp. 283–304, Jan. 2017, doi: 10.1016/B978-0-08-101023-5.00012-1.
- [48] M. Ben Jaber, A. Couvert, A. Amrane, P. Le Cloirec, and E. Dumont, “Hydrogen sulfide removal from a biogas mimic by biofiltration under anoxic conditions,” *J Environ Chem Eng*, vol. 5, no. 6, pp. 5617–5623, Dec. 2017, doi: 10.1016/J.JECE.2017.10.029.
- [49] I. Ramos, I. Díaz, and M. Fdz-Polanco, “The role of the headspace in hydrogen sulfide removal during microaerobic digestion of sludge,” *Water Science and Technology*, vol. 66, no. 10, pp. 2258–2264, Nov. 2012, doi: 10.2166/wst.2012.457.
- [50] M. Andreides, L. Pokorná-Krayzelová, and J. Bartáček, “Importance of digester’s headspace geometry for the efficient H₂S removal through microaeration; experimental and simulation study,” *Fuel*, vol. 362, p. 130900, Apr. 2024, doi: 10.1016/J.FUEL.2024.130900.
- [51] P. Jenicek, C. A. Celis, J. Koubova, and D. Pokorna, “Comparison of microbial activity in anaerobic and microaerobic digesters,” *Water Science and Technology*, vol. 63, no. 10, pp. 2244–2249, May 2011, doi: 10.2166/wst.2011.579.
- [52] D. Marín, A. A. Carmona-Martínez, S. Blanco, R. Lebrero, and R. Muñoz, “Innovative operational strategies in photosynthetic biogas upgrading in an outdoors pilot scale algal-bacterial photobioreactor,” *Chemosphere*, vol. 264, p. 128470, Feb. 2021, doi: 10.1016/J.CHEMOSPHERE.2020.128470.
- [53] R. Ángeles *et al.*, “Optimization of photosynthetic biogas upgrading in closed photobioreactors combined with algal biomass production,” *Journal of Water Process Engineering*, vol. 38, p. 101554, Dec. 2020, doi: 10.1016/J.JWPE.2020.101554.
- [54] L. Meier, P. Barros, A. Torres, C. Vilchez, and D. Jeison, “Photosynthetic biogas upgrading using microalgae: Effect of light/dark photoperiod,” *Renew Energy*, vol. 106, pp. 17–23, Jun. 2017, doi: 10.1016/J.RENENE.2017.01.009.
- [55] E. Posadas, M. L. Serejo, S. Blanco, R. Pérez, P. A. García-Encina, and R. Muñoz, “Minimization of biomethane oxygen concentration during biogas upgrading in algal-bacterial photobioreactors,” *Algal Res*, vol. 12, pp. 221–229, Nov. 2015, doi: 10.1016/J.ALGAL.2015.09.002.
- [56] A. Toledo-Cervantes, M. L. Serejo, S. Blanco, R. Pérez, R. Lebrero, and R. Muñoz, “Photosynthetic biogas upgrading to bio-methane: Boosting nutrient recovery via biomass productivity control,” *Algal Res*, vol. 17, pp. 46–52, Jul. 2016, doi: 10.1016/j.algal.2016.04.017.
- [57] Y. K. Leong, C. Y. Huang, and J. S. Chang, “Pollution prevention and waste phycoremediation by algal-based wastewater treatment technologies: The applications of high-rate algal ponds (HRAPs) and algal turf scrubber (ATS),” *J Environ Manage*, vol. 296, p. 113193, Oct. 2021, doi: 10.1016/J.JENVMAN.2021.113193.
- [58] D. Marín, A. A. Carmona-Martínez, R. Lebrero, and R. Muñoz, “Influence of the diffuser type and liquid-to-biogas ratio on biogas upgrading performance in an outdoor pilot scale high rate algal pond,” *Fuel*, vol. 275, p. 117999, Sep. 2020, doi: 10.1016/J.FUEL.2020.117999.

- [59] C. V. T. Do *et al.*, “Microalgae and bioremediation of domestic wastewater,” *Curr Opin Green Sustain Chem*, vol. 34, p. 100595, Apr. 2022, doi: 10.1016/J.COGSC.2022.100595.
- [60] L. L. Zhuang *et al.*, “Comparison of microalgae cultivation modes for advanced wastewater purification and pollutant-resource conversion: A pilot study,” *Journal of Water Process Engineering*, vol. 56, p. 104374, Dec. 2023, doi: 10.1016/J.JWPE.2023.104374.
- [61] E. Aranda Álvarez, I. Ferrer, and J. García, “Treatment of piggery wastewater in experimental high rate algal ponds,” 2011. [Online]. Available: <https://www.researchgate.net/publication/236841330>
- [62] I. de Godos, S. Blanco, P. A. García-Encina, E. Becares, and R. Muñoz, “Long-term operation of high rate algal ponds for the bioremediation of piggery wastewaters at high loading rates,” *Bioresour Technol*, vol. 100, no. 19, pp. 4332–4339, Oct. 2009, doi: 10.1016/J.BIORTECH.2009.04.016.
- [63] J. Al-Mallahi and K. Ishii, “Attempts to alleviate inhibitory factors of anaerobic digestate for enhanced microalgae cultivation and nutrients removal: A review,” *J Environ Manage*, vol. 304, p. 114266, Feb. 2022, doi: 10.1016/J.JENVMAN.2021.114266.
- [64] J. Al-Mallahi, K. Ishii, M. Sato, and S. Ochiai, “Static supply of different simulated flue gases for native microalgae cultivation in diluted cow manure digestate,” *J Environ Manage*, vol. 335, p. 117557, Jun. 2023, doi: 10.1016/J.JENVMAN.2023.117557.
- [65] M. del R. Rodero *et al.*, “Technology validation of photosynthetic biogas upgrading in a semi-industrial scale algal-bacterial photobioreactor,” *Bioresour Technol*, vol. 279, pp. 43–49, May 2019, doi: 10.1016/j.biortech.2019.01.110.
- [66] E. Posadas, D. Marín, S. Blanco, R. Lebrero, and R. Muñoz, “Simultaneous biogas upgrading and centrate treatment in an outdoors pilot scale high rate algal pond,” *Bioresour Technol*, vol. 232, pp. 133–141, May 2017, doi: 10.1016/J.BIORTECH.2017.01.071.
- [67] D. Marín *et al.*, “Seasonal variation of biogas upgrading coupled with digestate treatment in an outdoors pilot scale algal-bacterial photobioreactor,” *Bioresour Technol*, vol. 263, pp. 58–66, Sep. 2018, doi: 10.1016/J.BIORTECH.2018.04.117.
- [68] D. Marín *et al.*, “Anaerobic digestion of food waste coupled with biogas upgrading in an outdoors algal-bacterial photobioreactor at pilot scale,” *Fuel*, vol. 324, Sep. 2022, doi: 10.1016/j.fuel.2022.124554.
- [69] “Inicio - LIFE SMART AgroMobility.” Accessed: Jun. 03, 2025. [Online]. Available: <https://lifsmartagromobility.eu/>
- [70] A. F. Ferreira, A. Toledo-Cervantes, I. de Godos, L. Gouveia, and R. Munõz, “Life cycle assessment of pilot and real scale photosynthetic biogas upgrading units,” *Algal Res*, vol. 44, p. 101668, Dec. 2019, doi: 10.1016/J.ALGAL.2019.101668.
- [71] O. Pulz, “Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms,” *Appl Microbiol Biotechnol*, vol. 57, no. 3, pp. 287–293, Oct. 2001, doi: 10.1007/s002530100702.
- [72] J. B. K. Park, R. J. Craggs, and A. N. Shilton, “Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production,” *Bioresour Technol*, vol. 102, no. 1, pp. 35–42, Jan. 2011, doi: 10.1016/j.biortech.2010.06.158.

- [73] Y. K. Leong, C. Y. Huang, and J. S. Chang, "Pollution prevention and waste phycoremediation by algal-based wastewater treatment technologies: The applications of high-rate algal ponds (HRAPs) and algal turf scrubber (ATS)," *J Environ Manage*, vol. 296, p. 113193, Oct. 2021, doi: 10.1016/J.JENVMAN.2021.113193.
- [74] A. Toledo-Cervantes, J. M. Estrada, R. Lebrero, and R. Muñoz, "A comparative analysis of biogas upgrading technologies: Photosynthetic vs physical/chemical processes," *Algal Res*, vol. 25, pp. 237–243, Jul. 2017, doi: 10.1016/J.ALGAL.2017.05.006.
- [75] I. Angelidaki *et al.*, "Biogas upgrading and utilization: Current status and perspectives," *Biotechnol Adv*, vol. 36, no. 2, pp. 452–466, Mar. 2018, doi: 10.1016/J.BIOTECHADV.2018.01.011.
- [76] S. K. Parakh, P. Praveen, K. C. Loh, and Y. W. Tong, "Integrating gravity settler with an algal membrane photobioreactor for in situ biomass concentration and harvesting," *Bioresour Technol*, vol. 315, p. 123822, Nov. 2020, doi: 10.1016/J.BIORTECH.2020.123822.
- [77] P. Sathinathan, H. M. Parab, R. Yusoff, S. Ibrahim, V. Vello, and G. C. Ngoh, "Photobioreactor design and parameters essential for algal cultivation using industrial wastewater: A review," *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 173, p. 113096, Mar. 2023, doi: 10.1016/J.RSER.2022.113096.
- [78] F. Gao, Z.-H. Yang, C. Li, G.-M. Zeng, D.-H. Ma, and L. Zhou, "A novel algal biofilm membrane photobioreactor for attached microalgae growth and nutrients removal from secondary effluent," *Bioresour Technol*, vol. 179, pp. 8–12, Mar. 2015, doi: 10.1016/j.biortech.2014.11.108.
- [79] M. R. Rahman and K. Hellgardt, "Flat-plate photobioreactors for renewable resources production," *Algal Bioreactors: Science, Engineering and Technology of Upstream Processes: Volume 1*, vol. 1, pp. 423–447, Jan. 2025, doi: 10.1016/B978-0-443-14058-7.00019-1.
- [80] P. Young, N. Buchanan, and H. J. Fallowfield, "Inactivation of indicator organisms in wastewater treated by a high rate algal pond system," *J Appl Microbiol*, vol. 121, no. 2, pp. 577–586, Aug. 2016, doi: 10.1111/jam.13180.
- [81] F. G. Gonzalo Ibrahim, V. Alonso Gómez, R. Muñoz Torre, and I. de Godos Crespo, "Scale-down of high-rate algae ponds systems for urban wastewater reuse," *Journal of Water Process Engineering*, vol. 56, p. 104342, Dec. 2023, doi: 10.1016/J.JWPE.2023.104342.
- [82] H. E. Al-Hazmi *et al.*, "Wastewater reuse in agriculture: Prospects and challenges," *Environ Res*, vol. 236, p. 116711, Nov. 2023, doi: 10.1016/J.ENVRES.2023.116711.
- [83] H. C. Kim, W. J. Choi, S. K. Maeng, H. J. Kim, H. S. Kim, and K. G. Song, "Ozonation of piggery wastewater for enhanced removal of contaminants by *S. quadricauda* and the impact on organic characteristics," *Bioresour Technol*, vol. 159, pp. 128–135, 2014, doi: 10.1016/j.biortech.2014.02.061.
- [84] Z. Luo, D. Wang, W. Zeng, and J. Yang, "Removal of refractory organics from piggery bio-treatment effluent by the catalytic ozonation process with piggery biogas residue biochar as the catalyst," *Science of the Total Environment*, vol. 734, Sep. 2020, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.139448.

- [85] Diario Oficial de la Unión Europea, “Reglamento (UE) 2020/741 del Parlamento Europeo y del Consejo Relativo a los Requisitos Mínimos para la Reutilización del Agua,” 2020.
- [86] D. García, C. Alcántara, S. Blanco, R. Pérez, S. Bolado, and R. Muñoz, “Enhanced carbon, nitrogen and phosphorus removal from domestic wastewater in a novel anoxic-aerobic photobioreactor coupled with biogas upgrading,” *Chemical Engineering Journal*, vol. 313, pp. 424–434, Apr. 2017, doi: 10.1016/J.CEJ.2016.12.054.
- [87] J. Ruiz, P. D. Álvarez-Díaz, Z. Arbib, C. Garrido-Pérez, J. Barragán, and J. A. Perales, “Performance of a flat panel reactor in the continuous culture of microalgae in urban wastewater: Prediction from a batch experiment,” *Bioresour Technol*, vol. 127, pp. 456–463, Jan. 2013, doi: 10.1016/J.BIORTECH.2012.09.103.
- [88] P. Gautam, S. Kumar, and S. Lokhandwala, “Advanced oxidation processes for treatment of leachate from hazardous waste landfill: A critical review,” *J Clean Prod*, vol. 237, p. 117639, Nov. 2019, doi: 10.1016/J.JCLEPRO.2019.117639.
- [89] Z. Arbib, J. Ruiz, P. Álvarez-Díaz, C. Garrido-Pérez, and J. A. Perales, “Capability of different microalgae species for phytoremediation processes: Wastewater tertiary treatment, CO₂ bio-fixation and low cost biofuels production,” *Water Res*, vol. 49, pp. 465–474, Feb. 2014, doi: 10.1016/J.WATRES.2013.10.036.
- [90] X. Quan *et al.*, “Enhancing microalgae growth and landfill leachate treatment through ozonization,” *J Clean Prod*, vol. 248, p. 119182, Mar. 2020, doi: 10.1016/J.JCLEPRO.2019.119182.
- [91] Y. Collos and P. J. Harrison, “Acclimation and toxicity of high ammonium concentrations to unicellular algae,” *Mar Pollut Bull*, vol. 80, no. 1–2, pp. 8–23, Mar. 2014, doi: 10.1016/J.MARPOLBUL.2014.01.006.
- [92] P. Praveen, Y. Guo, H. Kang, C. Lefebvre, and K. C. Loh, “Enhancing microalgae cultivation in anaerobic digestate through nitrification,” *Chemical Engineering Journal*, vol. 354, pp. 905–912, Dec. 2018, doi: 10.1016/J.CEJ.2018.08.099.
- [93] D. Saranya and S. Shanthakumar, “Effect of culture conditions on biomass yield of acclimatized microalgae in ozone pre-treated tannery effluent: A simultaneous exploration of bioremediation and lipid accumulation potential,” *J Environ Manage*, vol. 273, p. 111129, Nov. 2020, doi: 10.1016/J.JENVMAN.2020.111129.
- [94] L. Zuliani, N. Frison, A. Jelic, F. Fatone, D. Bolzonella, and M. Ballottari, “Microalgae Cultivation on Anaerobic Digestate of Municipal Wastewater, Sewage Sludge and Agro-Waste,” *Int J Mol Sci*, vol. 17, no. 10, p. 1692, Oct. 2016, doi: 10.3390/ijms17101692.
- [95] N. Kobayashi *et al.*, “Characterization of three *Chlorella sorokiniana* strains in anaerobic digested effluent from cattle manure,” *Bioresour Technol*, vol. 150, pp. 377–386, 2013, doi: 10.1016/j.biortech.2013.10.032.
- [96] F. Marazzi *et al.*, “A novel option for reducing the optical density of liquid digestate to achieve a more productive microalgal culturing,” *Algal Res*, vol. 24, pp. 19–28, Jun. 2017, doi: 10.1016/J.ALGAL.2017.03.014.
- [97] M. Wang, K. A. Payne, S. Tong, and S. J. Ergas, “Hybrid algal photosynthesis and ion exchange (HAPIX) process for high ammonium strength wastewater treatment,” *Water Res*, vol. 142, pp. 65–74, Oct. 2018, doi: 10.1016/J.WATRES.2018.05.043.

- [98] D. Veronesi, A. Idà, G. D’Imporzano, and F. Adani, “Microalgae cultivation: Nutrient recovery from digestate for producing algae biomass,” *Chem Eng Trans*, vol. 43, pp. 1201–1206, 2015, doi: 10.3303/CET1543201.
- [99] P. Scarponi, A. M. Volpi Ghirardini, M. Bravi, and C. Cavinato, “Evaluation of *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus obliquus* growth on pretreated organic solid waste digestate,” *Waste Management*, vol. 119, pp. 235–241, Jan. 2021, doi: 10.1016/J.WASMAN.2020.09.047.
- [100] F. Fernandes *et al.*, “Valorising nutrient-rich digestate: Dilution, settlement and membrane filtration processing for optimisation as a waste-based media for microalgal cultivation,” *Waste Management*, vol. 118, pp. 197–208, Dec. 2020, doi: 10.1016/J.WASMAN.2020.08.037.
- [101] K. Meixner, I. Fritz, C. Daffert, K. Markl, W. Fuchs, and B. Drosig, “Processing recommendations for using low-solids digestate as nutrient solution for poly- β -hydroxybutyrate production with *Synechocystis salina*,” *J Biotechnol*, vol. 240, pp. 61–67, Dec. 2016, doi: 10.1016/J.JBIOTEC.2016.10.023.
- [102] F. Sayedin, A. Kermanshahi-pour, Q. S. He, S. M. Tibbetts, C. G. E. Lalonde, and S. K. Brar, “Microalgae cultivation in thin stillage anaerobic digestate for nutrient recovery and bioproduct production,” *Algal Res*, vol. 47, p. 101867, May 2020, doi: 10.1016/J.ALGAL.2020.101867.
- [103] M. Kisielewska, M. Dębowski, M. Zieliński, J. Kazimierowicz, P. Quattrocelli, and A. Bordiean, “Effects of Liquid Digestate Treatment on Sustainable Microalgae Biomass Production,” *Bioenergy Res*, 2021, doi: 10.1007/s12155-021-10251-x/Published.
- [104] M. Orentlicher, “Overview of nitrogen removal technologies and application/use of associated end products,” New York NY, 2014.
- [105] H. Hadiyanto, “Ozone Application for Tofu Waste Water Treatment and Its Utilisation for Growth Medium of Microalgae *Spirulina sp.*,” *E3S Web of Conferences*, vol. 31, p. 03002, Feb. 2018, doi: 10.1051/e3sconf/20183103002.
- [106] K. Gan, X. Mou, Y. Xu, and H. Wang, “Application of ozonated piggery wastewater for cultivation of oil-rich *Chlorella pyrenoidosa*,” *Bioresour Technol*, vol. 171, no. 1, pp. 285–290, Nov. 2014, doi: 10.1016/J.BIORTECH.2014.08.105.
- [107] J. Cheng, Q. Ye, J. Xu, Z. Yang, J. Zhou, and K. Cen, “Improving pollutants removal by microalgae *Chlorella PY-ZU1* with 15% CO₂ from undiluted anaerobic digestion effluent of food wastes with ozonation pretreatment,” *Bioresour Technol*, vol. 216, pp. 273–279, Sep. 2016, doi: 10.1016/J.BIORTECH.2016.05.069.
- [108] D. Saranya and S. Shanthakumar, “An integrated approach for tannery effluent treatment with ozonation and phycoremediation: A feasibility study,” *Environ Res*, vol. 183, p. 109163, Apr. 2020, doi: 10.1016/J.ENVRES.2020.109163.
- [109] C. R. Palomar, A. G. Álvaro, D. Hermosilla, A. Gascó, R. Muñoz, and I. de Godos, “Ozonation as Pretreatment of Digested Swine Manure Prior to Microalgae Culture,” *Water (Basel)*, vol. 16, no. 12, p. 1740, Jun. 2024, doi: 10.3390/w16121740.
- [110] J. Li, L. Wang, Q. Lu, and W. Zhou, “Toxicity alleviation for microalgae cultivation by cationic starch addition and ammonia stripping and study on the cost assessment,” *RSC Adv*, vol. 9, no. 65, pp. 38235–38245, 2019, doi: 10.1039/C9RA03454D.

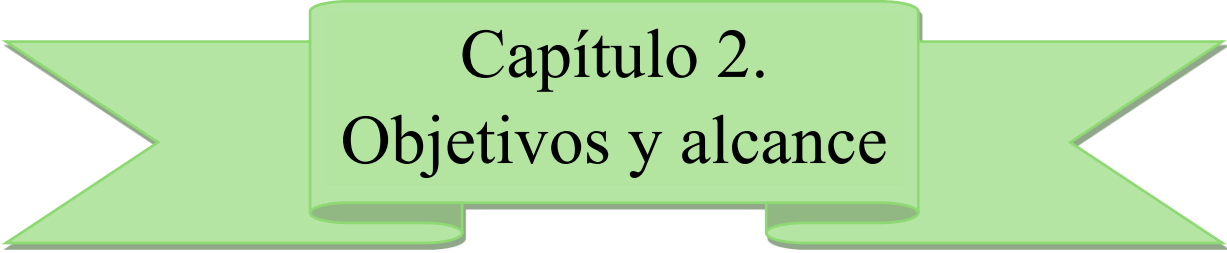
- [111] F. Marazzi *et al.*, “A novel option for reducing the optical density of liquid digestate to achieve a more productive microalgal culturing,” *Algal Res*, vol. 24, pp. 19–28, Jun. 2017, doi: 10.1016/J.ALGAL.2017.03.014.
- [112] S. Huo *et al.*, “Post treatment of swine anaerobic effluent by weak electric field following intermittent vacuum assisted adjustment of N:P ratio for oil-rich filamentous microalgae production,” *Bioresour Technol*, vol. 314, p. 123718, Oct. 2020, doi: 10.1016/J.BIORTECH.2020.123718.
- [113] S. Kurniawan *et al.*, “Challenges and Opportunities of Biocoagulant/Biofloculant Application for Drinking Water and Wastewater Treatment and Its Potential for Sludge Recovery,” *Int J Environ Res Public Health*, vol. 17, no. 24, p. 9312, Dec. 2020, doi: 10.3390/ijerph17249312.
- [114] H. A. Abu Hajar, R. Guy Riefler, and B. J. Stuart, “Anaerobic digestate as a nutrient medium for the growth of the green microalga *Neochloris oleoabundans*,” *Environmental Engineering Research*, vol. 21, no. 3, pp. 265–275, Sep. 2016, doi: 10.4491/eer.2016.005.
- [115] S. Huo *et al.*, “Anaerobic digestion wastewater decolorization by H₂O₂-enhanced electro-Fenton coagulation following nutrients recovery via acid tolerant and protein-rich *Chlorella* production,” *Chemical Engineering Journal*, vol. 406, p. 127160, Feb. 2021, doi: 10.1016/j.cej.2020.127160.
- [116] Y. Jiang *et al.*, “Cultivation of lipid-producing microalgae in struvite-precipitated liquid digestate for biodiesel production,” *Biotechnol Biofuels*, vol. 11, no. 1, p. 101, Dec. 2018, doi: 10.1186/s13068-018-1102-3.
- [117] F. Sayedin, A. Kermanshahi-pour, Q. S. He, S. M. Tibbetts, C. G. E. Lalonde, and S. K. Brar, “Microalgae cultivation in thin stillage anaerobic digestate for nutrient recovery and bioproduct production,” *Algal Res*, vol. 47, p. 101867, May 2020, doi: 10.1016/J.ALGAL.2020.101867.
- [118] P. Praveen, Y. Guo, H. Kang, C. Lefebvre, and K. C. Loh, “Enhancing microalgae cultivation in anaerobic digestate through nitrification,” *Chemical Engineering Journal*, vol. 354, pp. 905–912, Dec. 2018, doi: 10.1016/J.CEJ.2018.08.099.
- [119] Z. Gu *et al.*, “Enhancement of nutrients removal and biomass accumulation of *Chlorella vulgaris* in pig manure anaerobic digestate effluent by the pretreatment of indigenous bacteria,” *Bioresour Technol*, vol. 328, p. 124846, May 2021, doi: 10.1016/J.BIORTECH.2021.124846.
- [120] Q. Wang, R. Prasad, and B. T. Higgins, “Aerobic bacterial pretreatment to overcome algal growth inhibition on high-strength anaerobic digestates,” *Water Res*, vol. 162, pp. 420–426, Oct. 2019, doi: 10.1016/J.WATRES.2019.07.011.
- [121] R. Craggs, D. Sutherland, and H. Campbell, “Hectare-scale demonstration of high rate algal ponds for enhanced wastewater treatment and biofuel production,” *J Appl Phycol*, vol. 24, no. 3, pp. 329–337, Jun. 2012, doi: 10.1007/s10811-012-9810-8.
- [122] C. Ledda, G. I. Romero Villegas, F. Adani, F. G. Acién Fernández, and E. Molina Grima, “Utilization of centrate from wastewater treatment for the outdoor production of *Nannochloropsis gaditana* biomass at pilot-scale,” *Algal Res*, vol. 12, pp. 17–25, Nov. 2015, doi: 10.1016/J.ALGAL.2015.08.002.

- [123] P. Bohutskyi *et al.*, “Effects of inoculum size, light intensity, and dose of anaerobic digestion centrate on growth and productivity of *Chlorella* and *Scenedesmus* microalgae and their poly-culture in primary and secondary wastewater,” *Algal Res*, vol. 19, pp. 278–290, Nov. 2016, doi: 10.1016/j.algal.2016.09.010.
- [124] M. Franco-Morgado, C. Alcántara, A. Noyola, R. Muñoz, and A. González-Sánchez, “A study of photosynthetic biogas upgrading based on a high rate algal pond under alkaline conditions: Influence of the illumination regime,” *Science of the Total Environment*, vol. 592, pp. 419–425, Aug. 2017, doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.03.077.
- [125] M. del R. Rodero, E. Posadas, A. Toledo-Cervantes, R. Lebrero, and R. Muñoz, “Influence of alkalinity and temperature on photosynthetic biogas upgrading efficiency in high rate algal ponds,” *Algal Res*, vol. 33, pp. 284–290, Jul. 2018, doi: 10.1016/J.ALGAL.2018.06.001.
- [126] Asociación Española del Gas, “Gas natural y biometano para uso en transporte y biometano para inyección en la red de gas natural,” *Norma Española UNE-EN 16723-2*, 2018.
- [127] S. P. Singh and P. Singh, “Effect of temperature and light on the growth of algae species: A review,” *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 50, pp. 431–444, Oct. 2015, doi: 10.1016/J.RSER.2015.05.024.
- [128] J. A. RAVEN and R. J. GEIDER, “Temperature and algal growth,” *New Phytologist*, vol. 110, no. 4, pp. 441–461, Dec. 1988, doi: 10.1111/j.1469-8137.1988.tb00282.x.
- [129] P. Nawkarkar, A. K. Singh, M. Z. Abdin, and S. Kumar, “Life cycle assessment of *Chlorella* species producing biodiesel and remediating wastewater,” *J Biosci*, vol. 44, no. 4, p. 89, Sep. 2019, doi: 10.1007/s12038-019-9896-0.
- [130] R. Sander, “Compilation of Henry’s law constants (version 5.0.0) for water as solvent,” *Atmos Chem Phys*, vol. 23, no. 19, pp. 10901–12440, Oct. 2023, doi: 10.5194/acp-23-10901-2023.
- [131] A. A. H. Khalid, Z. Yaakob, S. R. S. Abdullah, and M. S. Takriff, “Analysis of the elemental composition and uptake mechanism of *Chlorella sorokiniana* for nutrient removal in agricultural wastewater under optimized response surface methodology (RSM) conditions,” *J Clean Prod*, vol. 210, pp. 673–686, Feb. 2019, doi: 10.1016/J.JCLEPRO.2018.11.095.
- [132] K. Akita and F. Yoshida, “Gas Holdup and Volumetric Mass Transfer Coefficient in Bubble Columns. Effects of Liquid Properties,” *Industrial & Engineering Chemistry Process Design and Development*, vol. 12, no. 1, pp. 76–80, Jan. 1973, doi: 10.1021/i260045a015.
- [133] K. Muroyama, K. Imai, Y. Oka, and J. Hayashi, “Mass transfer properties in a bubble column associated with micro-bubble dispersions,” *Chem Eng Sci*, vol. 100, pp. 464–473, Aug. 2013, doi: 10.1016/J.CES.2013.03.043.
- [134] C. Akosman, R. Orhan, and G. Dursun, “Effects of liquid property on gas holdup and mass transfer in co-current downflow contacting column,” *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, vol. 43, no. 4, pp. 503–509, Apr. 2004, doi: 10.1016/J.CEP.2003.09.004.

- [135] H.-W. Liang *et al.*, “Numerical Simulation of Gas–Liquid Mass Transfer in Bubble Column Using the Wray–Agarwal Turbulence Model Coupled with PBM,” *Ind Eng Chem Res*, vol. 62, no. 46, pp. 19951–19971, Nov. 2023, doi: 10.1021/acs.iecr.3c02914.
- [136] H. Li, Z. Chen, D. Fu, Y. Wang, Y. Zheng, and Q. Li, “Improved ADM1 for modelling C, N, P fates in anaerobic digestion process of pig manure and optimization approaches to biogas production,” *Renew Energy*, vol. 146, pp. 2330–2336, Feb. 2020, doi: 10.1016/J.RENENE.2019.08.086.
- [137] L. Appels, J. Baeyens, J. Degève, and R. Dewil, “Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge,” *Prog Energy Combust Sci*, vol. 34, no. 6, pp. 755–781, Dec. 2008, doi: 10.1016/J.PECS.2008.06.002.
- [138] S. Achinas, V. Achinas, and G. J. W. Euverink, “Microbiology and biochemistry of anaerobic digesters: an overview,” *Bioreactors*, pp. 17–26, Jan. 2020, doi: 10.1016/B978-0-12-821264-6.00002-4.
- [139] A. G. Álvaro, C. R. Palomar, R. M. Torre, D. H. Redondo, and I. de Godos Crespo, “Hybridization of anaerobic digestion with solar energy: A solution for isolated livestock farms,” *Energy Conversion and Management: X*, p. 100488, 2023, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecmx.2023.100488>.
- [140] M. Safa and S. Samarasinghe, “Determination and modelling of energy consumption in wheat production using neural networks: ‘A case study in Canterbury province, New Zealand,’” *Energy*, vol. 36, no. 8, pp. 5140–5147, Aug. 2011, doi: 10.1016/J.ENERGY.2011.06.016.
- [141] Ş. Akdemir, Y. E. Miassi, I. S. Ismaila, K. F. Dossa, K. F. Oussou, and O. Zannou, “Corn production and processing into ethanol in Turkey: An analysis of the performance of irrigation systems at different altitudes on energy use and production costs,” *J Agric Food Res*, vol. 14, p. 100740, Dec. 2023, doi: 10.1016/J.JAFR.2023.100740.
- [142] F. Bauer and C. P. Hulteberg, “Biogas upgrading-Review of commercial technologies Oxyfuel SO2 capture View project Polymer-supported Pd (II) for C-H activation of arenes View project,” 2014. [Online]. Available: <https://www.researchgate.net/publication/235932569>
- [143] R. Lebrero, A. Toledo-Cervantes, R. Muñoz, V. del Nery, and E. Foresti, “Biogas upgrading from vinasse digesters: a comparison between an anoxic biotrickling filter and an algal-bacterial photobioreactor,” *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, vol. 91, no. 9, pp. 2488–2495, Sep. 2016, doi: 10.1002/jctb.4843.
- [144] AENOR. (2017). UNE-EN 16723-1:2017, “NORMATIVA española BIOMETANO para uso vehicular,” *Asociación Española de Normalización*, 2018.
- [145] A. I. Adnan, M. Y. Ong, S. Nomanbhay, K. W. Chew, and P. L. Show, “Technologies for biogas upgrading to biomethane: A review,” Dec. 01, 2019, *MDPI AG*. doi: 10.3390/bioengineering6040092.
- [146] I. Angelidaki *et al.*, “Biogas upgrading and utilization: Current status and perspectives,” *Biotechnol Adv*, vol. 36, no. 2, pp. 452–466, Mar. 2018, doi: 10.1016/J.BIOTECHADV.2018.01.011.
- [147] M. del R. Rodero, R. Ángeles, O. García-Depraect, R. Lebrero, and R. Muñoz, “Recent advances on photosynthetic biogas upgrading to biomethane,” *Biogas to Biomethane*:

Engineering, Production, Sustainability, pp. 117–140, Jan. 2024, doi: 10.1016/B978-0-443-18479-6.00010-7.

- [148] D. Marín *et al.*, “Seasonal variation of biogas upgrading coupled with digestate treatment in an outdoors pilot scale algal-bacterial photobioreactor,” *Bioresour Technol*, vol. 263, pp. 58–66, Sep. 2018, doi: 10.1016/J.BIORTECH.2018.04.117.
- [149] C. Ruiz Palomar, A. García Álvaro, R. Muñoz, C. Repáraz, M. F. Ortega, and I. de Godos, “Pre-Commercial Demonstration of a Photosynthetic Upgrading Plant: Investment and Operating Cost Analysis,” *Processes*, vol. 12, no. 12, p. 2794, Dec. 2024, doi: 10.3390/pr12122794.
- [150] A. Toledo-Cervantes, C. Madrid-Chirinos, S. Cantera, R. Lebrero, and R. Muñoz, “Influence of the gas-liquid flow configuration in the absorption column on photosynthetic biogas upgrading in algal-bacterial photobioreactors,” *Bioresour Technol*, vol. 225, pp. 336–342, Feb. 2017, doi: 10.1016/J.BIORTECH.2016.11.087.
- [151] A. Anbalagan *et al.*, “Continuous photosynthetic abatement of CO₂ and volatile organic compounds from exhaust gas coupled to wastewater treatment: Evaluation of tubular algal-bacterial photobioreactor,” *Journal of CO₂ Utilization*, vol. 21, pp. 353–359, Oct. 2017, doi: 10.1016/J.JCOU.2017.07.016.
- [152] J. Masojídek *et al.*, “Photosynthesis Monitoring in Microalgae Cultures Grown on Municipal Wastewater as a Nutrient Source in Large-Scale Outdoor Bioreactors,” *Biology (Basel)*, vol. 11, no. 10, Oct. 2022, doi: 10.3390/biology11101380.
- [153] AENOR Confía S.A.U, “Certificado de conformidad del control de producción en fábrica,” Madrid.



Capítulo 2. Objetivos y alcance

2.1. Justificación de la tesis

La generación de residuos ha aumentado debido al crecimiento de la población y al incremento del consumo de energía y recursos. Tradicionalmente, se han utilizado fuentes de energía fósil, las cuales son los principales responsables de la emisión de gases de efecto invernadero, con un impacto significativo en el calentamiento global. Por este motivo, se han buscado alternativas energéticas más sostenibles y respetuosas con el medio ambiente, como las fuentes renovables principales: solar, eólica y biomasa. En los últimos años, se ha fomentado el desarrollo de nuevas tecnologías que usan los residuos como materia prima para la generación de energía. Entre estas destaca la digestión anaerobia, que ofrece una gran capacidad para gestionar residuos y subproductos orgánicos y simultáneamente genera un combustible versátil y compatible con el gas natural (el biogás). La purificación del biogás para su utilización como biocombustible en forma de biometano es esencial para su inyección en la red de gas natural o su uso como combustible vehicular, ya que el biogás crudo contiene impurezas como CO_2 y H_2S que deben ser eliminadas. Para obtener biometano puro, es necesario someter el biogás a un proceso de refinamiento conocido como *upgrading*. Actualmente, muchos de los métodos convencionales, como la adsorción, la absorción, la separación química, criogénica y por membranas, tienen un alto consumo energético y pueden ser perjudiciales para el medio ambiente debido a los compuestos químicos que utilizan. Sin embargo, las tecnologías biológicas, como el *upgrading* fotosintético, puede ser una alternativa prometedora y competitiva. Al utilizar sistemas basados en microalgas, no solo se mejora la eficiencia energética, sino que también se aprovecha el CO_2 , en lugar de liberarlo a la atmósfera. La fotosíntesis realizada por las microalgas no solo captura dióxido de carbono, sino que también ayuda a eliminar contaminantes como el nitrógeno y el fósforo de las aguas residuales. A pesar de que esta tecnología se ha propuesto y experimentado previamente, su demostración a nivel industrial o precomercial no se ha documentado, hasta la publicación de la presente tesis doctoral y los artículos incluidos en ella. Además del tratamiento del biogás, los cultivos de microalgas proporcionan un tratamiento a las aguas residuales (purines o digestatos) con bajos costos de capital y operativos constituyendo un atractivo significativo y representando un gran avance hacia un enfoque más sostenible y respetuoso con el medio ambiente. Las aguas residuales producidas en la ganadería, debido a su alto contenido de partículas suspendidas, contaminantes orgánicos e inorgánicos, suelen tener una alta turbidez. Esta turbidez no

solo afecta la calidad del agua, sino que también dificulta su uso en diversos procesos, como el cultivo de microalgas. En este contexto, el uso de procesos de oxidación avanzada de aguas residuales mediante aplicación de ozono (O_3) es una de las alternativas más prometedoras. El ozono es un potente agente oxidante que permite destruir la materia orgánica, elimina la turbidez y los patógenos del agua, mejorando el crecimiento de las microalgas en esta agua tratada. Por otra parte, los sistemas de *upgrading* de biometano a partir de microalgas son parte del enfoque de economía circular donde se encuentra presente el tratamiento de aguas y el cierre de ciclos de nutrientes. Esta tecnología ha sido probada en varias ocasiones mediante prototipos semi-industriales, donde se han evaluado fotobiorreactores tipo HRAP y tubulares, principalmente a escala de laboratorio y en condiciones interiores. Sin embargo, esta limitación en el escalado restringe la implementación generalizada de la tecnología. Por ello, es fundamental comprender el funcionamiento del *upgrading* fotosintético a escala real, en condiciones exteriores, para evaluar la influencia de factores como las variaciones de temperatura, irradiación y periodo de luz en la calidad del biometano obtenido. Además, se requiere optimizar parámetros operativos de estos sistemas como los ratios de líquido y gas (L/G) y el tiempo de residencia en una columna de absorción a gran escala, lo que permitirá estimar con mayor precisión los costes operativos y de construcción de la tecnología de *upgrading* algal-bacteriano. Mediante este trabajo, se busca validar esta tecnología a escala industrial, con el objetivo de obtener su aprobación por parte del sector industrial.

2.2. Objetivos principales

El objetivo principal de esta tesis es evaluar las posibles mejoras técnicas de los cultivos de microalgas en su aplicación para el tratamiento de residuos líquidos de la cría del ganado porcino. Estas mejoras técnicas se centran en el tratamiento de los residuos en los propios cultivos y en la aplicación de estos como sistema de purificación del biogás y transformación a biometano. Para la consecución de este objetivo se han usado tanto ensayos a escala laboratorio, como experimentación en escala prototipo industrial e información derivada de la construcción e instalación del mismo. Concretamente, los objetivos específicos de la tesis son:

1. Evaluar el pretratamiento de los efluentes ganaderos para la reducción de la turbidez mediante un sistema de oxidación avanzada con ozono, con el objetivo

de utilizar estas aguas tratadas para el cultivo de microalgas y reducir el consumo de agua limpia derivado de su dilución.

2. Evaluar la estacionalidad como factor determinante en el rendimiento de los cultivos de microalgas y su impacto en la posible reutilización de las aguas en sistemas de riego.
3. Estudiar los diferentes parámetros operativos en el proceso de *upgrading* del biogás basado en microalgas, tales como las variaciones en la relación líquido-gas (L/G) y el tiempo de residencia hidráulica en una columna de absorción a escala comercial, para evaluar la calidad del biometano producido.
4. Evaluar la competitividad económica de la tecnología de *upgrading* fotosintético, incluyendo los costos de instalación y operación, y su comparación con otras tecnologías convencionales y disponibles comercialmente.

2.3. Desarrollo de la tesis

Los objetivos se alcanzaron por medio de varios experimentos, ensayos y estudios. El primer objetivo se trató en el **capítulo 3**, en el cual se probó el cultivo de microalgas en efluentes procedente de la digestión anaerobia de purín de cerdo pretratado mediante ozonización. Comparando el crecimiento de biomasa algar entre un efluente sin pretratar y otro pretratado y de este modo evaluando este pretratamiento como sistema de eliminación de la turbidez que dificulta la transmitancia de luz y por ello la fotosíntesis de las microalgas.

El segundo objetivo se desarrolló en el **capítulo 4**, donde se analizó el impacto de la estacionalidad en los principales parámetros asociados a la depuración de aguas residuales mediante microalgas como sistema de ficorremediación y de generación de aguas reutilizadas destinadas al riego de cultivos agrícolas. Para ello, se diseñó un montaje que simulaba diferentes condiciones climáticas, utilizando un fotobiorreactor tipo HRAP de 30 L y un sistema de simulación de iluminación y temperatura.

El tercer objetivo se desarrolló en el **capítulo 5**, donde se operó un sistema de producción de biometano a escala demostrativa y orientado a la producción de biometano vehicular consistente en un cultivo de microalgas extensivo (HRAP) acoplado a una columna de absorción. Se evaluaron los distintos parámetros de funcionamiento de la columna de

absorción que afectan la eliminación de los gases no deseados (CO_2 y H_2S), como el ratio líquido-gas y el tiempo de residencia hidráulico. Se analizó cómo estas variables influyen en la composición del biometano producido.

El cuarto objetivo se desarrolló en el **capítulo 6**, donde se evaluaron los costos de operación y capital de la tecnología de *upgrading* fotosintético, comparándolos con los de otras tecnologías disponibles comercialmente. Para ello, se tomó como referencia la información obtenida durante el diseño, instalación y operación del prototipo descrito en el capítulo 5 y se amplió el análisis a diferentes escalas considerando los presupuestos recolectados y proyecciones de los mismos.

Capítulo 3

***Ozonation as Pretreatment of Digested Swine Manure
Prior to Microalgae Culture***

César Ruiz, Alfonso García, Daphne Hermosilla, Antonio Gascó,
Raúl Muñoz, and Ignacio de Godos. Water (Basel) 12. (2024)

Ozonation as Pretreatment of Digested Swine Manure Prior to Microalgae Culture

César Ruiz Palomar ^{1,2}, Alfonso García Álvaro ^{1,2}, Daphne Hermosilla ^{3,*}, Antonio Gascó ³, Raúl Muñoz ² and Ignacio de Godos ^{1,2,*}

¹Department of Chemical Engineering and Environmental Technology, School of Agrarian Engineering, Campus Duques de Soria, University of Valladolid, 42005 Soria, Spain; agarcia@uva.es

²Institute for Sustainable Processes, University of Valladolid, 47011 Valladolid, Spain; mutora@uva.es

³Department of Forest and Environmental Engineering and Management, Universidad Politécnica de Madrid, Escuela Técnica Superior de Ingeniería de Montes, Forestal y del Medio Natural, José Antonio Novais 10, 28040 Madrid, Spain; antonio.gasco@upm.es

*Correspondence: daphne.hermosilla@upm.es (D.H.); ignacio.godos@uva.es (I.d.G.)

<https://doi.org/10.3390/w16121740>

Abstract: Anaerobic digestion of animal manure generates biogas and removes biodegradable organic matter, while most of the nitrogen and phosphorous remains at very high levels after the process. A subsequent microalgae culture in the digestate provides nutrient uptake at very low operational and installation costs. However, the dark color of manure digestate prevents light penetration, reducing the rates of algae growth. Ozonation was researched as a strategy for color removal followed by microalgae culture. Although similar biomass production was achieved in treated and untreated digestates (1.09 vs. 0.99 g L⁻¹), the positive effect of ozonation was evidenced by the significantly higher rates of photosynthetically produced oxygen: 0.804 and 0.18 mg O₂ mg⁻¹ TSS min⁻¹, respectively, in ozonated and untreated digestates, revealing a four times higher rate of algae activity. However, this considerable higher activity was not correlated with better performance in nutrient removal since the microalgae treatment was assayed at a considerably reduced scale with a high ratio of illumination per volume. An operational costs analysis revealed that ozonation could be competitive against other strategies of color reduction such as dilution or coagulation/flocculation processes.

Capítulo 4

***Comparative Analysis of Livestock Wastewater Reuse
Under Summer and Winter Conditions at a Scale-
Down Microalgae Culture***

César Ruiz, Alfonso García, Daphne Hermosilla, Félix Gonzalo,
Raúl Muñoz, Ignacio de Godos. Water. 10. (2025).

Comparative Analysis of Livestock Wastewater Reuse Under Summer and Winter Conditions at a Scale-Down Microalgae Culture

César Ruiz Palomar ^{1,2}, Alfonso García Álvaro ^{1,2}, Daphne Hermosilla ^{3,*}, Félix Gaspar Gonzalo Ibrahim ^{1,2}, Raúl Muñoz ² and Ignacio de Godos ^{1,2*}

1 Department of Chemical Engineering and Environmental Technology, School of Agrarian Engineering, Campus Duques de Soria, University of Valladolid, 42005 Soria, Spain; cesar.ruiz.palomar@uva.es (C.R.P.); agar-cia@uva.es (A.G.Á.); felixgaspar.gonzalo@uva.es (F.G.G.I.); ignacio.godos@uva.es (I.d.G.)

2 Institute for Sustainable Processes, University of Valladolid, 47011 Valladolid, Spain; raul.munoz.torre@uva.es

3 Department of Forest and Environmental Engineering and Management, Universidad Politécnica de Madrid, Escuela Técnica Superior de Ingeniería de Montes, Forestal y del Medio Natural, José Antonio Novais 10, 28040 Madrid, Spain

* Correspondence: ignacio.godos@uva.es; daphne.hermosilla@upm.es

<https://doi.org/10.3390/W17101483>

Abstract: Microalgae-based wastewater treatment systems are an environmentally friendly technology for reuse of polluted water produced in livestock farming. Since pollution removal depends on light availability, the performance should be evaluated under different seasonal conditions, even in reduced lab scale systems. This study evaluates the treatment of livestock digestate in an experimental High-Rate Algae Pond (HRAP) that recreates outdoor conditions. Chemical and biological pollution removal were analyzed, as well as the response of photosynthetic activity of the culture. Pollutant removal varied between seasons, while summer was characterized by higher nitrogen and phosphorus removal (81 and 69%, respectively), on the other hand, winter presented higher elimination of organic matter (91%) and pathogens. In this sense, *P. aeruginosa* removal was notably higher in winter (100%) than in summer (50%). Higher light penetration and increased photosynthetic efficiency in winter, along with greater fluctuations in pH and dissolved oxygen concentrations, contributed to higher levels of pathogen decay. Photosynthetic response tests indicated higher oxygen production per unit biomass in winter, suggesting physiological adaptations to lesser light conditions.

Capítulo 4

This adaptation was correlated with the relative high pH and dissolved oxygen values registered. The findings highlight the adaptation and robust-ness of algae cultures as a solution for wastewater treatment and reuse in the primary sector.

Capítulo 5

***Effect of liquid-gas ratio and hydraulic residence time
on large-scale absorption columns for photosynthetic
biogas upgrading***

César Ruiz, Alfonso García, Félix Gonzalo, Raúl Muñoz, Ignacio
de Godos. Bite. (In review).

Capítulo 5

26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54

Effect of liquid-gas ratio and hydraulic residence time on large-scale absorption columns for photosynthetic biogas upgrading.

C. Ruiz Palomar^{1,2}, A. García Álvaro^{1,2}, F. G. Gonzalo Hibrihím^{1,2}, R. Muñoz^{1,2}, I. de Godos^{1,2*}

¹School of Forestry, Agronomic and Bioenergy Industry Engineering (EIFAB), University of Valladolid, Campus Duques de Soria, 42004, Soria, Spain.

²Institute for Sustainable Processes, University of Valladolid, 47011, Valladolid, Spain

*Correspondence: ignacio.godos@uva.es (I.d.G.)

This study optimizes the large-scale photosynthetic upgrading of biogas to biomethane. The effects of hydraulic residence time and liquid-to-gas (L/G) ratio in an absorption column coupled to an open-air high-rate algal pond (HRAP) were evaluated. Within the column, biogas rises through a microalgal bed, enhancing its quality. The highest biomethane concentration achieved was 96.3% at an L/G ratio of 1.12 and an HRT of 10 minutes. Shorter residence times resulted in higher CH₄ concentrations. Microalgae effectively removed CO₂ and H₂S, yielding biomethane with a purity exceeding 95%. The system demonstrated high stability, enabling efficient biogas purification without the need for medium carbonation while meeting the specifications for compressed natural gas (CNG) vehicle applications.

Keywords

Absorption column; anaerobic digestion; biomethane; microalgae; photobioreactor; photosynthetic upgrading.

Highlights

- The impact of L/G ratio and HRT on biomethane composition was studied.
- A 96.3% CH₄ content was obtained with an L/G ratio of 1.12 and a 10 min HRT.
- Longer HRT reduced the CH₄ concentration in biomethane.
- A higher L/G ratio increased N₂ and O₂ desorption in biomethane at all HRTs.
- H₂S in biomethane remained at 0 for all L/G ratios and HRTs.

1. Introduction

Biogas production can simultaneously help to mitigate Greenhouse Gases Emissions (GEI) while providing an alternative energy resource in the primary sector. Agricultural activities produce a huge amount of sub-products with a high content of biodegradable organic matter. In case of animal livestock production, tons of liquid manure are produced annually in each farm and their transformation into biogas can easily achieved in simple biodigesters where anaerobic digestion take place [17], [136]. This agricultural biogas consists of methane (CH_4), ranging between 50 and 70%, carbon dioxide (CO_2) up to 40%, and trace amounts of hydrogen sulfide (H_2S) at 0.1–3% [22], [137], [138]. Agricultural biogas presents an energy content between 6 and 7 kWh m^{-3} , and it can be used for electricity production or heating in animal farms. However, on several occasions the energy demand of livestock facilities could be considerably lower than the amount of electricity or heat that can be obtained by biogas consumption [15]. That is the case of feeder pig farms or cattle farms of medium or large scale (1000-5000 heads) placed in temperate or Mediterranean climates [139]. In this scenario, the transformation of biogas into biomethane useful as vehicle fuel (compressed natural gas, CNG) is a doable option for onsite consumption. Livestock farms require transport of animals and feed supply, that conventionally depend on fossil fuel (diesel). Besides this, commonly animal farms are linked to crops production (cereal, sunflower or other) that are fertilized with manure or digestate. At this point it must be stressed that fuel consumption is one of the main operational costs in vegetable production, for tilling, seeding and harvesting [140], [141]. To use biogas as biofuel in vehicles, CO_2 and H_2S must be removed. CO_2 reduces the energetic content, while H_2S is a highly corrosive compound for engine components [142], [143]. Therefore, biogas requires an intermediate purification process, known as upgrading that eliminates undesirable compounds and increases the calorific value needed for CNG cars, around 10 kWh m^{-3} , according to most of the regulations [126], [144]. Although several conventional upgrading technologies are commercially employed for biogas transformation into renewable natural gas. The most common systems are pressure switch adsorption (PSA), water scrubbing, organic solvent scrubbing, chemical scrubbing and membrane separation. These methods involve high capital and operational costs, especially in installations corresponding to the lower biogas flow range: between 1 and 20 m^3 biogas/h, which correspond to the average biogas production in animal farm facilities [47], [145]. Additionally, the commercially available upgrading technologies

require significant energy consumption ($0.2\text{--}0.8\text{ kW m}^{-3}$ of biogas), demanding also significantly high-power supply, that are frequently unavailable in rural areas [146].

Microalgae cultures have been proposed as an environmentally friendly alternative for biogas purification and biomethane production [47], [58]. The carbon dioxide present in the biogas is consumed by microalgae and the H_2S is oxidized to sulphate by aerobic bacteria present in the cultures [52], [68], [147]. Since the process is based on the photosynthesis activity of the algae, solar light drives the process resulting in very low energy consumption [53], [65], [68], [74], [148], [149]. This technology offers several key benefits, including reduced operational and installation costs, making it more economical compared to conventional methods [52], [68], [142]. In addition, it focuses on minimizing environmental impact, which makes it a more sustainable option. This approach not only favors the circular economy but also contributes to the reduction of the carbon footprint by reducing greenhouse gas emissions associated with these wastes, such as CH_4 , CO_2 and NO_2 [52], [68]. Moreover, this technology could be deployed in agro-livestock regions, enabling local biomethane production and increasing the economic return of the activities of the primary sector.

The photosynthetic upgrading process enables CH_4 concentrations above 95% in the biomethane by means of absorption columns where biogas meet in contact with the microalgae culture broth, where carbon dioxide is dissolved [58], [125], [150]. Since the capacity of biogas processing depends on the algae production, the surface and volume of the culture is dimensioned according to the carbon dioxide consumption and the microalgae productivity [70], [150]. Although microalgae-based systems have been proposed and studied for more than 15 years, no real scale demonstration have been reported and most of the documented cases have been conducted in laboratory scale or outdoor pilot-scale experimental settings without a final use of the biomethane producing. Therefore, this limited scale does not allow for a real validation of the technology [52], [58], [65], [150]. Besides, this technology has been mainly tested in urban or industrial biogas, while the viability in case of agricultural biogas remains untested. In this study, a full-scale demonstrator prototype of biogas upgrading based on microalgae culture has been optimized for CNG production in a pig farm. Fuel production and its final use have been validated for one year and several essays have been conducted to optimize the operation of the biogas/culture exchanger (absorption column): various liquid-to-gas (L/G) ratios and hydraulic residence times (HRTs). These experiments aim to determine

the optimal operational configuration for maximizing CH₄ concentration in biomethane and validate the final use as fuel for agricultural uses.

2. Materials and methods

2.1. Experimental setup

The experimental demonstration and optimization were conducted at the biomethane production plant located in Sauquillo de Boñices, (Soria, Spain). This installation is inside a pig farm of 3500 head (lifesmartagromobility.eu). This prototype flow diagram is shown in Figure 1, consisting of a 250 m³ bag-type anaerobic digester and a high-rate algal pond (HRAP) for microalgae culture. This HRAP was constructed as an open channel raceway excavated in the ground and lined with a high-density polyethylene (HDPE) polymer sheet (Numapol HDPE Geomembrane, Numa Industrial, Barcelona, Spain, Vic). The HRAP has a total surface area of 1500 m², a depth of 30 cm, and an operational volume of 300 m³. The channel is divided by a central partition that forms a raceway, and flow-guiding deflectors were placed in the curves. An 8-blade paddlewheel was used for mixing and it was operated at 7.5 rpm during the experimentation. The culture broth of this HRAP is pumped into an 800 L fiberglass absorption column. The primary equipment includes a SCADA system for supervision, control, and data acquisition. Figure S1 shows the equipment details in pictures.

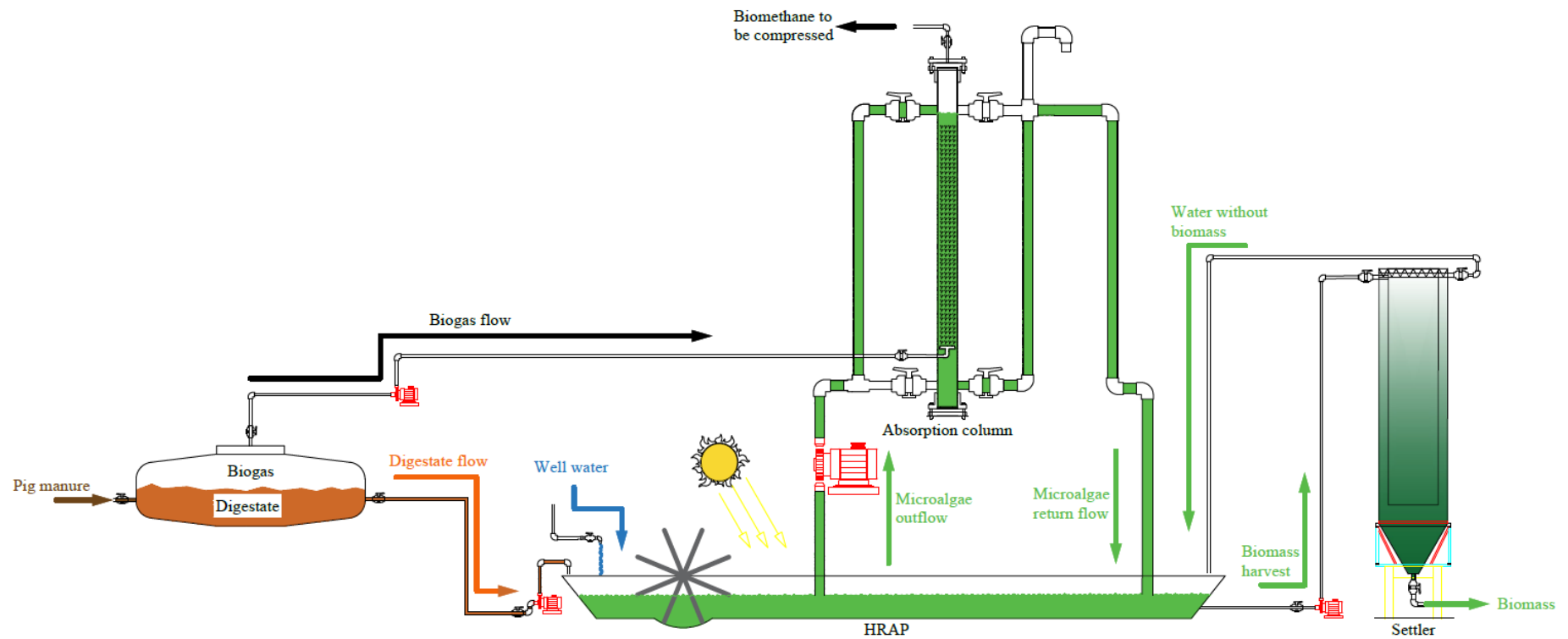


Figure 1. Biomethane plant folw diagram

2.2. Biogas and digestate.

All the optimization and demonstration essays were conducted with the biogas generated on the farm by anaerobic digestion of pig manure in a bag-type digester. The same slurry from the farm was used as a substrate to obtain biogas. The chemical composition is depicted in table 1. The digestate from anaerobic digestion was diluted with well water at a ratio of 1:40 before being introduced into HRAP. The average composition of the pig manure and digestate is shown in table 1.

Table 1. Average pig manure and digestate composition.

Analytic parameter	Units	Pig manure		Digestate	
		Medium value	Deviation value	Medium value	Deviation value
Total Suspended Solids (TSS)	g L ⁻¹	45.3	28,9	35.8	12.2
Chemical Oxygen Demand (COD)	g L ⁻¹	95.3	37.6	72.08	31
Inorganic Carbon (IC)	g L ⁻¹	3.54	0	0.77	0
Total Alkalinity (TA)	g CaCO ₃ L ⁻¹	13.78	6.19	6.9	0
pH	-	7.04	0.29	7.54	0.20
Total Nitrogen (TN)	g L ⁻¹	3.3	1.3	3.19	1.54
Ammonium (N-NH ₄)	g L ⁻¹	2.7	0.04	2.58	0.9
Phosphate (P-PO ₄ ³⁻)	g L ⁻¹	1.02	0.82	0.50	0.33

2.3. Operating and sampling procedures.

The manure produced in the pig farm was used for biogas production via anaerobic digestion in low-cost digester. Every day 3.75 m³ of manure were pumped into a 250 m³ flexible bag-type biodigester. The liquid volume in the digester was maintained at 150 m³, with a hydraulic residence time (HRT) of 40 days. To ensure digestate homogenization the system was equipped with an external recirculation pump for agitation. To monitor the anaerobic digestion process, weekly analyses were performed on both the incoming slurry and the outgoing digestate. Microalgae were cultivated in HRAP using water mixed with digestate as a nutrient source. To assess microalgae growth in HRAP, weekly samples were collected for solids analysis. Additionally, samples were taken from the microalgae settler outlet water for further analysis.

2.4. Biogas upgrading system

A 4 m high, 50 cm diameter absorption column was used for biogas purification. At the base of the column, a 12-inch EPDM fine-bubble disc diffuser facilitated the introduction of biogas as microbubbles, maximizing gas-liquid mass transfer efficiency. A helical positive displacement pump (EZstrip MK3 Monobloc, MONO, Manchester, UK) was used to circulate the liquid through the column. The microalgae culture was passed countercurrent through the absorption column, flowing in the opposite direction to the biogas stream, ensuring continuous saturation of the column with microalgae. Biogas entered the column from the bottom, propelled by a blade compressor (GC6 ATEX 2G, General Europe Vacuum, Buccinasco, Italy). In order to regulate the gas flow this compressor was equipped with a frequency converter (ATV320 U22N4C, Schneider Electric, Paris, France). The microalgae liquid entered from the top of the column and returned to the HRAP. A siphon system maintained a constant liquid level in the column. The purified biomethane exited through the top of the absorption column and was directed to the gas compression and storage system. Prior to compression, the resulting biomethane is filtered through activated carbon pellet for desulfurization (940 D, Envirotecnics, Girona, Spain) and silica gel 2–4mm orange (CAS: 7631-86-9, Synthetika, Łódź, Poland) to ensure complete removal of H₂S, if any traces remain, and to reduce the moisture content. A compressor (Fuel Maker snam FMQ 2.0 P36, Cubogas, Milan, Italy) connected to a 6-bottle rack is used for biomethane storage. In addition, this compression system has a dispenser for vehicle refueling. This demonstration upgrading

system was used in multiple upgrading tests consisting in hydraulic residence modification of the absorption column, from 10 to 100 minutes. Different ranges of liquid-to-gas (L/G) ratio were essayed ranging from 0.1 to 10. Six tests were carried out, one for each hydraulic residence time studied (10, 15, 20, 25, 50, 100 minutes), varying the flow rate of liquid circulating through the adsorption column. For each residence time, different L/G ratios (between 0.1 and 10) were studied by varying the gas flow rate through the column. Since the gas pump allows a flow rate between 0.19 and 4.8 m³/h, the following variations in the L/G ratio will be observed during the tests (See table 2). With a HRT of 10 minutes, the L/G ratio could only be reduced to 1.12. With a HRT of 50 minutes, the L/G ratio could only increase to 5. With an HRT of 100 minutes, the L/G ratio could only increase to 2.

Table 2. Different scenarios tested

HRT (min)	Liquid flow (m ³ h ⁻¹)	Ratios L/G	Gas flow (m ³ h ⁻¹)
10	4.8	-	-
		1.12	4.3
		2	2.4
		4	1.2
15	3.2	10	0.48
		1	3.20
		2	1.60
		3	1.07
		5	0.64
20	2,4	10	0.32
		0.63	3.8
		1	2.4
		2	1.2
		4	0.6
25	1,92	10	0.24
		0.5	3.84
		1	1.92
		2	0.96
		5	0.38
50	0,96	10	0.19
		0.25	3.84
		0.5	1.92
		1	0.96
		2	0.48
100	0,48	5	0.19
		0.1	4.8
		0.25	1.92
		0.5	0.96
		1	0.48
		2	0.24

The composition of CH₄, CO₂, H₂S, O₂, and N₂ was continuously monitored in each experimental trial in the biogas entering in the column and biomethane exiting the absorption column using a continuous gas analyzer (INCA Multitec® BioControl, Sewerin, Gütersloh, Germany). The flow rates of these gases were measured with a gas flow meter (VA-570 ATEX, CS Instruments, Tannheim, Germany).

2.1. Analytical procedures

Laboratory analyses were conducted using standard materials, including pipettes, filters, reagents, and analysis kits. Samples were collected from the microalgae culture, slurry, and digestate. The following parameters were analyzed: total Kjeldahl nitrogen (TKN), ammonium (NH_3), chemical oxygen demand (COD), total suspended solids (TSS), phosphate (PO_4^{3-}), pH, and alkalinity.

3. Results and discussion

The biogas and biomethane installation was operated during one year for production of CNG. During the start-up process, several optimization essays were performed to maximize methane content and guarantee the CNG composition for vehicle use according to the European regulation (EN 16723-1:2016) [126]. The work herein presented corresponds to the optimization of the main operational parameters of the absorption column: ratio liquid to gas (L/G ratio) and hydraulic retention time (HRT). Different L/G ratios were essayed by means of modification of the flows of both streams entering in the column: microalgae culture broth and biogas. Then, under the optimum conditions found for this variable, different HRT were essayed by equivalent modification of the flows. These trials were conducted over a week with stable biogas production and steady state conditions in the HRAP. The average composition of the input gas was as follows: $65.83 \pm 1.99\%$ of CH_4 , $35.07 \pm 1.76\%$ of CO_2 , $0.12 \pm 0.03\%$ of O_2 , $0.03 \pm 0.06\%$ of N_2 and 2169.33 ± 281.82 ppm of H_2S . The biomass concentration in the HRAP remained at constant concentration of 0.82 ± 0.12 g TSS L^{-1} (Figure S2). The Photosynthetic Active Radiation during the experiment presented a value of 1565.7 ± 41.18 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ and the water temperature was 25.44 ± 2.99 °C during the tests. The absorption column was operated in countercurrent mode throughout the entire experimentation.

The highest CH_4 concentration with a value of 96.3% was achieved working with a L/G ratio of 1.12, and HRT of 10 minutes in the absorption column (see Figure 3 (a)). These results are partially in agreement with previously reported experiences in microalgae-based upgrading systems (indoor and outdoor). In case of lab scale experiences, [58] Marín et al. (2020) reached methane concentrations of 86.0 %, 96.0 % and 94.5 % operation with L/G ratios of 0.5, 1.0 and 2.0, respectively. While reduced L/G ratios resulted in insufficient carbon dioxide dissolution, higher values cause N_2 and O_2 desorption from liquid to gas decreasing the quality of the biomethane. According to the essays reported by Toledo-Cervantes et al. (2016) [56] a 180 L indoor HRAP

photobioreactor together with a 2.2 L absorption column was tested under L/G ratios of 1, 5, 10, and 20, corresponding to HRT values ranging between 7 and 147 min and resulting in CH₄ concentrations of 95%, 88%, 68% and 68%, respectively. In a subsequent study, Toledo-Cervantes et al. (2017) [150] used a similar HRAP coupled to a 2.5 L absorption column to test L/G ratios of 0.3, 0.5, 0.8, and 1, corresponding to longer HRT, between 63 and 208 min. This experience achieved considerable high CH₄ concentrations, ranging from 95% to 98%, being the highest value achieved with the longest HRT. Rodero et al. (2018) [125] also employed a 180 L indoor HRAP with a 2.5 L absorption column and metal diffuser placed at the bottom, using a L/G ratio of 0.5. In this case, the long HRT of 61 min also resulted in the higher CH₄ concentration of 98%. For their part, Posadas et al. (2017) [66] worked with similar experimental set-up and essayed L/G ratios of 0.5, 1, 2 and 5, obtaining residence times of 96, 48, 24 and 10 min and CH₄ concentrations of 86%, 90%, 92% and 80%, respectively. Marín et al. (2018) also employed relative long HRTs (48 min) obtaining very high quality biomethane (98%) [67] In case of pre-demonstration outdoor experiences, Rodero et al. (2019) [65] used a 9.6 m³ outdoor HRAP coupled to a 150 L absorption column provided with a polymeric membrane diffuser. In this experience L/G ratios of 1.2, 2.1 and 3.5 were evaluated, with residence times of 27, 12 and 9 min, obtaining CH₄ concentrations of 85%, 89% and 90%. In general, all the studies (lab and outdoor) conclude that L/G ratios around 1 are sufficient to maximize methane content. However, in the case of the variable HRT, lab scale experiments pointed out that long HRT (higher than 40 min) are needed to achieve high CH₄ concentrations. The work herein presented and the study documented by Rodero et al. (2019) indicate that short HRT result in higher biomethane quality. At this point, it is important to highlight that the above mentioned lab scale experiments were performed with ceramic or metal diffusers while the outdoor experiences used membrane diffusers. Membrane diffusers are commonly used for environmental management applications, such as wastewater treatment with activated sludge systems and consequently they are commercially available at full scale and are economically for the purpose herein presented. For this reason, a membrane diffuser was chosen for this demonstration experience. In this sense, the short HRTs corresponded to elevated liquid and gas flows entering in the column (See Table 2). In case of gas flow, this relative elevated gas flows result in optimum bubble size, according to the supplier (EPDM disc diffuser 12'', Barmatec, Barcelona, Spain). Beside this, elevated gas flows correspond to high

ascension velocity of the gas in the column which is related to high mass transfer coefficients (kLa) and turbulence in the absorption column, that guarantee the total dissolution of CO_2 . These facts have been previously confirmed in bubble columns that present equivalent characteristics to the absorption column used for this study [132], [133]. In summary, the results herein presented confirm that real scale microalgae-based upgrading systems should be operated at short HRTs (10 min) and L/G ratios slightly higher than 1 using membrane diffusers.

In case of the optimum operation conditions, the pH of the culture medium at the column inlet was 9.46 ± 0.22 , and at the outlet decreased until 7.86 ± 0.64 , equivalent to a 16% reduction in the pH. In other studies, such as [58] the pH reduction is below 9% using ceramic membrane diffusers of $0.2 \mu m$ and L/G ratios of 1. This may be due to the higher gas-liquid exchange capacity in the absorption column, which operates at higher flow rates, thereby generating more turbulence and CO_2 dissolution that drops de pH [151], [152].

Contrary to previously reported experiences, the inorganic carbon (IC) concentration of the HRAP was not modified by addition of salts (bicarbonates). IC content in the culture medium presented a value of 408.3 mg L^{-1} , being the digestate the only source of inorganic carbon, besides of the alkalinity inherent present in the water well used for digestate dissolution. For instance, Marín et al. (2018) [148] operated a HRAP with an IC concentration of 2779 mg L^{-1} during the months of June and July, supplying $NaHCO_3$. In the work reported by Marín et al. (2020) [58] a synthetic digestate was used with an IC concentration higher of $1211 \pm 51 \text{ mg L}^{-1}$. Similarly, Marín et al. (2021) [52] used a HRAP with an IC concentration of $1500 \pm 43 \text{ mg L}^{-1}$ in synthetic digestate to test the photosynthetic upgrading system. Despite having a notably lower IC concentration, a high CH_4 composition was achieved in this prototype plant. The external addition of IC as inorganic salt, it is generally believed to increase mass transfer rates in the absorption column to achieve the desired methane concentration. However, the results herein found demonstrate that appropriate operation of an absorption column with a membrane diffuser ensures sufficient carbon dissolution. These results suggest that the relatively elevated pH values of the outdoor algae culture (9.5 - 10.5) also allowed a high upgrading efficiency to be achieved. It is worth noticing that the use of bicarbonate salt increases the operation costs and the environmental impact of the overall process [70].

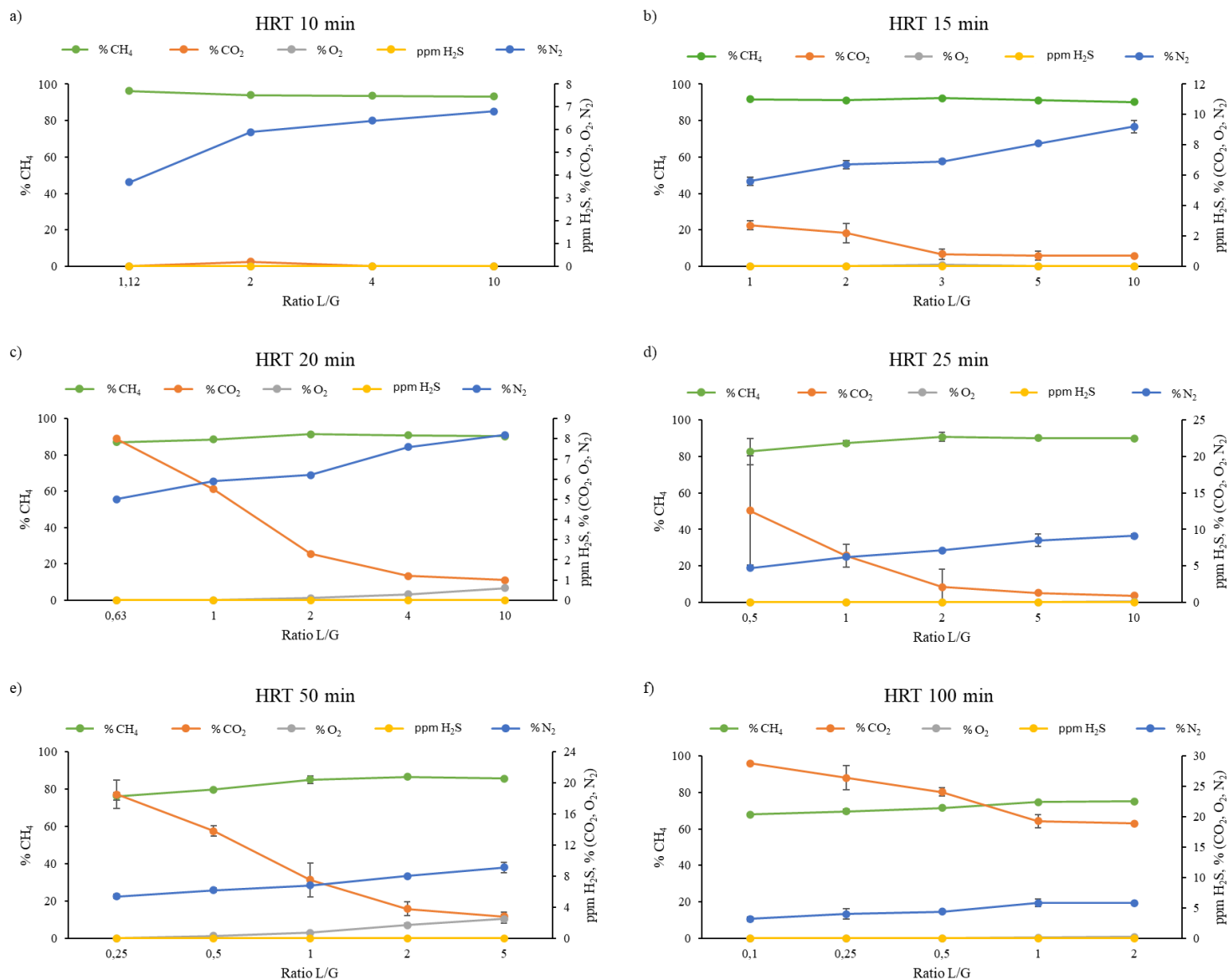


Figure 2. Biomethane composition as a function of liquid-gas ratio for different hydraulic residence times: a) 10 minutes, b) 15 minutes, c) 20 minutes, d) 25 minutes, e) 50 minutes, f) 100 minutes.

Table 3. Comparison with other work performed

Reference	Photobiorreactor configuration	Absorption column configuration	L/G ratios tested	HRT tested (minutes)	CH ₄ concentration (%)
[56]	Indoor 180 L HRAP	2.2 L, metallic difusser	1; 5; 10 and 20	7 to 147	95; 88; 68 and 68
[150]	Indoor 180 L HRAP	2.5 L, metallic difusser	0.3; 0.5; 0.8 and 1	208; 125; 78 and 63	95; 98; 98 and 96
[125]	Indoor 180 L HRAP	2.5 L, metallic difusser	0.5	61	98
[66]	Outdoor 180 L HRAP	2.5 L, metallic difusser	0.5; 1; 2 and 5	96; 48; 24 and 10	86; 90; 92 and 80
[67]	Outdoor 180 L HRAP	2.5 L, metallic difusser	1	48	85 – 98
[65]	Outdoor 9.6 m ³ HRAP	150 L, Polymeric membrane	1.2; 2.1 and 3.5	27; 12 and 9	85; 89 and 90
[58]	Outdoor 180 L HRAP	2.5 L, metallic difusser			94.9; 94.6 and 95.2
		2.5 L, porous stone	0.5; 1; and 2	100; 50 and 25	88.4; 94.8 and 94.7
		2.5 L, ceramic membrane 0.2 µm			86.7; 93.0 and 93.6
		2.5 L, ceramic membrane 0.4 µm			86.0; 96.0 and 94.5

By operating the column with L/G ratios between 0.1 and 10, a complete removal of H₂S was achieved as shown in Figure 2. This could be attributed to the higher solubility of H₂S, whose Henry's constant at 25 °C is higher (2.45) compared to those of CO₂ and CH₄, with values of 0.83 and 0.03, respectively. According to studies by Marín et al. [52], [58] a total removal of H₂S was reported using synthetic biogas with a concentration of 5000 ppm of H₂S. The concentration of nitrogen in the biomethane directly depends on the desorption of N₂ dissolved in the microalgae pond. This nitrogen split causes

contamination of the biomethane decreasing the calorific power [52]. This fact is directly related to elevated L/G ratios (Figure 2). When the L/G ratio was kept around 1, the N₂ content in the biogas presented values between 3.7 and 5.8 % for hydraulic residence times of ranging from 10 to 100 minutes, respectively. This is similar to the values reported by Marín et al. (2018) [67] who recorded concentrations up to 5.8 % when operating an open-air photobioreactor coupled to an absorption column, maintaining an L/G ratio of 1 and a hydraulic residence time of 48 min. Finally, the O₂ concentration in the produced biomethane was kept below 1% when the system was operated at short L/G ratios and short HRTs, then achieving the limits of the regulation (less than 1%). It is worth to notice, that excessive L/G ratios could result in oxygen split that causes contamination with this gas and then risking the accomplishment of the requirements [126]. In this sense, nitrogen and oxygen content in biomethane reached a maximum values of 8 % $\pm$ 0.07 and 1.7 % $\pm$ 0.21, respectively, when the system was operated at the longest HRT tested of 50 min, drastically reducing the quality of the fuel.

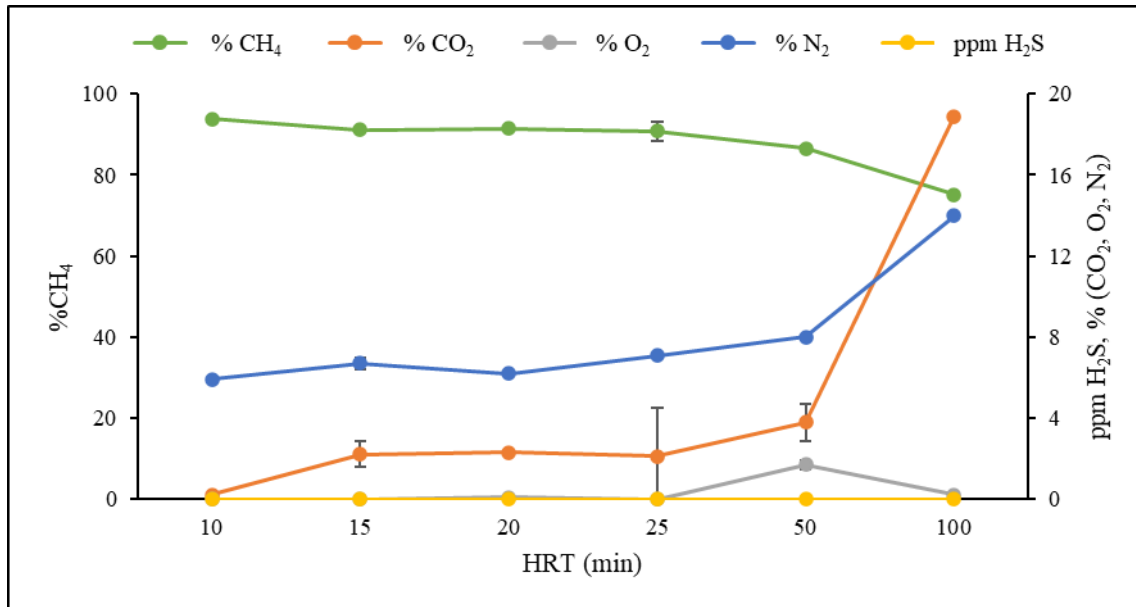


Figure 3. Biogas composition for an L/G ratio of 2.

4. Conclusions

This study demonstrates that a full-scale photosynthetic upgrading system achieves the highest methane content working at low hydraulic residence times (10 minutes) and L/G ratios slightly higher than 1 in the absorption column. The quality of the biomethane obtained meets standards for CNG vehicles utilization. Additionally, no external source of inorganic carbon was needed to reach the required carbon dioxide dissolution. Compared to previously documented the lab-scale or outdoor pilot research, this large-scale demonstration significantly surpasses their performance, reaching CH₄ concentrations greater than 95% using commercially available diffusers and without reagent consumption. These facts show a key advance towards the commercialization of this technology. This optimization study helped to produce CNG that was used in vehicles for different kind of services needed in farm during one year of demonstration. To the best of author knowledge this installation is the first microalgae-based biogas upgrading, also known as photosynthetic upgrading, that provides biomethane with a final utilization.

Acknowledgements

This work was supported by LIFE Smart Agromobility project LIFE19 CCM ES 515001206 and by Spanish “Ministerio de Universidades” with the grant FPU22/00900.

Declaration of Interest statement

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper

References

- [1] H. Li, Z. Chen, D. Fu, Y. Wang, Y. Zheng, and Q. Li, “Improved ADM1 for modelling C, N, P fates in anaerobic digestion process of pig manure and optimization approaches to biogas production,” *Renew Energy*, vol. 146, pp. 2330–2336, Feb. 2020, doi: 10.1016/J.RENENE.2019.08.086.
- [2] J. Zhou *et al.*, “Biogas production and microbial community shift through neutral pH control during the anaerobic digestion of pig manure,” *Bioresour Technol*, vol. 217, pp. 44–49, Oct. 2016, doi: 10.1016/J.BIORTECH.2016.02.077.

- [3] “Biogas from Waste and Renewable Resources,” *Focus on Catalysts*, vol. 2011, no. 9, p. 8, Sep. 2011, doi: 10.1016/S1351-4180(11)70392-0.
- [4] L. Appels, J. Baeyens, J. Degreè, and R. Dewil, “Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge,” *Prog Energy Combust Sci*, vol. 34, no. 6, pp. 755–781, Dec. 2008, doi: 10.1016/J.PECS.2008.06.002.
- [5] S. Achinas, V. Achinas, and G. J. W. Euverink, “Microbiology and biochemistry of anaerobic digesters: an overview,” *Bioreactors*, pp. 17–26, Jan. 2020, doi: 10.1016/B978-0-12-821264-6.00002-4.
- [6] N. Duan, B. Khoshnevisan, C. Lin, Z. Liu, and H. Liu, “Life cycle assessment of anaerobic digestion of pig manure coupled with different digestate treatment technologies,” *Environ Int*, vol. 137, p. 105522, Apr. 2020, doi: 10.1016/J.ENVINT.2020.105522.
- [7] A. G. Álvaro, C. R. Palomar, R. M. Torre, D. H. Redondo, and I. de Godos Crespo, “Hybridization of anaerobic digestion with solar energy: A solution for isolated livestock farms,” *Energy Conversion and Management: X*, p. 100488, 2023, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecmx.2023.100488>.
- [8] M. Safa and S. Samarasinghe, “Determination and modelling of energy consumption in wheat production using neural networks: ‘A case study in Canterbury province, New Zealand,’” *Energy*, vol. 36, no. 8, pp. 5140–5147, Aug. 2011, doi: 10.1016/J.ENERGY.2011.06.016.
- [9] Ş. Akdemir, Y. E. Miassi, I. S. Ismailla, K. F. Dossa, K. F. Oussou, and O. Zannou, “Corn production and processing into ethanol in Turkey: An analysis of the performance of irrigation systems at different altitudes on energy use and production costs,” *J Agric Food Res*, vol. 14, p. 100740, Dec. 2023, doi: 10.1016/J.JAFR.2023.100740.
- [10] F. Bauer and C. P. Hulteberg, “Biogas upgrading-Review of commercial technologies Oxyfuel SO₂ capture View project Polymer-supported Pd (II) for C-H activation of arenes View project,” 2014. [Online]. Available: <https://www.researchgate.net/publication/235932569>
- [11] R. Lebrero, A. Toledo-Cervantes, R. Muñoz, V. del Nery, and E. Foresti, “Biogas upgrading from vinasse digesters: a comparison between an anoxic biotrickling filter

and an algal-bacterial photobioreactor,” *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, vol. 91, no. 9, pp. 2488–2495, Sep. 2016, doi: 10.1002/jctb.4843.

- [12] SEDIGAS, “NORMARTIVA española BIOMETANO para uso vehicular,” *Asociación Española de Normalización*, 2018.
- [13] Asociación Española del Gas, “Gas natural y biometano para uso en transporte y biometano para inyección en la red de gas natural,” *Norma Española UNE-EN 16723-2*, 2018.
- [14] A. I. Adnan, M. Y. Ong, S. Nomanbhay, K. W. Chew, and P. L. Show, “Technologies for biogas upgrading to biomethane: A review,” Dec. 01, 2019, *MDPI AG*. doi: 10.3390/bioengineering6040092.
- [15] A. Toledo-Cervantes, R. Lebrero, C. Cavinato, and R. Muñoz, “Biogas upgrading using algal-bacterial processes,” *Microalgae-Based Biofuels and Bioproducts: From Feedstock Cultivation to End-Products*, pp. 283–304, Jan. 2017, doi: 10.1016/B978-0-08-101023-5.00012-1.
- [16] I. Angelidaki *et al.*, “Biogas upgrading and utilization: Current status and perspectives,” *Biotechnol Adv*, vol. 36, no. 2, pp. 452–466, Mar. 2018, doi: 10.1016/J.BIOTECHADV.2018.01.011.
- [17] D. Marín, A. A. Carmona-Martínez, R. Lebrero, and R. Muñoz, “Influence of the diffuser type and liquid-to-biogas ratio on biogas upgrading performance in an outdoor pilot scale high rate algal pond,” *Fuel*, vol. 275, p. 117999, Sep. 2020, doi: 10.1016/J.FUEL.2020.117999.
- [18] M. del R. Rodero, R. Ángeles, O. García-Depraect, R. Lebrero, and R. Muñoz, “Recent advances on photosynthetic biogas upgrading to biomethane,” *Biogas to Biomethane: Engineering, Production, Sustainability*, pp. 117–140, Jan. 2024, doi: 10.1016/B978-0-443-18479-6.00010-7.
- [19] D. Marín, A. A. Carmona-Martínez, S. Blanco, R. Lebrero, and R. Muñoz, “Innovative operational strategies in photosynthetic biogas upgrading in an outdoors pilot scale algal-bacterial photobioreactor,” *Chemosphere*, vol. 264, p. 128470, Feb. 2021, doi: 10.1016/J.CHEMOSPHERE.2020.128470.

- [20] D. Marín *et al.*, “Anaerobic digestion of food waste coupled with biogas upgrading in an outdoors algal-bacterial photobioreactor at pilot scale,” *Fuel*, vol. 324, Sep. 2022, doi: 10.1016/j.fuel.2022.124554.
- [21] D. Marín *et al.*, “Seasonal variation of biogas upgrading coupled with digestate treatment in an outdoors pilot scale algal-bacterial photobioreactor,” *Bioresour Technol*, vol. 263, pp. 58–66, Sep. 2018, doi: 10.1016/J.BIORTECH.2018.04.117.
- [22] A. Toledo-Cervantes, J. M. Estrada, R. Lebrero, and R. Muñoz, “A comparative analysis of biogas upgrading technologies: Photosynthetic vs physical/chemical processes,” *Algal Res*, vol. 25, pp. 237–243, Jul. 2017, doi: 10.1016/J.ALGAL.2017.05.006.
- [23] R. Ángeles *et al.*, “Optimization of photosynthetic biogas upgrading in closed photobioreactors combined with algal biomass production,” *Journal of Water Process Engineering*, vol. 38, p. 101554, Dec. 2020, doi: 10.1016/J.JWPE.2020.101554.
- [24] C. Ruiz Palomar, A. García Álvaro, R. Muñoz, C. Repáraz, M. F. Ortega, and I. de Godos, “Pre-Commercial Demonstration of a Photosynthetic Upgrading Plant: Investment and Operating Cost Analysis,” *Processes*, vol. 12, no. 12, p. 2794, Dec. 2024, doi: 10.3390/pr12122794.
- [25] M. del R. Rodero *et al.*, “Technology validation of photosynthetic biogas upgrading in a semi-industrial scale algal-bacterial photobioreactor,” *Bioresour Technol*, vol. 279, pp. 43–49, May 2019, doi: 10.1016/j.biortech.2019.01.110.
- [26] A. Toledo-Cervantes, C. Madrid-Chirinos, S. Cantera, R. Lebrero, and R. Muñoz, “Influence of the gas-liquid flow configuration in the absorption column on photosynthetic biogas upgrading in algal-bacterial photobioreactors,” *Bioresour Technol*, vol. 225, pp. 336–342, Feb. 2017, doi: 10.1016/J.BIORTECH.2016.11.087.
- [27] M. del R. Rodero, E. Posadas, A. Toledo-Cervantes, R. Lebrero, and R. Muñoz, “Influence of alkalinity and temperature on photosynthetic biogas upgrading efficiency in high rate algal ponds,” *Algal Res*, vol. 33, pp. 284–290, Jul. 2018, doi: 10.1016/J.ALGAL.2018.06.001.
- [28] A. F. Ferreira, A. Toledo-Cervantes, I. de Godos, L. Gouveia, and R. Munõz, “Life cycle assessment of pilot and real scale photosynthetic biogas upgrading units,” *Algal Res*, vol. 44, p. 101668, Dec. 2019, doi: 10.1016/J.ALGAL.2019.101668.

- [29] A. Toledo-Cervantes, M. L. Serejo, S. Blanco, R. Pérez, R. Lebrero, and R. Muñoz, “Photosynthetic biogas upgrading to bio-methane: Boosting nutrient recovery via biomass productivity control,” *Algal Res*, vol. 17, pp. 46–52, Jul. 2016, doi: 10.1016/j.algal.2016.04.017.
- [30] E. Posadas, D. Marín, S. Blanco, R. Lebrero, and R. Muñoz, “Simultaneous biogas upgrading and centrate treatment in an outdoors pilot scale high rate algal pond,” *Bioresour Technol*, vol. 232, pp. 133–141, May 2017, doi: 10.1016/J.BIORTECH.2017.01.071.
- [31] D. Marín *et al.*, “Seasonal variation of biogas upgrading coupled with digestate treatment in an outdoors pilot scale algal-bacterial photobioreactor,” *Bioresour Technol*, vol. 263, pp. 58–66, Sep. 2018, doi: 10.1016/J.BIORTECH.2018.04.117.
- [32] K. Akita and F. Yoshida, “Gas Holdup and Volumetric Mass Transfer Coefficient in Bubble Columns. Effects of Liquid Properties,” *Industrial & Engineering Chemistry Process Design and Development*, vol. 12, no. 1, pp. 76–80, Jan. 1973, doi: 10.1021/i260045a015.
- [33] K. Muroyama, K. Imai, Y. Oka, and J. Hayashi, “Mass transfer properties in a bubble column associated with micro-bubble dispersions,” *Chem Eng Sci*, vol. 100, pp. 464–473, Aug. 2013, doi: 10.1016/J.CES.2013.03.043.
- [34] A. Anbalagan *et al.*, “Continuous photosynthetic abatement of CO₂ and volatile organic compounds from exhaust gas coupled to wastewater treatment: Evaluation of tubular algal-bacterial photobioreactor,” *Journal of CO₂ Utilization*, vol. 21, pp. 353–359, Oct. 2017, doi: 10.1016/J.JCOU.2017.07.016.
- [35] J. Masojídek *et al.*, “Photosynthesis Monitoring in Microalgae Cultures Grown on Municipal Wastewater as a Nutrient Source in Large-Scale Outdoor Bioreactors,” *Biology (Basel)*, vol. 11, no. 10, Oct. 2022, doi: 10.3390/biology11101380.

Capítulo 6

***Pre-Commercial Demonstration of a Photosynthetic
Upgrading Plant: Investment and Operating Cost
Analysis***

César Ruiz, Alfonso García, Raúl Muñoz, Carlos Repáraz,
Marcelo F. Ortega, Ignacio de Godos. Processes. 12. (2024).

Pre-Commercial Demonstration of a Photosynthetic Upgrading Plant: Investment and Operating Cost Analysis

**César Ruiz Palomar^{1,2}, Alfonso García Álvaro^{1,2,*}, Raúl Muñoz^{2,3}, Carlos Repáraz⁴,
Marcelo F. Ortega⁵ and Ignacio de Godos^{1,2,*}**

¹Department of Chemical Engineering and Environmental Technology, University of Valladolid, Campus Duques de Soria, s/n, 42004 Soria, Spain; cesar.ruiz.palomar@uva.es

²Institute of Sustainable Processes, University of Valladolid, Dr. Mergelina s/n, 47011 Valladolid, Spain; raul.munoz.torre@uva.es

³Department of Chemical Engineering and Environmental Technology, University of Valladolid, Dr. Mergelina, s/n, 47011 Valladolid, Spain

⁴NTT DATA Europe & Latam Green Engineering S.L.U, Camino de la Fuente de la Mora, 1, Hortaleza, 28050 Madrid, Spain; carlos.reparaz.martin@nttdata.com

⁵ Department of Energy and Fuels, Higher Technical School of Mining and Energy Engineers, Polytechnic University of Madrid, Ríos Rosas, 21, 28003 Madrid, Spain; mf.ortega@upm.es

*Correspondence: agarcia@uva.es (A.G.Á.); ignacio.godos@uva.es (I.d.G.)

<https://doi.org/10.3390/pr12122794>

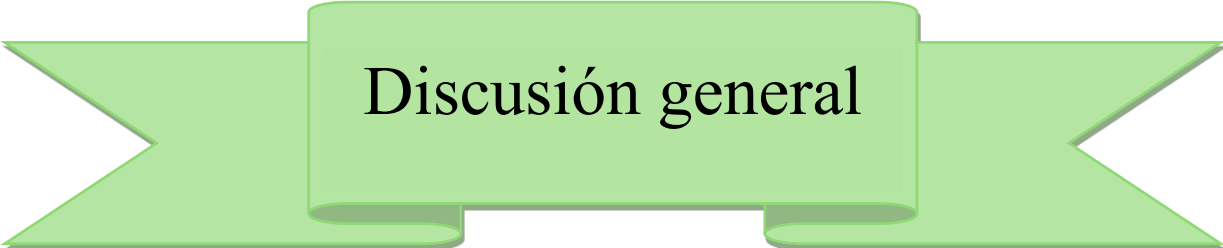
Abstract: Pig farms have been identified as one of the most important sources of greenhouse gas emissions. This study demonstrates the production of vehicle biomethane in a demonstration prototype plant based on photosynthetic upgrading technology, where the CO₂ and H₂S present in biogas are consumed by a microalgae culture. The information collected during the prototype construction allowed for an assessment of the capital and operating costs of this novel biogas upgrading technology with other conventional systems. With this objective, the costs of the equipment comprising the biogas cleaning and purification system were calculated considering a biogas flow rate of 5 m³ h⁻¹, corresponding to a small–medium biogas plant and an average pig farm size. The sustainability and competitiveness of the algae upgrading system and the low capital and operating costs vis à vis other upgrading technologies were proven. With a net energy production of 687 kWh day⁻¹ and an annual profit of 30,348 € in a 3500 head pig farm,

Capítulo 6

this technology can be easily installed in livestock farms, increasing the benefits and reducing the carbon footprint.

Capítulo 6

Capítulo 7.



Discusión general

Discusión General

Los resultados integrados de los cuatro estudios analizados consolidan la viabilidad técnica, ambiental y económica de los sistemas basados en microalgas para el tratamiento de efluentes porcinos y la valorización del biogás mediante su conversión a biometano. Esta tecnología ofrece una solución integral para las explotaciones agropecuarias, especialmente en contextos descentralizados, al abordar simultáneamente la depuración de efluentes, el *upgrading* del biogás y la producción de subproductos de valor añadido.

En primer lugar, el pretratamiento del digestato con ozono (Artículo I) mejora sustancialmente la calidad del medio para el cultivo de microalgas, sin requerir insumos químicos adicionales y con un consumo energético moderado. Aunque la eliminación de DQO fue limitada (23%), se logró una reducción significativa del color (50,8%), lo que sugiere que ciertos compuestos responsables de la DQO, como los ácidos grasos volátiles, no afectan la turbidez ni la penetración lumínica. Este aspecto es clave, ya que una mayor penetración de luz tras el tratamiento con ozono resultó en una mejora significativa del rendimiento del cultivo algal: se redujo la fase de latencia, aumentó la tasa de crecimiento y se elevó la producción de biomasa (de 0,99 a 1,09 g/L). Esto sugiere que el ozono, al modificar la matriz del digestato y eliminar parcialmente compuestos recalcitrantes, puede actuar como facilitador para la aplicación de cultivos algales en digestatos más concentrados, reduciendo la necesidad de diluciones previas.

Asimismo, el pretratamiento impactó en la disponibilidad de nutrientes, reduciendo las concentraciones de amoníaco y fosfato, lo que podría estar relacionado con reacciones de oxidación y precipitación inducidas por el aumento del pH. No obstante, se observó una eliminación menor de fósforo en el digestato tratado, probablemente debido a la pérdida de fracciones solubles disponibles para asimilación algal. En cualquier caso, la eliminación de DQO durante el cultivo fue del 50% tanto en digestato tratado como en el no tratado, confirmando la capacidad de las microalgas para degradar materia orgánica independientemente del pretratamiento, aunque con ventajas cinéticas y de eficiencia luminosa cuando se aplica ozono.

En cuanto a la variabilidad estacional, (Artículo II) complementa estos hallazgos al mostrar cómo las condiciones climáticas estacionales afectan al comportamiento de los

cultivos de microalgas en sistemas HRAP (High Rate Algal Ponds). En verano, a pesar de una alta irradiancia y temperaturas favorables, el sistema enfrentó limitaciones asociadas a la fotosaturación y anoxia nocturna prolongada, lo que limitó la eficiencia fotosintética. Sin embargo, se logró una elevada producción de biomasa (1,61 g TSS/L) y una mayor remoción de nutrientes como amoníaco (81%) y fosfato (69%). En contraste, durante el invierno, aunque la producción de biomasa fue menor (0,60 g TSS/L), se observaron mayores tasas de oxigenación, mejor eliminación de DQO (91%) y patógenos, y una notable reducción de sólidos suspendidos (96%), atribuida a una mayor eficiencia de sedimentación en condiciones frías. Estos hallazgos revelan una dualidad en el comportamiento estacional: el verano es más favorable para el crecimiento algal y la asimilación de nutrientes, mientras que el invierno optimiza procesos de clarificación, desinfección y depuración de materia orgánica. La capacidad adaptativa de las microalgas a diferentes regímenes de luz y temperatura destaca la robustez del sistema, y sugiere que la gestión estacional (por ejemplo, mediante estrategias de cosecha diferenciadas) puede optimizar los rendimientos globales del tratamiento.

El (Artículo III) confirmó la viabilidad técnica del sistema a escala real para la producción de biometano conforme a la normativa europea EN 16723-1:2016, que describe los requisitos de uso en vehículos. A través de la optimización de parámetros como la relación líquido-gas (L/G) y el tiempo de retención hidráulica (TRH), se alcanzaron niveles de metano superiores al 96% sin necesidad de aditivos químicos. Además, se logró la eliminación completa de H_2S y niveles de nitrógeno y oxígeno compatibles con el uso vehicular, validando el desempeño del sistema en condiciones reales al aire libre. Estos resultados refuerzan la idea de que los sistemas algales no solo son eficaces para tratar el digestato, sino también para integrarse en cadenas de valorización energética de biogás, permitiendo cerrar el ciclo de nutrientes y carbono dentro de explotaciones ganaderas.

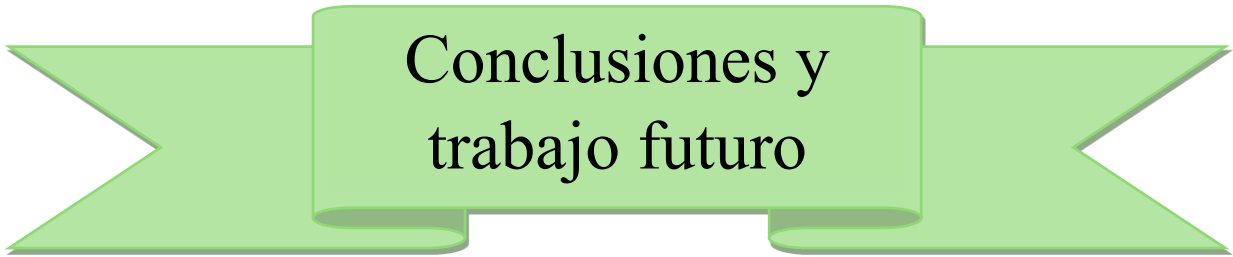
Finalmente, el (Artículo IV) analiza el aspecto económico de esta tecnología, concluyendo que los sistemas de mejora fotosintética son especialmente rentables en plantas pequeñas y medianas (entre 50 y 400 Nm^3/h), como ocurre en muchas explotaciones porcinas descentralizadas. Aunque los costos de inversión inicial son altos a bajos caudales, la modularidad del sistema y su bajo consumo energético (0,191 kWh/ m^3 de biogás) lo hacen competitivo frente a tecnologías tradicionales, como el lavado químico o la adsorción por membranas. Se resalta también la simplicidad operativa y escalabilidad del sistema, lo que lo hace especialmente atractivo en contextos rurales o

con limitaciones de infraestructura. La capacidad de generar una producción neta positiva de energía (687,1 kWh/día) refuerza su valor estratégico, especialmente en un contexto de transición energética y economía circular. Además, los desafíos operativos reportados, como obstrucciones o formación de espuma, se consideran manejables mediante soluciones sencillas.

En conjunto, los cuatro estudios respaldan el uso de cultivos de microalgas como una tecnología circular que conecta el tratamiento de residuos agroindustriales con la producción de energía limpia y recursos reutilizables. La combinación de pretratamiento con ozono, cultivo algal adaptado a condiciones estacionales, *upgrading* fotosintético del biogás y producción de biometano de calidad, ofrece una solución tecnológicamente madura, ambientalmente sostenible y económicamente viable. Además, su flexibilidad operativa y escalabilidad la convierten en una alternativa especialmente adecuada para zonas rurales o instalaciones de tamaño medio que buscan autosuficiencia energética y cumplimiento ambiental. Este enfoque multietapa permite cerrar el ciclo de nutrientes, reducir la huella ambiental de la producción porcina y avanzar hacia modelos de economía circular en el sector agropecuario.

Cabe señalar que, cada aspecto ha sido estudiado por separado. Solo el *upgrading* se evaluó a escala prototipo industrial; el pretratamiento y la reutilización de aguas fueron ensayos de laboratorio o semi-piloto. Además, estos estudios, en el marco del proyecto LIFE SMART AgroMobility, respaldan una tecnología circular que conecta tratamiento de residuos, producción de energía limpia y reutilización de recursos. Su modularidad, escalabilidad y bajo impacto ambiental la hacen ideal para instalaciones agropecuarias que buscan autosuficiencia y economía circular.

Capítulo 8.



Conclusiones y
trabajo futuro

Conclusiones y trabajo futuro

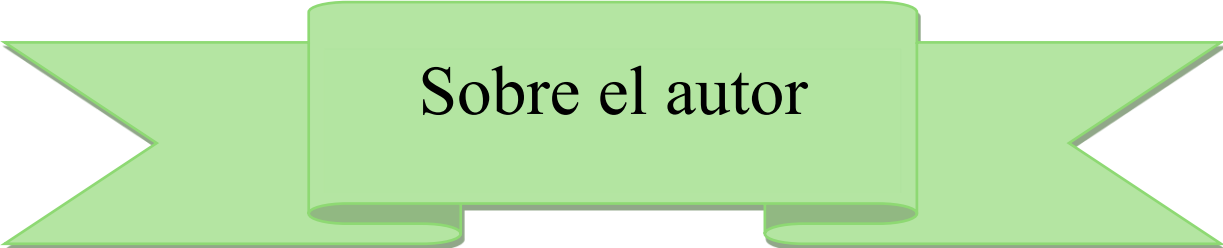
Esta tesis evaluó el potencial de los cultivos de microalgas como una alternativa sostenible para el tratamiento de purines de cerdo, enfocándose en cuatro ejes: limpieza de biogás mediante mejora fotosintética, reutilización del efluente tratado, aplicación de ozono como pretratamiento y análisis técnico-económico de la tecnología a escala precomercial.

Primero (Capítulo 3), se abordó el problema de la alta turbidez del digestato, que limita el crecimiento de microalgas. El pretratamiento con ozono demostró ser eficaz al mejorar la transparencia del medio, incrementar la productividad de biomasa y reducir la necesidad de dilución, mejorando así la eficiencia del cultivo algal. En segundo lugar (Capítulo 4), se estudió la capacidad de las microalgas para depurar efluentes en distintas condiciones estacionales. Se encontró que, mientras en verano se favorece la eliminación de nutrientes, en invierno se optimiza la remoción de materia orgánica y la desinfección. La calidad del agua tratada en invierno fue especialmente destacable, alcanzando niveles adecuados para su reutilización en riego agrícola, incluso bajo condiciones ambientales desfavorables. Posteriormente (Capítulo 5), se implementó un sistema de mejora fotosintética del biogás a escala real, que logró altos niveles de purificación sin necesidad de insumos químicos adicionales. El sistema funcionó de manera estable durante un año, y el biometano producido fue utilizado con éxito como combustible vehicular en un entorno agrícola, demostrando su aplicabilidad práctica y su potencial para ser replicado. Desde el punto de vista económico (Capítulo 6), se comprobó que esta tecnología es competitiva para plantas de producción descentralizada, especialmente en entornos rurales. Presenta bajos costes operativos y una calidad constante del biometano, incluso bajo condiciones meteorológicas variables, lo que refuerza su atractivo para explotaciones ganaderas medianas o pequeñas.

En cuanto al trabajo futuro, se propone validar la robustez del sistema en diferentes contextos y tipos de sustrato, ampliar su aplicación a diversas instalaciones agroindustriales, y optimizar tanto el diseño de fotobiorreactores como el uso de cepas algales más resistentes o mejoradas. También se destaca la necesidad de integrar esta tecnología dentro de modelos de bioeconomía circular, donde el tratamiento de residuos, la producción de energía y la reutilización del agua estén interconectados de manera eficiente.

En conjunto, esta tesis demuestra que los sistemas basados en microalgas son una solución viable y prometedora para el tratamiento de purines y la producción sostenible de biometano, sentando las bases para su escalado industrial y su adopción en escenarios reales.

Capítulo 9.



Sobre el autor

Biografía

César Ruiz Palomar nació en Soria el 16 de octubre de 1992. Es ingeniero forestal, investigador y especialista en bioenergía y sostenibilidad. Realizó el Grado en Ingeniería Forestal e Industrias Forestales en la Universidad de Valladolid (UVa) entre 2012 y 2017. Posteriormente, entre 2018 y 2019,



cursó el Máster en Bioenergía y Sostenibilidad Energética en la misma universidad, donde desarrolló su Trabajo Fin de Máster titulado *"Reducción de patógenos en agua de consumo y reutilizadas mediante aplicación de luz ultravioleta de bajo consumo"*. En febrero de 2021, inició sus estudios de doctorado en el Departamento de Ingeniería Química y Tecnología del Medio Ambiente en la Universidad de Valladolid (Campus de Soria). Se incorporó como investigador contratado por la Fundación General de la Universidad de Valladolid dentro del proyecto LIFE SMART AgroMobility, participando en el diseño, puesta en marcha y operación de una planta de producción de biometano a partir de la digestión anaerobia de purines de cerdo. Durante los últimos cuatro años, su investigación se ha centrado en el cultivo de microalgas para la depuración de aguas y la purificación de biometano, bajo la dirección del Dr. Ignacio de Godos Crespo y la Dra. M^a Daphne Hermosilla Redondo, y con la tutela del Dr. Raúl Muñoz Torre. A lo largo de su trayectoria académica, ha recibido varias becas, incluyendo cinco de la Cátedra de la Caja Rural: una durante sus estudios de máster y cuatro durante el doctorado. Además de recibir un premio en el programa Prometeo. Desde el 1 de febrero de 2021, forma parte del Grupo de Investigación Reconocido (GIR) ECOGES. En octubre de 2021, realizó una estancia de un mes en la Escuela Técnica Superior de Ingeniería de Montes de la Universidad Politécnica de Madrid (UPM), colaborando con el grupo de investigación liderado por la Dra. M^a Daphne Hermosilla Redondo y el Dr. Antonio M^a Gascó Guerrero. Es autor de varias publicaciones científicas. Entre sus trabajos más destacados se encuentra el: Capítulo de revisión publicado en 2022 en la revista *Springer Nature*, titulado *"Biofuels in Low Carbon Economies and Societies"*. Artículo de investigación publicado en 2024 en la revista *Water*: *"Ozonation as Pretreatment of Digested Swine*

Manure Prior to Microalgae Culture". Artículo de investigación publicado en 2024 en la revista *Processes: "Pre-commercial Demonstration of a Photosynthetic Upgrading Plant: Investment and Operating Cost Analysis"*. Actualmente reside en Soria y se le puede contactar a través del correo electrónico Cesar.ruiz.palomar@uva.es o llamando al 638 491 161.

Publicaciones en Revistas Internacionales Indexadas

1. **César Ruiz Palomar**, Alfonso García Álvaro, Daphne Hermosilla, Antonio Gascó, Raúl Muñoz, and Ignacio de Godos. Ozonation as Pretreatment of Digested Swine Manure Prior to Microalgae Culture. *Water* (Basel), vol. 16, no. 12, p. 1740, Jun. 2024. <https://doi.org/10.3390/w16121740>.
2. **César Ruiz Palomar**, Alfonso García Álvaro, Raúl Muñoz, Carlos Repáraz, Marcelo F. Ortega, and Ignacio de Godos. Pre-Commercial Demonstration of a Photosynthetic Upgrading Plant: Investment and Operating Cost Analysis. *Processes*, vol. 12, no. 12, p. 2794, Dec. 2024. <https://doi.org/10.3390/pr12122794>.
3. **César Ruiz Palomar**, Alfonso García Álvaro, Daphne Hermosilla, Félix Gaspar Gonzalo Ibrahim, Raúl Muñoz, and Ignacio de Godos. Comparative Analysis of Livestock Wastewater Reuse Under Summer and Winter Conditions at a Scale-Down Microalgae Culture. *Water* 2025, Vol. 17, no. 10, p. 1483, May. 2025. <https://doi.org/10.3390/W17101483>
4. Alfonso García Álvaro, **César Ruiz Palomar**, Israel Díaz Villalobos, Daphne Hermosilla Redondo, Raúl Muñoz Torre, Ignacio de Godos Crespo. Improving biogas yield from wheat straw with thermal pretreatment. Energy integration study. *Energies*, vol. 17 no. 9, 2024. <https://doi.org/10.3390/en17092030>.
5. Alfonso García Álvaro, **César Ruiz Palomar**, Daphne Hermosilla Redondo, Raúl Muñoz Torre, Ignacio de Godos Crespo. Hybridization of anaerobic digestion with solar energy: A solution for isolated livestock farms. *Energy Conversion and Management*: X, vol 20, no. 100488, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.ecmx.2023.100488>.
6. Alfonso García Álvaro, **César Ruiz Palomar**, Daphne Hermosilla Redondo, Raúl Muñoz Torre, Ignacio de Godos Crespo. Simultaneous production of biogas and volatile fatty acids through anaerobic digestion using cereal straw as substrate.

- Environmental Technology & Innovation, vol. 31 no. 103215. 2023. <https://doi.org/10.1016/J.ETI.2023.103215>.
7. Alfonso García Álvaro, **César Ruiz Palomar**, Daphne Hermosilla Redondo, Raúl Muñoz Torre, Ignacio de Godos Crespo. Improving the anaerobic digestion process of wine lees by the addition of microparticles. Water, vol. 16 no. 1, 2023. <https://doi.org/10.3390/w16010101>.
 8. Alfonso García Álvaro, **César Ruiz Palomar**, Edgardo I. Valenzuela, Daphne Hermosilla Redondo, Raúl Muñoz Torre, Ignacio de Godos Crespo. Microbial analysis of anaerobic digester reveals prevalence of manure microbiota. Journal of Water Process Engineering, Vol. 60, No. 105162, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2024.105162>
 9. Vignesh Kumaravel, Stephen Rhatigan, Snehamol Mathew, Marie Clara Michel, John Bartlett, Michael Nolan, Steven J Hinder, Antonio Gascó, **César Ruiz Palomar**, Daphne Hermosilla, Suresh C Pillai. Mo doped TiO₂: impact on oxygen vacancies, anatase phase stability and photocatalytic activity. Journal of Physics: Materials, Vol. 3, No. 2, 2020. <https://doi.org/10.1088/2515-7639/ab749c>

Capítulos de libros

1. **César Ruiz Palomar**, Alfonso García Álvaro, Raúl Muñoz Torre, Ignacio de Godos Crespo. Biofuels in Low Carbon Economies and Societies. Springer Nature. (pp. 31–58), 2022. https://doi.org/10.1007/978-981-19-5837-3_3
2. Alfonso García Álvaro, **César Ruiz Palomar**, Vanessa de Almeida Guimarães, Eva Blasco Hedo, Raúl Muñoz Torre, Ignacio de Godos Crespo. Developmental Perspectives of the Biofuel-Based Economy. Springer Nature. (pp. 133–156), 2022. https://doi.org/10.1007/978-981-19-5837-3_9
3. Ignacio de Godos Crespo, Alfonso García Álvaro, **César Ruiz Palomar**, Félix Gaspar Ibrahim, Raúl Muñoz Torre. Algal-Bacterial Consortia, from Fundamental Interactions to Environmental Applications. Springer International Publishing. (pp. 65–77), 2023. https://doi.org/10.1007/978-3-031-17226-7_4
4. Alfonso García Álvaro, **César Ruiz Palomar**, Laura Sánchez, Marcelo Ortega, Ignacio de Godos Crespo. From farm to fuel: microalgae technology to produce novel and sustainable fuel. Circular Economy on Energy and Natural Resources Industries, Springer Nature. (pp 37-51), 2024. https://doi.org/10.1007/978-3-031-56284-6_3

Participación en conferencias

1. Ignacio de Godos Crespo, **César Ruiz Palomar**, Alfonso García Álvaro, Raúl Muñoz Torre, Bernardo Llamas Moya, Laura Sánchez Martín. *Producción de biometano en instalaciones de bajo coste: una solución para la reducción de gases de efecto invernadero en la ganadería*. XI Congreso Ibérico de Agroingeniería. 11-12 noviembre 2021. Online. Presentación oral.
2. **César Ruiz Palomar**, Alfonso García Álvaro, Raúl Muñoz Torre, Bernardo Llamas Moya, Ignacio de Godos Crespo. *Decoloración de digestato mediante fotoxidación para cultivo de microalgas*. XIV Congreso Español de Tratamiento de Aguas. 1-3 junio 2022. Sevilla. Poster.
3. **César Ruiz Palomar**, Alfonso García Álvaro, Félix Gaspar Gonzalo Ibrahim, Ignacio de Godos Crespo. *Simulation of outdoor conditions for the cultivation of microalgae in a small-scale photobioreactor*. EcoSTP 6th IWA International Conference on eco-Technologies for Wastewater Treatment. 26-29 Junio 2023. Girona. Poster.
4. Ignacio de Godos Crespo, **César Ruiz Palomar**, Alfonso García Álvaro. *Coste en plantas porcinas: una solución para la emisión de gases de efecto invernadero*. Reto de las energías renovables, eficiencia energética y biodiversidad en el mundo agropecuario. 11 julio 2022. Soria. Presentación oral.

Estancias de investigación

Escuela Técnica Superior de Ingeniería de Montes de la Universidad Politécnica de Madrid (UPM). Septiembre 2021 - Octubre 2021 Supervisor: Profesora Daphne Hermosilla Redondo.

Participación en proyectos de investigación

- Procesamiento de residuos ganaderos, para la producción de biometano para su uso en vehículos agrícolas y biofertilizantes (LIFE Smart Agromobility). Life Climate change mitigation CCM/ES/001206. I.P. Bernardo Llamas Moya, Marcelo Fabian Ortega Romero.
- Cátedra C.I. Caja Rural: Diseño, puesta en marcha y seguimiento de una planta de biogás para la optimización en la generación de bioenergía. Universidad de Valladolid. 2020/2021. I.P. César Ruiz Palomar

Capítulo 9

- Cátedra C.I. Caja Rural: Puesta en marcha, y seguimiento de una planta de producción de biometano para uso vehicular. Universidad de Valladolid. 2022/2023. I.P. César Ruiz Palomar.
- Cátedra C.I. Caja Rural: Optimización en la operación de una planta de producción de biometano para uso vehicular. Universidad de Valladolid. 2023/2024. I.P. César Ruiz Palomar.
- Cátedra C.I. Caja Rural: Determinación del potencial de adsorción de amonio presente en digestato usando biochar como adsorbente. Universidad de Valladolid. 2024/2025. I.P. César Ruiz Palomar.
- Programa Prometeo: Cultivo de microalgas en laguna tipo raceway para la desinfección y reutilización del agua. Fundación General de la Universidad de Valladolid (FUNGE). 2021/2022. I.P. César Ruiz Palomar.

Enseñanza y tutoría de estudiantes

- Co-supervisor de alumnos: Trabajo Fin de Máster en Máster en Ingeniería de la Bioenergía y Sostenibilidad Energética de la Universidad de Valladolid.
 - Alumno: Irene Ortega Álvarez. Título: Estudio del crecimiento del “*Triticum Aestivum*” mediante el uso de biofertilizantes. Curso 2021/2022.
 - Alumno: Aitor Ridruejo Romera. Título: Estudio del *upgrading* fotosintético de biogás a biometano mediante columna de absorción y microalgas en una planta de digestión anaerobia en Sauquillo de Boñices (Soria). Curso 2022/2023.
- Tutor de alumnos en el programa: Bachillerato de Investigación/Excelencia de Ciencia y Tecnología de Soria organizado por la Escuela de Ingeniería de la Industria Forestal, Agronómica y de la Bioenergía (Soria).
 - Alumnos: Marcos Martínez Jiménez, Alberto Virto Calvo. Título: Identificación de suelos en la provincia de Soria. Curso 2022/2023.
 - Alumnos: África Grande Alcalde, Iker Omeñaca de Miguel. Título: Evaluación de microalgas como bioestimulante para la germinación de semillas. Curso 2023/2024.

Asistencia a cursos cortos y seminarios

1. Seminario Excel para investigadores. Universidad de Valladolid. 25/11/2022 – 25/11/2022. 4 horas.

Capítulo 9

2. Bibliometría en la evaluación de resultados de la investigación. Primera edición. Universidad de Valladolid. 1/12/2022 – 14/12/2022. 12 horas.
3. Ética y buenas prácticas en la investigación. Universidad de Valladolid. 13/12/2022 – 13/12/2022. 4 horas.
4. Recursos de información para doctorandos. Primera edición. Universidad de Valladolid. 24/01/2022 – 25/02/2022. 40 horas.
5. Valorización de resultados de investigación y creación de EBTS (ciencias, ciencias de la salud, ingenierías y arquitectura). Universidad de Valladolid. 01/12/2021 – 02/12/2021. 6 horas.
6. Iniciación a la escritura y publicación de artículos científicos (Ingeniería y Arquitectura). Universidad de Valladolid. 17/12/2021 – 17/12/2021. 4 horas.
7. Cómo escribir abstracts y artículos en inglés (programa de doctorado de las áreas de ciencias, ciencias de la salud, ingeniería y arquitectura). Universidad de Valladolid. 11/03/2022 – 25/03/2022. 16 horas.
8. Valorización de resultados de investigación y creación de EBTS (ciencias, ciencias de la salud, ingenierías y arquitectura). Universidad de Valladolid. 26/04/2022 – 27/04/2022. 6 horas.

Agradecimientos

Realizar esta tesis doctoral ha sido un camino desafiante, pero también lleno de aprendizaje y crecimiento personal. No habría sido posible sin el apoyo de muchas personas a quienes deseo expresar mi más profundo agradecimiento. En primer lugar, a mis padres, cuyo amor incondicional, sacrificio y apoyo han sido la base sobre la que he construido este camino académico. Su confianza en mí y sus palabras de aliento han sido mi mayor motivación. A mis directores de tesis, Ignacio y Daphne, por su orientación, paciencia y sabiduría. Gracias por compartir su conocimiento y brindarme las herramientas necesarias para desarrollar este trabajo. Su compromiso y dedicación han sido fundamentales en este proceso. A mi tutor, Raúl, por su guía y apoyo constante, siempre dispuesto a ayudar y a aportar su experiencia para mejorar cada aspecto de esta investigación. A mis compañeros de laboratorio y despacho, Alfonso, Nuski y Miguel. Gracias por su amistad, por los momentos de apoyo en los momentos difíciles, por las conversaciones que hicieron el día a día más llevadero y por su ayuda invaluable en cada experimento y análisis. A mis amigos, quienes con su compañía, consejos y apoyo incondicional han hecho que este camino fuera más ameno y llevadero. Gracias por estar ahí en cada momento. Finalmente, agradezco a mi familia en su totalidad, por su comprensión y paciencia durante estos años de esfuerzo y dedicación. Esta tesis no habría sido posible sin cada uno de ustedes. ¡Gracias de corazón!