

## II-367 - UTILIZAÇÃO DE EFLUENTE DOMÉSTICO PARA PRODUÇÃO DE MICROALGAS EM FOTOBIOREATOR COLUNA DE BOLHAS

**Gabriel Campos Vieira** <sup>(1)</sup>

Engenheiro Ambiental pela Universidade Federal de Viçosa (2015). Mestrando em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos, Universidade de Brasília (UnB).

**Maria Lúcia Calijuri** <sup>(2)</sup>

Engenheira Civil pela Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo - USP (1977). Doutora em Engenharia Civil pela Universidade de São Paulo, área de concentração Geotecnia (1988). Professora Titular, Departamento de Engenharia Civil, Universidade Federal de Viçosa- UFV.

**Mariana Daniel Tango** <sup>(3)</sup>

Engenheira Ambiental pela Universidade Federal de Viçosa (2012). Mestre em Engenharia Civil, área de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Viçosa- UFV.

**Mauro Henrique Batalha de Souza** <sup>(4)</sup>

Graduando em Engenharia Ambiental pela Universidade Federal de Viçosa.

**Matheus Marazzo Fernandes** <sup>(5)</sup>

Graduando em Engenharia Ambiental pela Universidade Federal de Viçosa.

**Endereço** <sup>(1)</sup>: SQN, Quadra 407, Bloco Q - Brasília - DF - CEP: 70855-000 - Brasil - Tel: (61) 9935-1695 - e-mail: [camposvieiragabriel@gmail.com](mailto:camposvieiragabriel@gmail.com)

### RESUMO

Fotobiorreatores coluna de bolhas representam um dos principais tipos de reatores desenvolvidos para o cultivo de microalgas visando o aproveitamento da biomassa, principalmente no setor de bioenergia. Com intuito de minimizar os custos relacionados à produção, autores apontam o potencial de integrar a produção de biomassa ao tratamento de efluentes. O objetivo desse trabalho foi avaliar a produção de microalgas em fotobiorreator (FBR) coluna de bolhas de escala piloto com a utilização de efluente doméstico anaerobiamente tratado como meio de cultivo. Ao meio de cultivo foi adicionado 10% (v/v) de inóculo coletado de lagoa de alta taxa operada continuamente para a simultânea produção de microalgas e o tratamento de efluente doméstico anaeróbio. A mistura do meio líquido foi realizada com uso de compressor de ar diafragmático e o pH foi mantido entre 6 e 8 através do enriquecimento do ar com 6,5 % (v/v) de CO<sub>2</sub> puro. O experimento foi conduzido durante uma batelada, com coletas diárias do efluente às 17:30, para a análise das variáveis físicas e químicas de qualidade da água. O crescimento da biomassa no reator pôde ser acompanhado a partir das concentrações de SSV, clorofila-*a* e feofitina. O pH e a temperatura foram monitorados em tempo real. O oxigênio dissolvido (OD) e a radiação fotossinteticamente ativa (PAR) foram medidas diariamente às 6:30, 12:00 e 17:30. Até a centésima hora de monitoramento, quando a PAR apresentava valores inferiores a 500  $\mu\text{mol/s.m}^2$ , registrou-se no máximo 200 mg/L de SST e 2 mg/L de clorofila-*a*. A partir de então, em dias em que a PAR atingiu 2450  $\mu\text{mol/s.m}^2$ , registraram-se 800 mg/L de SSV e 11 mg/L de clorofila-*a*. O fim da batelada foi marcado pelo aumento de feofitina e decaimento de clorofila-*a* e SSV, provavelmente promovido pelo esgotamento do fósforo solúvel e do nitrogênio amoniacal, os quais foram totalmente assimilados pela biomassa três dias antes do fim do monitoramento. A remoção de DQO solúvel foi de 32% e houve remoção de 2 unidades logarítmicas de organismos indicadores de contaminação fecal (*E. coli*). Determinou-se o acúmulo de 7,2% de lipídeos na biomassa seca e produtividade lipídica de 5,6 g/m<sup>2</sup>.d. O experimento contribuiu para a melhor compreensão do funcionamento de um FBR coluna de bolhas, podendo concluir sobre o potencial de utilização dessa tecnologia de tratamento de efluentes aliada à produção de biomassa.

**PALAVRAS-CHAVE:** Microalgas, fotobiorreator coluna de bolhas, efluente doméstico anaeróbio, tratamento terciário de efluente, conteúdo lipídico.

### INTRODUÇÃO

Diante da demanda por fontes alternativas de energia, as microalgas são consideradas uma das mais promissoras para a produção de biocombustíveis. Uma vez que algumas espécies de microalgas convertem o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) em biomassa rica em lipídeos à uma taxa fotossintética até 50% maior que outras

culturas vegetais (WANG et al., 2008), o aproveitamento do biodiesel extraído desses organismos é atualmente avaliado frente ao uso de culturas oleaginosas como soja, milho e a cana-de-açúcar, principalmente por não competirem por terras agricultáveis para sua produção (WIJFFELS E BARBOSA, 2010).

Além de água e luz, as microalgas necessitam de nutrientes como qualquer planta superior para seu desenvolvimento. Uma opção interessante do ponto de vista econômico e ambiental é a utilização de esgoto doméstico para a produção de biomassa algal, uma vez que esse efluente possui nutrientes necessários para o desenvolvimento das algas. Tal abordagem, além de reduzir a demanda por *inputs* como água, nitrogênio e fósforo, responsáveis por até 30% dos custos da produção de biomassa, pode mitigar impactos ambientais como a eutrofização de corpos d'água (CHISTI, 2007; PARK et al., 2011; HONDA et al., 2012).

Em tese, a biotecnologia de microalgas é uma forma mais sofisticada de agricultura, na qual a produção intensiva de microalgas é realizada em reatores especialmente dimensionados, que podem ser abertos (como as lagoas de alta taxa – LATs) ou fechados (também denominados fotobiorreatores – FBRs) (OZKAN et al., 2012; VASUMATHI et al., 2012), classificados de acordo com o seu *design* ou adequação aos requisitos específicos de determinada cultura. Especificamente, um FBR de coluna de bolhas é composto de uma coluna com a aeração localizada em sua base. Em geral, tal tipologia promove boa movimentação radial do fluido, possui baixa relação superfície/volume, boa mistura, baixa tensão de cisalhamento, baixo consumo energético, estabilidade de temperatura, baixa possibilidade de contaminação, boa imobilização de algas, boa transferência de massa e *hold up* de gases (MATA et al., 2010). Dentre as limitações, destacam-se a pequena superfície de iluminação e dificuldade de ampliação de escala (MATA et al., 2010).

A presente proposta pretendeu avaliar o cultivo de microalgas em efluente doméstico previamente tratado a nível secundário (reator UASB), visando tanto a produção de biomassa, como o tratamento do efluente. Objetivou-se ampliar o conhecimento em relação às microalgas, identificar fatores que potencializam sua produção em FBRs coluna de bolhas, fornecendo subsídios para viabilizar a produção de biocombustíveis.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na área externa do Laboratório de Engenharia Sanitária e Ambiental (LESA) no campus da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, Minas Gerais (20°45'14''S, 42°52'54''W), durante o período de 24/07/2015 à 01/08/2015.

O FBR coluna de bolhas consistiu em três tubos de acrílico independentes, com fundo em formato de meia esfera, diâmetro de 15 cm e volume útil de 16 litros cada. Os tubos foram dispostos paralelamente em um suporte de madeira na posição vertical, de forma a melhor aproveitar a iluminação solar durante todo o dia. A mistura do meio de cultivo foi realizada em período integral, através do borbulhamento de 11,0 L/min de ar (0,71 vvm) enriquecido com CO<sub>2</sub> (6,5%, v/v). O ar para a mistura foi fornecido por um compressor de ar diafragmático de potência (Pt) 0,25 kW, e conduzido para cada tubo de acrílico através de mangueira pneumática seguida de tubo de PVC conectado a dispersor de pedra porosa cilíndrica (As-001 22x12mm). Para o controle dos fluxos, foram instalados registros/válvulas e fluxômetros de precisão 0-15,0 L/min. O suplemento de CO<sub>2</sub> foi controlado a partir da variação do pH nas unidades. O pH foi mantido entre 6 e 8, sendo que ao atingir o valor de 8,0 a adição de CO<sub>2</sub> era acionada e mantida até que o valor atingisse 6. Para tal sistema automatizado, foi utilizada uma sonda para medição em tempo real de pH e temperatura (controlador sc200 da marca HACH e sensor analógico de pH diferencial para efluentes), com sistema de emissão de sinal elétrico compatível com válvula solenóide para controle da adição de CO<sub>2</sub>.

Como meio de cultivo do FBR, foi utilizado efluente doméstico previamente tratado por reator UASB em escala real. O inóculo adicionado ao sistema (10%, v/v) foi coletado de uma LAT piloto aplicada ao tratamento do mesmo tipo de efluente coletado para a utilização como meio de cultivo no FBR. O meio de cultivo foi avaliado durante uma operação *outdoor* do FBR, que foi realizada em batelada. Os três tubos de acrílico possuíam dimensões idênticas e foram operados simultaneamente com o mesmo meio de cultivo, mistura, suplemento de CO<sub>2</sub> e porcentagem de inóculo, a fim de representarem um único sistema de tratamento.

A radiação solar fotossinteticamente ativa (PAR) incidente (400 – 700 nm) e oxigênio dissolvido (OD) foram medidos em campo três vezes ao dia, às 6:30, 12:00 e 17:30 horas. A PAR foi medida através do radiômetro

LICOR – LI-193 Underwater Spherical Quantum Sensor e OD com uso de sonda da marca Hach, modelo HQ40d (Luminescent Dissolved Oxygen) para oxigênio dissolvido. O pH e a temperatura foram monitorados em tempo real, através do controlador sc200 da marca HACH e sensor analógico de pH diferencial para efluentes.

O meio de cultivo foi coletado de forma composta diariamente às 17:30 horas. Para tanto, amostras simples de 300 mL coletadas de cada tubo foram misturadas em um recipiente maior e a amostra composta foi então acondicionada para análises. As análises físicas e químicas seguiram essencialmente as disposições do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005): alcalinidade total (2330–Alc B), demanda química de oxigênio (5220–DQO D) e demanda química de oxigênio filtrada (5220–DQOf D – amostra filtrada a 0,45 µm), sólidos suspensos totais (2540–SST D) e voláteis (2540–SSV E), nitrato (4500–N–NO<sub>3</sub><sup>-</sup> E), nitrito (4500–N–NO<sub>2</sub><sup>-</sup> B), nitrogênio amoniacal (4500–N–NH<sub>4</sub><sup>+</sup> C), nitrogênio total kjeldahl (4500–N–Norg C), fósforo total (4500–PT D) e fósforo solúvel (4500–PS D – amostra filtrada a 0,45 µm). O N–Norg foi determinado por diferença entre o N–NTK e N–NH<sub>4</sub><sup>+</sup>.

A variável SSV foi utilizada como medida indireta da concentração de biomassa total (algas, bactérias e outros) ao final das operações. O desenvolvimento de microalgas foi acompanhado através do monitoramento da clorofila-*a* e feofitina de acordo com NUSH (1980), modificado segundo a Norma Holandesa (NEDERLANDS NORM NEN 6520,1981). A operação foi interrompida quando a concentração de feofitina superou a concentração de clorofila-*a* por dois dias consecutivos.

O conteúdo lipídico foi avaliado no final da batelada, por meio da extração via solvente. A biomassa foi concentrada em centrífuga refrigerada de alta rotação (Hitachi CR 21 GII, rotor R10A3), a 10.000 rpm e 15°C, 10.000 rpm por 3 minutos. Após concentração, a biomassa foi submetida à estufa a 50 ± 10 °C por 12 horas. A biomassa seca foi macerada e mantida em dessecador para pesagem em balança de precisão 0,1g. Para o rompimento celular e liberação dos lipídeos, foram adicionados 5 mL de HCl 3M, 4 mL de éter de petróleo e 25 mL de metanol. A mistura foi então levada a aquecimento em chapa aquecedora por 15 minutos a 50°C. Procedeu-se a 3 extrações via solvente em funis de separação com adições de 10 mL, 20 mL e 10 mL de éter de petróleo na primeira, segunda e terceira extração, respectivamente. O éter de petróleo foi escolhido, pois é um solvente orgânico menos polar, característica que permite a extração de lipídeos de maior interesse para a produção de biodiesel e menos impurezas, pigmentos e lipídeos não neutros, se comparado ao clorofórmio (ASSEMANY et al., 2013). Após a extração, o óleo + solvente foi lavado com acetado de chumbo (10 mL, a 4%) para a retirada de impurezas e pigmentos. Em seguida, o óleo foi quantificado por gravimetria, com a evaporação de solvente em chapa aquecedora (50°C) e posterior secagem em estufa por 2 horas a 105°C. A determinação do teor lipídico foi feita em duplicata. A produtividade lipídica foi obtida pelo produto da produtividade de biomassa total verificada ao final da operação (mg SSV/L.d e/ou g SSV/m<sup>2</sup>.d) pelo teor lipídico.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Caracterização do meio de cultivo e das condições ambientais

O efluente utilizado como meio de cultivo apresentou as seguintes características: 22 °C, pH de 7, 2 mg/L de OD, 54 mg/L de SST, 50 mg/L de SSV, 45 mg/L de N–NTK, 33 mg/L de N–NH<sub>4</sub>, 13 mg/L de N–Norg, 1 mg/L de N–NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, 0,01 mg/L de N–NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, 252 mg/L de DQO total, 98 mg/L de DQOf, 4 mg/L de PT, 4,5 mg/L de PS, N/P de 10 e 4,9 x 10<sup>5</sup> NMP/100 mL de *E. coli*. Para a determinação de N/P, considerou-se o nitrogênio nas formas de N–NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, N–NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e N–NO<sub>2</sub><sup>-</sup> e o PS no meio. Mesmo reduzidas, as concentrações de OD e nitrato não são esperadas em um efluente anaeróbio. Todavia, o reator UASB se localizava a aproximadamente 300 m de onde o efluente foi coletado, e o transporte em regime turbulento pode ter contribuído para a incorporação de OD.

A PAR registrada às 12:00 horas pouco variou durante as 90 horas iniciais de cultivo (dados não exibidos), com valores inferiores à 500 µmol/s.m<sup>2</sup>. Importante destacar as condições de chuva entre o segundo e quarto dia de operação, caracterizando dias nublados e pouco ensolarados. A partir de então, a PAR atingiu valores superiores a 2000 µmol/s.m<sup>2</sup> (dados não exibidos) até o fim da operação, em dias bastante ensolarados. Como consequência, similar comportamento pôde ser observado na temperatura do sistema, com picos de 42 °C e amplitude de até 28 °C durante o dia. Não foi observado o efeito chamado *biofouling*, em que as células ficam

aderidas ao recipiente do fotobiorreator, como reportado por Arbib et al. (2013) em baixas temperaturas e acima de 35 °C. Observou-se que o comportamento do OD também foi similar ao da PAR e temperatura, alcançando valores superiores a 11 mg/L em dias com ambas as variáveis elevadas, provavelmente resultado de maior atividade fotossintética. Os valores mais baixos de OD registrados ao longo da operação foram medidos no início do dia, às 6:30 horas. Esse fato pode ser resultado da respiração dos microrganismos, da ausência de fotossíntese durante a noite e da ocorrência de degradação aeróbia de matéria orgânica pelos microrganismos presentes no FBR. Sob a condição de reduzida disponibilidade luminosa, algumas algas como a *Chlorella protothecoides*, *Chlorella minutissima*, *Scenedesmus bijuga* e *Chlamydomonas globosa* (BHATNAGAR et al., 2011) utilizam o metabolismo heterotrófico para a assimilação de carbono orgânico (BECKER, 1994).

### Controle do pH com adição de CO<sub>2</sub>

A Figura 1 apresenta um exemplo do comportamento do pH durante o dia 27/07 (aproximadamente após 65 horas de operação) das 6:00 da manhã às 6:00 da manhã seguinte. Foi escolhido um dia que representasse a variação do pH ao longo da operação e que fosse de preferência no período intermediário.

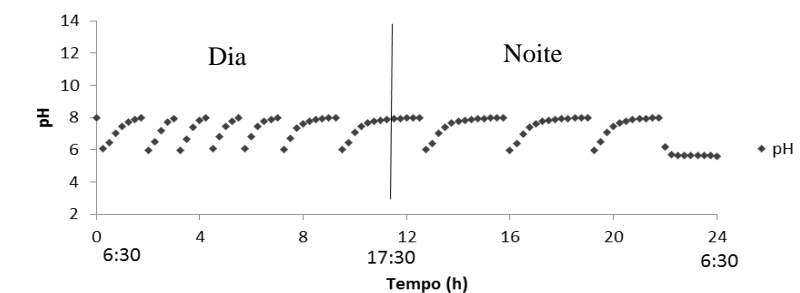


Figura 1: Perfil diário do pH no meio de cultivo.

O sistema de adição de CO<sub>2</sub> controlada pelo pH se mostrou eficaz. Notou-se a relação entre os ciclos de adição de carbono e a atividade fotossintética das algas, ilustrada pela diferença entre a maior frequência de adição do gás durante o dia que a noite. Tal comportamento foi também observado por Arbib et al. (2013) e Valdés et al. (2012) em FBRs tubulares *airlift* e coluna de bolhas, respectivamente. Esses autores discutem que durante o dia, as microalgas utilizam luz e nutrientes para assimilar o CO<sub>2</sub>, fazendo com que o pH do meio se eleve. Já durante a noite, a atividade fotossintética é reduzida e as algas respiram e não consomem CO<sub>2</sub>, mas sim o liberam como produto da respiração. Entretanto, o pH ainda sobe durante a noite, fato atribuído não somente ao comportamento mixotrófico (respiração e fotossíntese) das microalgas, mas também ao desprendimento de CO<sub>2</sub> do meio líquido para o ar, promovido pela injeção contínua de ar comprimido no reator.

### Sólidos suspensos e clorofila-a

Nas Figuras 2 e 3 são apresentadas as concentrações de SST, SSV e clorofila-a durante o monitoramento.

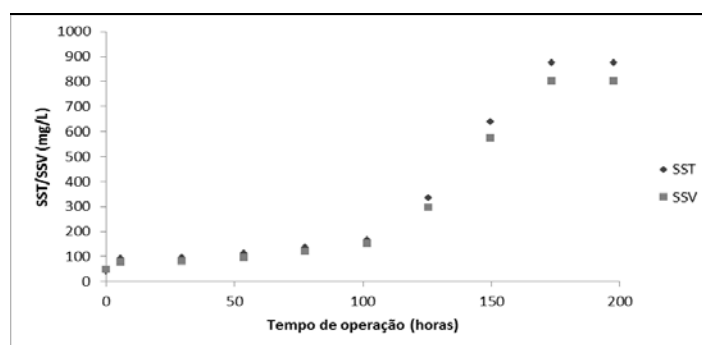


Figura 2: Concentrações de SST e SSV no meio de cultivo ao longo da operação.

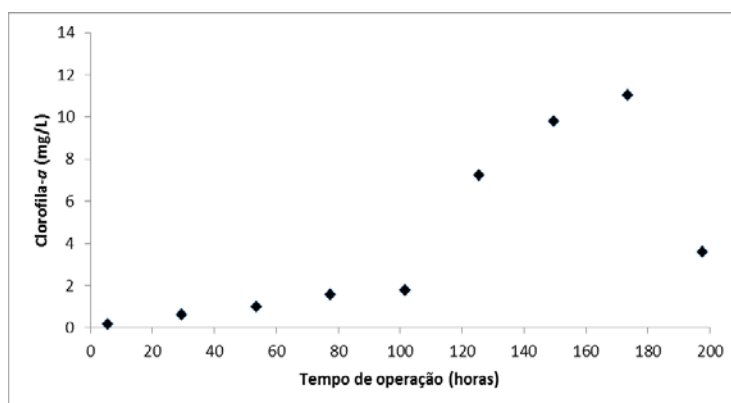


Figura 3: Concentração de clorofila-a no meio de cultivo ao longo da operação.

Durante todo o experimento a parcela de SSV nos SST foi elevada, fato atribuído à constituição dos microrganismos presentes no meio como as algas e bactérias, assim como material orgânico dissolvido no efluente doméstico. Até às 100 horas de operação, houve ligeiro crescimento das variáveis SSV, SST e clorofila-a, caracterizando a fase *lag*, quando as células apresentaram baixo crescimento devido à adaptação às condições do meio de cultivo (VASUMATHI et al., 2012). A partir de então, durante a fase *log* e a de desaceleração, o fotobiorreator produziu concentração de até 11,05 mg/L de clorofila-a e 803 mg/L de SSV. Nas últimas horas de operação, o decréscimo da concentração de clorofila-a, acompanhada de aumento da concentração de feofitina (dados não exibidos) e redução da concentração de sólidos suspensos representou a fase de decaimento, possivelmente pelo esgotamento de nutrientes no meio (VASUMATHI et al., 2012) e/ou pelo autossombreamento em condição de elevada concentração de biomassa.

### Matéria orgânica

Os valores de DQO total apresentaram perfil similar ao encontrado para clorofila-a e SSV, apresentando certa estabilidade até a centésima hora de operação, seguido de crescimento exponencial com valor máximo de 1449 mg/L e a fase de decaimento no último dia de experimento. Esse fato pode ser atribuído à produção de sólidos como resultado do aumento da biomassa no reator, conferindo DQO elevada ao efluente final. Tendo em vista o tratamento do efluente doméstico como objetivo concomitante à produção e aproveitamento da biomassa, a DQO solúvel foi removida em 32% no fotobiorreator. Uma vez que representa a matéria orgânica dissolvida no meio de cultivo, o metabolismo heterotrófico de bactérias e microalgas pode ter contribuído para tal remoção. Considerando a separação da biomassa para posterior aproveitamento, essa variável diz respeito à matéria orgânica contida no efluente a ser despejado nos corpos d'água. No presente estudo, o valor no último dia de monitoramento foi de 67 mg/L, inferior ao estabelecido pela Deliberação Normativa (COPAM nº 46, de 09 de agosto de 2001) como limite para o lançamento de efluente doméstico em Minas Gerais, de 90 mg/L.



## Nutrientes

A partir do sétimo dia de operação, o nitrogênio amoniacal e o fósforo solúvel foram totalmente removidos, momento em que a atividade fotossintética teve considerável incremento, indiretamente aferida pelas concentrações de clorofila-*a* e SSV. Considerando que o PT, as formas de  $\text{N-NO}_3^-$  e  $\text{N-NO}_2^-$  pouco variaram e o pH mantido entre 6 e 8 durante toda a operação, a remoção de  $\text{N-NH}_4^+$  e PS pôde ser atribuída à sua assimilação pela biomassa (ARBIB et al., 2013).

## *Escherichia coli*

Como o tratamento anaeróbio, a princípio, não visa a remoção ou inativação de patógenos, foi avaliado o comportamento da densidade de *E. coli* através do tratamento terciário no FBR. Após o primeiro dia de operação e do momento da inoculação da biomassa, foi removida cerca de 1 unidade logarítmica de *E. coli*. Apesar da ocorrência de chuva durante os primeiros dias de operação, tal remoção pode estar associada às reduzidas concentrações de sólidos suspensos e clorofila-*a*, condição que propicia a maior entrada de raios UV no fotobiorreator. Até o fim da batelada foi removida 1 unidade logarítmica adicional, chegando a  $5,2 \times 10^3$  NMP/100mL. A elevada concentração de OD (de até 12 mg/L) a partir da centésima hora de operação também pode ter contribuído para tal remoção. É ainda discutida a liberação de substâncias capazes de inativar coliformes por parte das microalgas (ANSA et al., 2012).

## Quantificação lipídica

O conteúdo lipídico acumulado na biomassa seca foi de 7,2 %, incorrendo em uma produtividade lipídica de 5,6 g/ m<sup>2</sup>.d. Assemany et al. (2014) encontrou até 10 % de lipídeos na biomassa seca e produtividade lipídica de 0,96 g/m<sup>2</sup>.d utilizando o mesmo efluente de UASB para o cultivo de consórcio de microalgas e bactérias em lagoas de alta taxa submetidas à diferentes níveis de radiação. Apesar do baixo conteúdo lipídico, o efluente avaliado mostrou potencial quanto à produção de biocombustíveis devido à elevada produção de biomassa.

## CONCLUSÕES

Este estudo contribuiu para o avanço em relação ao cultivo de microalgas e o tratamento terciário de efluente doméstico em FBR coluna de bolhas, apresentando grande potencial em relação à remoção dos nutrientes nitrogênio e fósforo, e à produção de biomassa algal. Vale também ressaltar a influência das condições ambientais no desempenho do cultivo, sobretudo a PAR, a qual apresentou clara influência nas demais variáveis.

Apesar do baixo teor lipídico acumulado na biomassa, o efluente apresentou elevado potencial no que se refere à produção de biomassa para aproveitamento energético. No entanto, futuras avaliações no mesmo reator se mostram necessárias para o melhor entendimento das condições propícias tanto ao tratamento de efluentes quanto à produção e aproveitamento de biomassa algal.

## AGRADECIMENTOS

À FAPEMIG e ao CNPq pelo financiamento concedido ao projeto por meio da Chamada Universal – MCTI/CNPq n° 14/2013 e pela bolsa de Iniciação Científica aprovada no edital PIBIC 2013/2014.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANSA, E. D. O., LUBBERDING, H. J. GIJZEN, H. J. The effect of algal biomass on the removal of fecal coliform from domestic wastewater. *Applied Water Science*, 2, 87-94. 2012.
2. APHA. Standard Methods for examination of water and wastewater. Washington: American Water Work Association, Water Environmental Federation. 2005.
3. ARBIB, Z., RUIZ, J., ÁLVAREZ-DIAS, P., GARRIDO-PÉREZ, C., BARRAGAN, J., PERALES, J. A. long term outdoor operation of a tubular airlift pilot photobioreactor and a high rate algal pond as tertiary treatment of urban wastewater. *Ecological Engineering*, 52, 143-153. 2013.

4. CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*, 25, 294–306. 2007.
5. CRAGGS, R. J., ZWART, A., NAGELS, J. W., DAVIES-COLLEY, R. J. Modelling sunlight disinfection in a high rate pond. *Ecological Engineering*, 22, 113-122. 2004.
6. NEDERLANDS E NORM.NEM 6520. Netherlands. 1981.
7. NUSH, E. A. Comparison of different methods for chlorophyll and phalopigments determination. *Arch. Fur. Hydrobiology, Bech. Stuttgart*, 14, 14-36. 1980.
8. OZKAN, A., KINNEY, K., KATZ, L., BERBEROGLU, H. Reduction of water and energy requirement of algae cultivation using an algae biofilm photobioreactor. *Bioresource Technology*, 114, 542-548. 2012.
9. PARK, J. B. K., CRAGGS, R. J. Nutrient removal in wastewater treatment high rate algal ponds with carbon dioxide addition. *Water Science and Technology*, 63(8), 1758-1764. 2011.
10. VALDÉS, F. J., HERNÁNDEZ, M. R., CATALÁ, I., MARCILLA, A. Estimation of CO<sub>2</sub> stripping/ CO<sub>2</sub> microalgae consumption ratios in a bubble column photobioreactor using the analysis of the pH profiles. Application to *Nannochloropsis oculata* microalgae culture. *Bioresource Technology*, 119, 1 – 6. 2012.
11. VASUMATHI, K. K., PREMALATHA, M., SUBRAMANIAN, P. Parameters influencing the design of photobioreactor for the growth of microalgae. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16, 5443 – 5450. 2012.
12. WANG B., LI Y., WU N., LAN C.Q. CO<sub>2</sub> bio-mitigation using microalgae. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 79, pp. 707-718. 2008.
13. WIJFFELS, R. H., BARBOSA, M. J. An outlook on microalgal biofuels. *Science*, v. 329, p 796-799. 2010.