

# Produção integrada de biocombustíveis a partir de biomassa algácea: uso de resíduos e efluentes do Campus Capital como subprodutos para energia.

Professor Responsável: Profa. Dra. Sônia Maria Flores Giancesella

## **Parcerias USP**

IEE/ IO/ CIRRA

## **Equipe Executora**

Prof. Dr. Ivanildo Hespanhol (CIRRA)

Prof. Dr. José Carlos Mierzwa (CIRRA)

M.Sc. Octávio S. Bernardes Coelho de Oliveira (IEE)

Dra. Flávia Marisa Prado Saldanha Corrêa (IO)

Quim. Ana Beatriz de Barros Santos (DESEME- IEE)

Ges. Amb. Nildeir da Silva (E&A-IEE)

Estudante Patrícia Sparagna (IO)

Estudante Hannah Hadassa Fernandes Galvão Leite (IO)

Téc. Camila Martins de Andrade (IO)

São Paulo – Junho - 2013

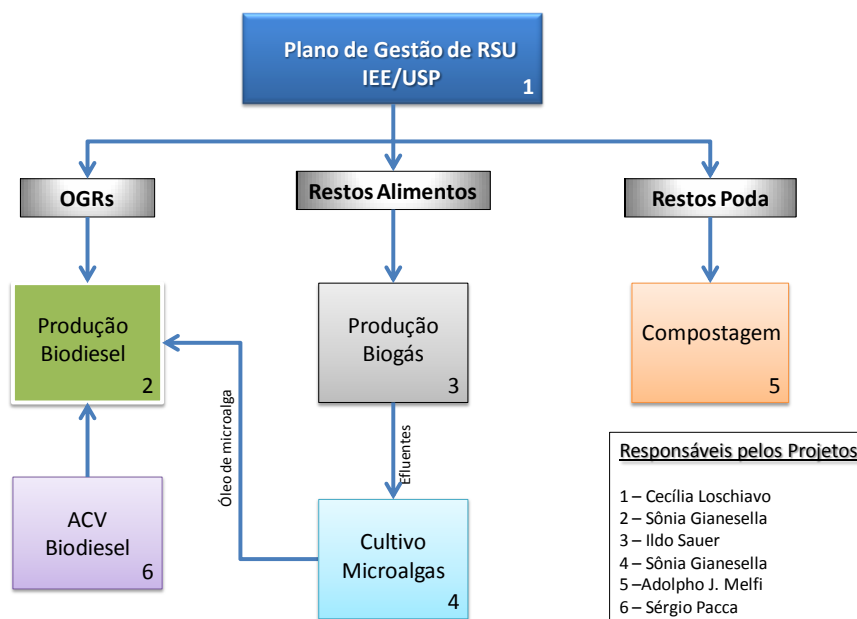
## **Resumo**

Esta proposta é parte do Projeto coordenado pelo IEE “Sistema Integrado de Redução de Resíduos e Desenvolvimento de Bioenergia no Campus”. O presente projeto visa a produção biocombustíveis que poderão ser utilizados na frota de veículos da USP, a partir de biomassa algácea cultivada em efluentes de biodigestor. Trata-se de projeto em escala piloto. Os efluentes a serem utilizados neste projeto serão provenientes do biodigestor já existente (presentemente em instalação) no IEE. Esse biodigestor irá utilizar resíduos orgânicos gerados na própria USP, conforme descrito em outro projeto também submetido ao Edital de Sustentabilidade da SGA e coordenado pelo Prof. Ildo L. Sauer. Nesse sentido, os efluentes líquidos oriundos do processo de biodigestão de matéria orgânica a ser recolhida no Campus serão utilizados na produção de biomassa e o efluente do cultivo terá sua qualidade melhorada em relação à entrada, devido tanto à biofixação de nutrientes como ao abatimento de fontes residuais de carbono orgânico presentes. Como valorização da biomassa algácea será dada preferência à extração de óleos para transesterificação e também produção de bioetanol a partir dos açúcares biossintetizados, para alimentação da Usina Flex de Biodiesel do IEE, a fim de contribuir para a integração sustentável do projeto como um todo. O fecho do ciclo produtivo dar-se-á pela utilização de resíduos originários do Campus e de subsistemas do processo como coprodutos. Neste projeto serão utilizadas culturas unialgais de água doce depositadas no Banco de Microalgas Aidar & Kutner (BMA&K) do Instituto Oceanográfico da USP, isoladas por membro do projeto a partir do próprio efluente residencial da USP, recuperado dos sistemas de tratamento de águas residuais por lodo ativado, realizado no Centro Internacional de Referência e Reuso de Água (CIRRA).

## Introdução

Este Projeto é parte integrante de um conjunto de iniciativas integradas, a serem apresentadas pelo IEE/USP, no quadro do “Programa de Incentivo à Sustentabilidade na Universidade de São Paulo”, (Edital 2013 – Desenvolvimento da Sustentabilidade na USP), promovido pela Superintendência de Gestão Ambiental.

A iniciativa envolve um projeto central (P1), em parceria com a Prefeitura do Campus Central da USP, que visa à estruturação de uma política de gestão de resíduos sólidos no Campus. Neste projeto central P1 busca-se, entre outros objetivos, separar os resíduos orgânicos: óleos e gorduras residuais (OGRs) dos restos de alimentos (RAs). O projeto P2 tem como finalidade a utilização dos OGRs para a produção do Biodiesel. O projeto P3 será responsável pelos processamentos dos RAs para produção de biogás. Por último, o projeto P4 (presente projeto) utilizará os efluentes do processo de biodigestão para promover o cultivo de microalgas, de onde serão extraídos óleos vegetais para a produção de biodiesel ou bioetanol. A Figura 1 mostra a representação esquemática da proposta IEE/USP.



**Projetos Integrados da Sustentabilidade USP**

Figura 1: Representação esquemática da proposta IEE/USP

O projeto enquadra-se nos propósitos do Edital acima referido, cuja finalidade é “apoiar financeiramente projetos de ensino, pesquisa, extensão e gestão acadêmica, que promovam a sustentabilidade socioambiental nos campi da USP”.

A produção de biomassa algácea utilizando efluentes líquidos ou gasosos como subprodutos para produção de biocombustíveis, é hoje uma necessidade a ser perseguida e que está se tornando rapidamente uma realidade.

Os combustíveis fósseis representam quatro quintos da energia primária mundial utilizada e cerca de 60% é destinada ao uso no setor dos transportes. Torna-se necessário encontrar combustíveis alternativos menos poluentes, renováveis, biodegradáveis, que aumentem a segurança local de abastecimento de energia, pela menor dependência de países politicamente instáveis, e que sejam produzidos utilizando biomassa a partir de efluentes de baixo custo, que sequestre com eficiência o CO<sub>2</sub> de gases de combustão industriais, de modo a reduzir custos de tratamento de esgotos, melhoria da qualidade da água e redução na liberação de Gases de Efeito de Estufa (GEE) para a atmosfera.

Os combustíveis de terceira geração são produzidos a partir de determinadas espécies do fitoplâncton. A vantagem é que estes cultivos não requerem terras férteis, nem mesmo terras cultiváveis, e não entram em competição direta com a produção de alimentos. A sua produção não requer água potável, sendo que o uso de efluentes tem como consequência a melhoria da qualidade da água. Por outro lado, o meio de cultivo pode ser reutilizado de forma a não gerar competição com águas de consumo humano ou para dessedentação de animais, nem descarte para o esgoto urbano.

As microalgas apresentam produtividade bastante superior aos vegetais terrestres, uma vez que não têm gastos respiratórios com estruturas não fotossintetizantes, têm teores lipídicos bastante interessantes (Chisty, 2007). Algumas espécies têm elevada adaptabilidade, pois estão presentes em efluentes residuais. Deste modo, torna-se imperativo utilizar espécies algácea resistentes e de elevada produtividade para biofixação de nutrientes de efluentes residuais, como o nitrogênio e o fósforo, de modo a aumentar o valor da cadeia de produção de biomassa microalgal e simultaneamente de tratamento de esgotos, para mitigar impactos ambientais, como a eutrofização em meios aquáticos naturais. Além do teor lipídico, a qualidade do óleo é de extrema importância na produção de biodiesel. Interessa identificar métodos de cultivo com efluentes que potenciem a predominância de frações lipídicas desejáveis,

como ácidos graxos com 16 a 20 átomos de carbono, saturados, monoinsaturados ou poliinsaturados com duas ligações duplas (Fajardo et al., 2007). Como exemplo de ácidos graxos ideais para transesterificação temos o ácido esteárico (C18:0) e o ácido oleico (C18:1) que melhoram a estabilidade oxidativa do combustível (Huang et al., 2010).

Por outro lado, nem sempre a biomassa gerada por cultivos unialgáceos apresenta o perfil de ácidos graxos ideal, necessitando a identificação de óleos distintos de diferentes espécies algáceas, que possibilitem uma mistura (*blending*) aceitável, com outros óleos de microalgas ou óleos residuais, para que o biocombustível esteja dentro das especificações da legislação em vigor.

A abordagem para aperfeiçoar os meios de cultura deverá passar pela utilização de meios ricos em nutrientes e de baixo custo, e para esse fim o efluente residual do biodigestor pode vir a desempenhar um papel muito importante na produção de biomassa algácea. Assim, torna-se necessário compreender e identificar quais os meios de cultura de baixo custo, tais como efluentes ricos em nutrientes minerais e alguma matéria orgânica, que promovam um acréscimo da produtividade de biomassa e de lipídios, e de desenvolver uma técnica final de produção que incremente o teor lipídico, sem permitir o declínio de biomassa existente na cultura por unidade de volume (Oliveira, 2009).

No Brasil, os reatores comumente utilizados no tratamento de efluentes de esgoto doméstico são do tipo Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente (RAFA) (UASB - Upflow Anaerobic Sludge Blanket), os quais não são muito eficientes na remoção de fósforo, nitratos e amônia, pois se aplicam, em geral, só a etapa primária e secundária responsáveis pela remoção de sujidades, plásticos e papel, além de sólidos solúveis suspensos (Von Sperling, 2005). Além disso, o consumo energético operacional das Estações de Tratamento de Esgoto (ETE) é elevado, e somente menor que o custo de implantação de sistemas ETE. Com maiores gastos energéticos destacam-se os processos de tratamento biológico por sistemas de lodo ativado, bombas e equipamentos para desidratação de lamas. As etapas de nitrificação acrescentam de 20% a 30% aos custos de operação deste tipo de sistemas (Asano et al., 2007). Os efluentes tratados retornam aos meios aquáticos naturais, ricos em nutrientes fundamentais para o crescimento de microalgas, como o nitrogênio e o fósforo, e levam à eutrofização descontrolada desses meios de água doce. Nos ambientes eutrofizados, as comunidades algáceas são dominantes e, na última fase de floração, proliferam as cianobactérias

(Paerl, 2008). Mata et al. (2010) sugeriram que os efluentes residuais domésticos e gases de combustão provenientes de atividades industriais, têm potencial para crescimento de culturas de produtores primários, como o fitoplâncton, e devem ser estudados como coprodutos para aumentar o valor da cadeia no tratamento de efluentes residuais, na mitigação de liberação de GEE e na produção competitiva e sustentável de biocombustíveis de terceira geração.

Quanto ao processo de colheita, considerando que as microalgas variam de unidades até algumas dezenas de micrômetros de tamanho (conforme o gênero), a sua separação do meio aquoso torna-se um desafio. Este ponto é deveras pertinente e requer uma grande atenção do ponto de vista econômico e energético, já que a colheita destes organismos pode representar cerca de 20-30% dos custos totais de produção (Grima et al., 2003). Além disso, a biomassa recuperada é constituída por uma quantidade considerável de água, da ordem dos 80-85% da massa total (Cooney et al., 2009). Este intervalo exige normalmente um passo sequente de secagem, de modo a se extrair com maior eficácia os produtos de valor agregado. Para se atingir uma consistência densa e pastosa deve-se ter um peso úmido na biomassa parcialmente desidratada da ordem dos 10-30% (Halim et al., 2011).

Geralmente, a colheita envolve duas etapas: uma separação grosseira e outra mais fina. A primeira serve para separar a biomassa numa diferente camada, no meio aquoso, através da coagulação/floculação ou da flotação, e a segunda a recuperação da biomassa algácea resultante por filtração, centrifugação, como pela combinação das duas técnicas. Dentro destes dois processos existem diversos métodos aplicados, como a coagulação/floculação com produtos químicos adequados (sais de ferro ou alumínio) ou polímeros orgânicos, naturais ou sintéticos, para agregar as células em flocos (Knuckey et al., 2006), eletrocoagulação/floculação (Poelman et al., 1997), seguida da centrifugação da massa resultante (Heasman et al., 2000), filtração por membrana (Rossignol et al., 2000), separação por ultra-sons (Bosma et al., 2003), ou uma combinação destes métodos e outros.

Entretanto, uma das cepas já isolada pelo doutorando Octávio C. de Oliveira, e que será cultivada no presente projeto, apresenta propriedades de interesse nessa etapa, que permitem baratear o custo de recuperação da biomassa de modo substancial, viabilizando a presente proposta.

Finalmente, enfatiza-se que neste projeto a parte científica já conta com o apoio da FAPESP (proc. 2013/01828-2), sendo que apenas as ações centradas na

sustentabilidade do Campus é que são objeto da presente proposta. Por outro lado, este projeto também conta com a colaboração do IO/USP, no uso das instalações e equipamentos do Laboratório de Ecologia do Fitoplâncton e Produção Primária (PROFITO), além do BMA&K já mencionado no resumo.

### **Justificativa**

O sistema USP gera resíduos sólidos orgânicos e inorgânicos, e efluentes líquidos domésticos que devem ser enquadrados dentro da filosofia dos 3'R (*Reduzir, Reutilizar, Reciclar*). Esta questão carece de muita atenção. Este projeto contribui para o aumento da cadeia de valor das microalgas e para a redução de impactos ambientais em meios aquáticos naturais, através da biofixação de carbono inorgânico e orgânico, e de outros macro nutrientes como o nitrogênio, potássio e fósforo, como também de determinados micro nutrientes como o ferro, cobre, molibdênio, zinco, cobalto e manganês.

A atual proposta conduz ao fechamento do ciclo de materiais, com reaproveitamento de energia a partir da valorização dos tais resíduos e efluentes como subprodutos de interesse.

### **Objetivos**

- O presente projeto pretende contribuir para a redução de resíduos orgânicos já gerados no Campus da USP, aproveitando-os para produção de combustíveis de elevado poder calorífico, os quais poderão ser utilizados em benefício da USP.
- Este projeto pretende também incentivar a diversificação de fontes alternativas de energia renovável.
- Por outro lado, o projeto pretende ter uma vertente de demonstração social, para acréscimo da conscientização da necessidade urgente dos 3'R – Reduzir, Reutilizar, Reciclar.
- Também se pretende uma avaliação de compostos bioativos de elevado valor agregado, biossintetizados pelas cepas de microalgas utilizando resíduos como substrato, que possam projetar a USP, a nível nacional e internacional, como modelo de Universidade inovadora e “verde”.

## Material e Métodos

O projeto consiste na operacionalização de sistemas verticais de produção de biomassa algácea (Figura 2), utilizando efluentes do biodigestor em instalação no IEE USP e iluminação natural (fotobiorreatores). Abrange também a avaliação dos parâmetros físicos, químicos e biológicos dos cultivos, e extração de óleos e açúcares para produção de biodiesel e bioetanol, respectivamente. Os fotobiorreatores a serem utilizados nos cultivos serão do tipo coluna e sacos-manga. Neste projeto está contemplada a caracterização dos óleos obtidos para se identificar a sua qualidade e potencial de *blending* na produção de biodiesel, e a quantificação e caracterização de açúcares e amido da biomassa residual para produção de bioetanol.



Figura 2. Exemplo de cultivos de microalgas em sacos-manga. Foto Zebra Partners.

<http://www.algaeindustrymagazine.com/wp-content/uploads/algaegrowingbags.jpg>

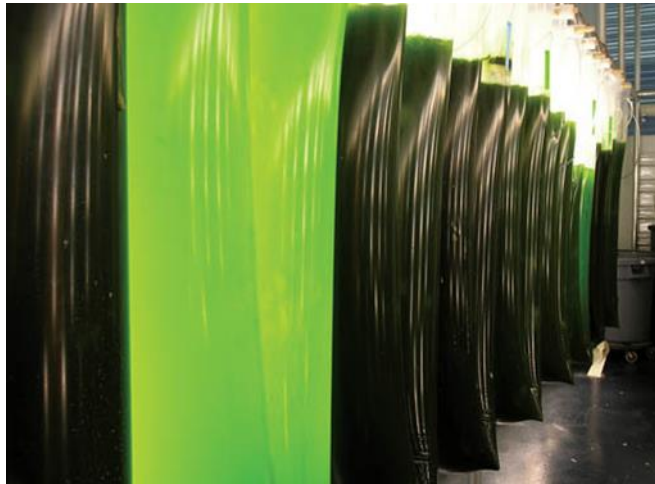


Figura 3- Exemplo de cultivos de microalgas em sacos verticais. Foto George Oyler <http://scarlet.unl.edu/?p=6828>

Os efluentes residuais filtrados para cultivo algáceo serão caracterizados quimicamente de modo sazonal. Os teores de formas nitrogenadas, fósforo, potássio e metais serão avaliados de acordo com os métodos recomendados pelo AWWA/APHA/WEF (1998).



Está contemplado o uso das instalações e equipamentos do laboratório PROFITO, e o uso de dados meteorológicos, incluindo a radiação solar e temperatura, obtidos com os equipamentos do IEE.

A manutenção das culturas algáceas, preparação de inóculos e escalonamento serão realizadas no laboratório BMA&K. O meio padrão de cultivo será o BBM 3N modificado. Todo o procedimento de repicagem de culturas para inóculo será realizado em câmara de fluxo laminar vertical sob condições assépticas.

A avaliação do crescimento das culturas vai ser efetuada através de leitura da absorvância por espectrofotometria UV-vísivel, de acordo com a curva de calibração de absorvância versus biomassa seca já realizada. No momento de coleta serão realizadas as leituras de pH e temperatura, feitas com eletrodo seletivo.

O processo de coagulação/floculação será realizado com coagulantes e polieletrólitos orgânicos naturais. A dimensão dos flocos será determinada pela passagem da biomassa floculada por filtros sucessivos, num intervalo de porosidades dos 1000 a 50  $\mu\text{m}$ . A eficácia da coagulação será determinada por leitura do clarificado em espectrofotômetro UV-visível. A extração e quantificação de referência de lipídios serão feitas com uma mistura de clorofórmio: metanol: água (2: 2: 1,8 em volume) de acordo com a metodologia de Bligh e Dyer (1959). As macro extrações de óleo serão realizadas por meio de extração sólido-líquido simples com hexano e com aplicação de técnicas acessórias de ruptura celular utilizando ultrassom (Neto et al., 2012). Será produzida biomassa para obter pelo menos 25L de óleo e o produto será transesterificado na Usina Flex do IEE. O biodiesel assim produzido será analisado em relação ao perfil de ácidos graxos por cromatografia gasosa face à legislação em vigor. Por último será testado o biodiesel, com mistura B5, em motor diesel nos laboratórios de combustão do IEE, com o intuito de promover um futuro uso de pelo menos um ônibus USP com 5% de biodiesel de microalgas.

Os resíduos sólidos serão dispostos conforme a Lei 12305 de 2 de Agosto de 2010 e Decreto nº7404 de 23 de Dezembro de 2010. Os resíduos líquidos serão condicionados conforme Resolução CONAMA 357 de 17 de março de 2005 e Normas NBRs da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) pertinentes.

De acordo com Benemann et al. (2012) devem-se criar projetos de engenharia detalhados e análises energéticas rigorosas de sistemas de produção de biodiesel de microalgas, para comparação eficaz com o de origem fóssil. Deste modo está também

contemplada a avaliação dos balanços de massa, e das entradas e saídas de energia dos subsistemas propostos.

### **Resultados esperados**

A realização deste projeto será uma oportunidade de testar a integração de sistemas de coleta e pré-processamento de resíduos de alimento, produção e utilização de biogás, associado à produção de biomassa algácea para fins energéticos e para a produção de biodiesel na Usina Flex, instalados no Campus Capital. Ao mesmo tempo permitirá a valorização da biomassa produzida, por meio de produtos de elevado valor energético ou agregado.

Pretende-se melhorar de modo contínuo a operacionalidade de cultivo de biomassa de 3ª geração, de modo a aumentar a eficiência de todos os subprocessos e obter produtos, como biocombustíveis e biocompostos, de qualidade certificada.

Os conhecimentos adquiridos durante o desenvolvimento do projeto deverão contribuir para melhorias da eficiência do processo e da qualidade do biocombustível produzido.

A difusão de conhecimentos adquiridos e capacitação de estudantes e técnicos, inclusive de administrações municipais em matérias pertinentes, tais como o tratamento de resíduos orgânicos e geração de bioenergia, visam que os resultados possam ser adaptados e replicados em pequenos municípios, como parte da política de gestão de resíduos sólidos, em consonância com as determinações do Plano Nacional de Resíduos Sólidos. Por outro lado, espera-se que tal abordagem leve a publicações científicas em revistas de impacto nacional e internacional.

### **Cronograma de execução**

A execução do projeto deverá seguir o cronograma trimestral abaixo:

Descrição	Trimestre		
	1º	2º	3º
Instalação da todo o sistema estrutural (estufa, esgoto, piso)	■		
Instalação de sistema de produção e coleta		■	
Testes de operacionalização e início da produção de biomassa			■

## Planilha de Custos de Execução

X	Materiais	Quantidade	Preço Unitário Aprox. R\$	Preço Total Parcial R\$
Sistema Estrutural	Estufa 6 x 8 metros	1	12500	12500
	metros tubulação esgot & água	50	5	250
	torneiras (e registros) p/ esgoto & água	10	80	800
	m3 de chão cascalho	10	155	1550
Sistema Produção e Coleta de Biomassa	Estrutura suporte sacos de manga	2	3650	7300
	Base perfurada p/ estrutura de sup. sacos manga	2	1075	2150
	Bobina de tubo plástico - sacos manga - larg. 30 cm	1	165	165
	Bobina de tubo plástico - sacos manga - larg. 18 cm	1	125	125
	Metros de Tubos p/ aeração em silicone	70	7,5	525
	Metros de tubos p/ inóculo e coleta	70	7,5	525
	compressor de ar - tipo aquário	16	95	1520
	válvulas manifold p/ aeração	16	15	240
	válvulas esfera p/ bombeamento	16	50	800
	sifão p/ limpeza de tubulações	2	50	100
	tanque 1 m3 p/ preparação de meio de cultivo	1	850	850
	litros hipoclorito	185	2	370
	lâmpadas UV	2	300	600
	metros tubulação plástico p/ sistema desinfecção UV	10	7,5	75
	tanque 100 L afunilado - tipo fermentador de cerveja	6	400	2400
	malhas p filtração e coleta fitoplâncton	5	375	1875
rolos silver tape	50	17,5	875	
Apoio Produção	meses 2 x Bolsista	24	600	14400
TOTAL R\$			>	49995

## Referências Bibliográficas

- Asano, T., Burton, F. L., Leverenz, H. L., Tsuchihashi, R., Tchobanoglous, G. (2007). "Technologies and Systems for Water Reclamation and Reuse". In: Asano, T., Burton, F.L., Leverenz, H.L., Tsuchihashi, R., Tchobanoglous, G. "**Water Reuse, Issues, Technologies, and Applications**". Metcalf & Eddy, Inc., AECOM Press, New York, 1570p.
- AWWA/APHA/WEF (American Water Works Association / American Public Health Association / Water Environment Federation) (1998). "**Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**". Greenberg, A.E., Cleesceri, L.S. & Andrew, L.G., Washington: 20th edition.
- Benemann, J., Woertz, I., Lundquist, T. (2012). "Life Cycle Assessment for Microalgae Oil Production". **Disruptive Science and Technology**, 1(2):68-78. doi:10.1089/dst.2012.0013.
- Bligh, E. e Dyer, W. (1959). "A rapid method of total lipid extraction and purification". **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, 37:911-917.
- Bosma, R., van Spronsen, W. A., Tramper, J., Wijffels, R. H. (2003). "Ultrasound, a new separation technique to harvest microalgae". **Journal of Applied Phycology**, 15(2-3):143-153.
- Chisti, Y. (2007). "Research review paper: biodiesel from microalgae". **Biotechnology Advances** 25, 294-306.
- Cooney, M., Young, G., Nagle, N. (2009). "Extraction of bio-oils from microalgae". **Separation and Purification Reviews**, 38(4):291-325.
- Fajardo, A. R., Cerdan, L. E., Medina, A. R., Fernandez, F. G. A., Moreno, P. A. G., Grima, E.M. (2007). "Lipid extraction from the microalgae *Phaedactylum tricornutum*". **European Journal of Lipid Science and Technology**, 109:120-126.
- Grima, M. E., Belarbi, E. H., Fernández, F. G. A., Medina, A. R., Chisti, Y. (2003). "Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics". **Biotechnology Advances**, 20(7-8):491-515.
- Halim, R., Gladman, B., Danquah, M. K., Webley, P.A. (2011). "Oil extraction from microalgae for biodiesel production". **Bioresource Technology**, 102:178-185.
- Heasman, M., Diemar, J., O'Connor, W., Soushames, T., Foulkes, L. (2000). "Development of extended shelf-life microalgae concentrate diets harvested by

- centrifugation for bivalve mollusks- a summary". **Aquaculture Research**, 31(8-9): 637-659.
- Huang, G. M., Chen, F., Wei, D., Zhang, X.W., Chen, G. (2010). "Biodiesel Production from micro-algal biotechnology". **Applied Energy**, 87:38-46.
- Knuckey, R. M., Brown, M. R., Robert, R., Frampton, D.M. F. (2006). "Production of microalgal concentrates by flocculation and their assessment as aquaculture feeds". **Aquacultural Engineering**, 35(3):300-313.
- Mata, T. M., Martins, A. A., Caetano, N. S. (2010). "Microalgae for biodiesel production and other applications: a review". **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 14:217-232.
- Neto, A. M. P. ; Souza, R. A. S.; A. D. L.; Costa, J. D. A.; Tiburcio, R. S.; Nunes, T. A.; Mello, T. C. S.; Kanemoto, F. T.; Saldanha-Corrêa, F. M. P. e Giancesella, S.M.F. (2012). "Improvement in microalgae lipid extraction using a sonication-assisted method". **Renewable Energy**,55:525-531.
- Oliveira, O. S.B.C. (2009). "Optimização da produtividade lipídica da microalga *Arthrospira platensis* como matéria-prima para biocombustíveis". Dissertação de Mestrado, Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa, Programa de Mestrado em Bioenergia, Dezembro.
- Paerl, H. W. (2008). "Nutrient and other environmental controls of harmful cyanobacterial blooms along the freshwater-marine continuum". **In: Hudnell, K.H. (ed.) "Cyanobacterial harmful algal blooms: state of the science and research needs"**. New York, Springer, 215-241.
- Poelman, E., DePauw, N., Jeurissen, B. (1997). "Potential of electrolytic flocculation for recovery of microalgae". **Resources Conservation and Recycling**, 19(1):1-10.
- Rossignol, N., Lebeau, T., Jaouen, P., Robert, J.M. (2000). "Comparison of two membrane-photobioreactors, with free or immobilized cells, for the production of pigments by a marine diatom". **Bioprocess and Biosystems Engineering**, 23(5):495-501.
- Von Sperling, M. (2005). "**Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**". Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, 3th edition, 452p.