

APLICAÇÃO DE MEMBRANAS DE FIBRA OCA NA BIOFIXAÇÃO DE CO₂ POR *Spirulina*

L. MORAES¹, G. M. ROSA¹, B. B. CARDIAS¹, L. O. SANTOS¹, J. A. V. COSTA¹

¹ Universidade Federal do Rio Grande, Escola de Química e Alimentos, Laboratório de Engenharia Bioquímica

E-mail para contato: jorgealbertovc@terra.com.br

RESUMO – Diante da preocupação de todos com aquecimento global, associado às elevadas emissões de CO₂, o processo de fixação de CO₂ por microalgas vem contribuir entre as tecnologias presentes para a redução de CO₂ em excesso na atmosfera. O objetivo deste trabalho foi desenvolver sistema composto por membranas de fibra oca (MFO) e aplicar no processo de biofixação de CO₂ pela microalga *Spirulina* sp. LEB 18. Para isso, a microalga foi cultivada em fotobiorreatores tubulares verticais de 2 L com injeção de CO₂ pelo sistema MFO na vazão de 0,025 vvm. A agitação dos cultivos foi promovida com ar por meio de difusor de pedra sinterizada nas vazões específicas de 0,05 e 0,3 vvm. Com este estudo foi possível desenvolver e aplicar o sistema de MFO para alimentação de CO₂ no cultivo de *Spirulina*. O maior acúmulo de carbono no meio de cultivo ($127,4 \pm 6,1$ mg.L⁻¹) e os maiores resultados de produtividade volumétrica de biomassa ($P_{\text{máx}} = 131,8 \pm 1,9$ mg.L⁻¹.d⁻¹), bem como taxa de biofixação de CO₂ ($T_{\text{CO}_2} = 231,6 \pm 2,1$ mg.L⁻¹.d⁻¹) e eficiência de utilização de CO₂ pela microalga ($E_{\text{CO}_2} = 86,2 \pm 0,8$ % m.m⁻¹) foram obtidos com o sistema de MFO e vazão de ar de 0,05 vvm. Os resultados obtidos demonstraram o potencial de aplicação das membranas de fibra oca no processo fixação de CO₂, contribuindo com a maior conversão do carbono fixado em biomassa.

1. INTRODUÇÃO

As microalgas são micro-organismos fotossintéticos que não só podem ser empregados na captura de dióxido de carbono por meio da fotossíntese, com também produzir biomassa, e por sua vez contribuir com a redução do efeito estufa na atmosfera. A biomassa produzida pode apresentar elevadas concentrações de compostos como lipídios, carboidratos, proteínas e pigmentos (ANJOS *et al.*, 2013), tendo esta emprego direto, ou do composto extraído, na indústria de alimentos, cosméticos e na produção de biocombustíveis, gerando, assim, um bioprocesso cíclico em relação ao uso do carbono.

A fonte de carbono necessária para o cultivo de microalgas representa em torno de 60 % dos custos com os nutrientes do meio de cultivo. O uso de fontes alternativas, como o CO₂ emitido a partir da queima de carvão em usinas de energia pode reduzir os custos com este nutriente, bem como minimizar os problemas ambientais causados pelas emissões deste gás de efeito estufa na atmosfera, como o aquecimento global (COSTA e MORAIS, 2011; HUGHES e BENEMANN, 1997).

A alimentação de CO₂ ao cultivo de microalgas em biorreatores abertos ou fechados é realizada por sistemas convencionais de forma dispersiva como difusores porosos e perfurados localizados na parte inferior do biorreator (CARVALHO *et al.*, 2006; KUMAR *et al.*, 2010). No entanto, a alimentação de CO₂ por estes sistemas está associada aos inconvenientes como perdas do gás por exaustão para a atmosfera e baixas eficiências de transferência de massa, devido às menores áreas interfaciais de troca e baixos tempos de residência do gás no cultivo (CHAI *et al.*, 2012; KUMAR *et al.*, 2010).

O aumento da eficiência de transferência CO₂ para o cultivo de microalgas pode ser contemplado mediante a aplicação de tecnologias que promovam maior tempo de residência da fase gasosa na fase líquida e maior área de transferência de massa. A utilização de membranas de fibra oca, em sistema dispersivo, pode atuar no sistema como aspersor para injeção de CO₂, gerando microbolhas, as quais facilitariam a transferência deste gás para o meio líquido, mediante ao aumento da área de contato gás-líquido e com isto reduzindo perdas do CO₂ para atmosfera. Assim, o emprego deste sistema pode contribuir para o aumento das taxas de fixação de CO₂ e produtividade de biomassa.

Diante do exposto, o presente trabalho teve por objetivo desenvolver e empregar sistema composto por membranas de fibra oca no processo de biofixação de CO₂ pela microalga *Spirulina* sp. LEB 18.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Micro-organismo, Meio de Cultivo e Manutenção do Inóculo

O micro-organismo utilizado foi a microalga *Spirulina* sp. LEB 18 (MORAIS *et al.*, 2008), mantida em meio de cultivo Zarrouk (ZARROUK, 1966) estéril. A manutenção do inóculo de *Spirulina* sp. LEB 18 consistiu na inoculação das células em meio de cultivo Zarrouk, estando ausente de bicarbonato de sódio (NaHCO₃) e em seguida, o CO₂ foi alimentado aos cultivos por 1 min, a cada 1 h durante o período claro, a uma taxa específica de alimentação de 0,12 mL_{CO2}.mL_{meio}⁻¹.d⁻¹.

2.2 Desenvolvimento do Sistema com Membranas de Fibra Oca

Para a alimentação dos cultivos com CO₂ foi desenvolvido um sistema utilizando membranas de fibra oca de poli(éter imida). As membranas com geometria cilíndrica originalmente apresentaram comprimento 0,5 m, diâmetro externo de 0,9-1,0 mm e camada externa seletiva e poros com tamanho médio de 0,4 µm. No processo de construção do difusor para injeção de CO₂, as membranas de fibra oca foram agrupadas em um conjunto de 10 fibras, com comprimento médio de 0,3 m, sendo fixadas na parte superior do biorreator.

2.3 Condições Experimentais

Ensaio com membranas de fibra oca: Os ensaios com sistema de membranas de fibra oca (MFO) foram realizados em duplicata em regime de batelada alimentada com a fonte de carbono

(CO₂). Para tal foram utilizados fotobiorreatores tubulares verticais (FBRTv) de 2 L com volume útil de 1,7 L, mantidos a 30 °C, fotoperíodo 12 h claro/escuro, iluminância de 41,6 $\mu\text{mol}_{\text{fótons}}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (MORAIS e COSTA, 2007), durante 15 d. Para agitação dos cultivos, o ar comprimido foi injetado pelo difusor pedra sinterizada em duas vazões específicas de ar de 0,05 e 0,3 vvm (volume de ar. volume de meio⁻¹. min⁻¹). No período claro, a injeção de ar foi interrompida para que ocorresse a injeção do CO₂ pelas membranas de fibra oca. A taxa específica de alimentação diária de CO₂ para todos os ensaios foi mantida em 0,15 mL_{CO2}.mL_{meio}⁻¹.d⁻¹, injetado por 1 min a cada 2 h durante o período claro e na vazão específica de alimentação de 0,025 vvm. Após a injeção do CO₂ a aeração dos ensaios era reestabelecida.

Ensaio controle: Os ensaios controle (CT) com CO₂ para cada vazão de ar (0,05 e 0,3 vvm) foram realizados nas mesmas condições dos ensaios com as MFO, como descrito no item anterior. Porém na fase clara, o ar comprimido responsável pela agitação dos cultivos foi enriquecido com CO₂ e injetado nos ensaios pelo difusor pedra sinterizada na mesma taxa específica de alimentação diária de CO₂ (0,15 mL_{CO2}.mL_{meio}⁻¹.d⁻¹).

2.4 Determinações Analíticas

Os ensaios foram acompanhados diariamente pela determinação da concentração celular e medida de pH. A concentração celular foi determinada por densidade óptica a 670 nm em espectrofotômetro digital, a partir de curva de calibração que relacionava densidade óptica com peso seco de biomassa (COSTA *et al.*, 2002). O pH dos cultivos foi monitorado diariamente por medida direta com pHmetro digital. A concentração de carbono inorgânico dissolvido (CID) foi calculada a cada 72 h a partir das frações de ionização, com os valores de pH e alcalinidade (APHA, 1998) determinados experimentalmente, como proposto por Carmouze (CARMOUZE, 1994).

2.5 Recuperação e Caracterização da Biomassa

Ao final dos ensaios a biomassa foi recuperada por centrifugação (15200 g, 20 °C, 15 min), ressuspendida em água destilada e novamente centrifugada nas mesmas condições citadas, sendo este processo repetido 2 vezes para remoção dos sais do meio de cultivo. A biomassa concentrada foi congelada a -80 °C, liofilizada e posteriormente armazenada a -20 °C. A biomassa foi caracterizada quanto à concentração de carbono (C), esta que foi determinada em analisador elementar CHNS/O (PERKIN ELMER 2400) utilizando-se como material de referência a acetanilida.

2.6 Respostas Avaliadas de Crescimento e Biofixação de CO₂

A resposta de crescimento avaliado nos experimentos com *Spirulina* sp. LEB 18 foi a produtividade volumétrica de biomassa (P_x , mg.L⁻¹.d⁻¹), obtida segundo a Equação 1, onde X é a concentração de biomassa (mg.L⁻¹) no tempo t (d) e X_0 é a concentração de biomassa (mg.L⁻¹) no tempo t_0 (d). A produtividade volumétrica máxima de biomassa ($P_{\text{máx}}$, mg.L⁻¹.d⁻¹) foi o máximo valor de produtividade obtida por cada ensaio em cada batelada.

$$P_x = \left(\frac{X - X_0}{t - t_0} \right) \quad (1)$$

A taxa biofixação de CO₂ (T_{CO2}, mg.L⁻¹.d⁻¹) foi calculada segundo a Equação 2, na qual P_x (mg.L⁻¹.d⁻¹) é a produtividade volumétrica de biomassa determinada em cada ensaio, X_{cbm} é a fração mássica de carbono determinada por análise elementar na biomassa, M_{CO2} e M_C são as massas molares de CO₂ e do carbono, respectivamente. A eficiência de utilização do CO₂ (E_{CO2}, % m.m⁻¹) pela microalga foi calculada segundo a Equação 3, na qual T_{CO2} é a taxa de biofixação de CO₂ diária, V_{útil} é o volume de útil do fotobiorreator (L) e \dot{m}_{CO2} é taxa mássica de alimentação diária de CO₂ (mg.d⁻¹).

$$T_{CO2} = P_x * X_{cbm} * \frac{M_{CO2}}{M_C} \quad (2)$$

$$E_{CO2} = \frac{(T_{CO2} * V_{útil})}{\dot{m}_{CO2}} * 100 \quad (3)$$

2.7 Análise Estatística

As respostas obtidas nos ensaios foram avaliadas através de análise de variância (ANOVA), com nível de 95 % de confiança.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O perfil de pH do ensaio com membrana de fibra oca (MFO) na vazão de 0,05 vvm manteve-se no intervalo entre 8,0 e 8,5, sendo este inferior ao ensaio controle (CT) que permaneceu entre 9,0 e 9,5 (Figura 1a). Para os ensaios na vazão de 0,3 vvm, tanto com as MFO quanto o CT o pH médio foi em torno de 9,0. O maior acúmulo de carbono inorgânico dissolvido (CID) no meio de cultivo (Figura 1b) também foi verificado no ensaio com o sistema de MFO na vazão de ar de 0,05 vvm (127,4 ± 6,1 mg.L⁻¹) seguido pelo ensaio CT com CO₂ para a mesma vazão (114,1 4 ± 9,6 mg.L⁻¹). O ensaio com MFO e menor vazão promoveu redução do pH e aumento do acúmulo de CID no meio. Assim, nesta condição empregada foi promovida maior dissolução de CO₂ no meio de cultivo.

Fan *et al.* (2007) relataram decréscimo do pH nos cultivos de *Chlorella vulgaris* em fotobiorreator com membranas (7,5) quando comparado aos biorreatores de coluna de bolhas (8,0) e *airlift* (8,0). Além disso, os autores também ratificam que em vazões menores são verificados maiores tempos de residência do gás no meio líquido, com isso promovendo maior dissolução do CO₂ no meio de cultivo. No entanto, uma vez que o tempo de retenção diminuiu com o aumento da vazão do gás, maior parte do gás é perdida para atmosfera não sendo utilizado de forma eficiente pelas microalgas.

O sistema de MFO contribui para a geração de microbolhas, aumentando a área de contato gás-líquido e com isso favorecendo a transferência de massa do CO₂ e O₂ (FAN *et al.*, 2007). As

microbolhas apresentam vantagens em relação às macrobolhas, devido a sua menor velocidade de ascensão, maior tempo de retenção do gás e também maior taxa de dissolução do gás na fase líquida (TERASAKA *et al.*, 2011).

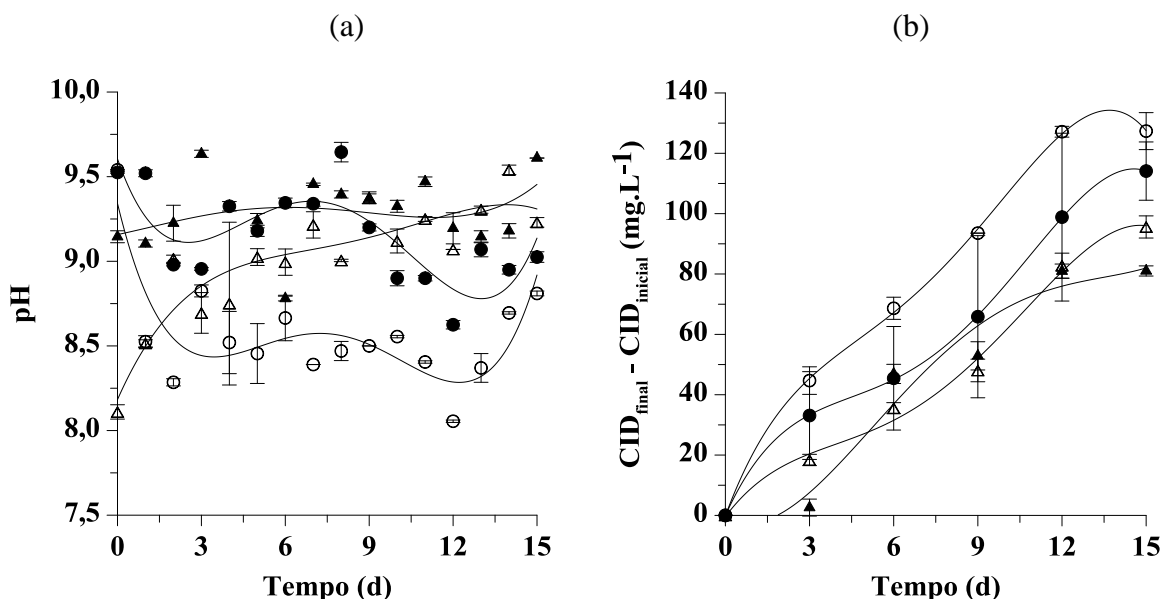


Figura 1 – Perfis de pH e acúmulo de carbono inorgânico dissolvido no meio dos ensaios: membranas de fibra oca nas vazões de ar de 0,05 vvm (○) e 0,3 vvm (Δ); controle nas vazões de 0,05 vvm (●) e 0,3 vvm (▲).

A Tabela 1 apresenta os resultados de produtividade máxima de biomassa, concentração de carbono na biomassa, taxa de biofixação de CO₂ e eficiência de utilização de CO₂ por *Spirulina*.

Tabela 1 – Média ± desvio padrão da produtividade máxima de biomassa (P_{máx}), concentração de carbono na biomassa (C), taxa de biofixação de CO₂ (T_{CO2}) e eficiência de utilização de CO₂ (E_{CO2})

Vazão de ar (vvm)	0,05		0,3	
Ensaio	MFO	CT	MFO	CT
P _{máx} (mg.L ⁻¹ .d ⁻¹)	131,8 ± 1,9 ^{a,A}	120,4 ± 2,4 ^{b,A}	127,9 ± 4,3 ^{a,A}	132,2 ± 1,0 ^{a,B}
C(%m.m ⁻¹)	47,9 ± 0,4 ^{a,A}	46,2 ± 0,2 ^{a,A}	46,2 ± 0,0 ^{a,A}	47,3 ± 0,9 ^{a,A}
T _{CO2} (mg.L ⁻¹ .d ⁻¹)	231,6 ± 2,1 ^{a,A}	203,8 ± 3,6 ^{b,A}	216,6 ± 7,2 ^{a,B}	229,3 ± 4,7 ^{a,B}
E _{CO2} (%m.m ⁻¹)	86,2 ± 0,8 ^{a,A}	74,8 ± 1,3 ^{b,A}	80,6 ± 2,7 ^{a,B}	85,3 ± 1,8 ^{b,B}

Letras minúsculas diferentes, em uma mesma linha, para cada vazão e letras maiúsculas diferentes entre as vazões para o mesmo tratamento correspondem à diferença significativa (p<0,05).

O maior valor de P_{máx} para *Spirulina* sp. LEB 18 foi verificado para o ensaio com MFO na vazão de ar de 0,05 vvm, apresentando diferença significativa (p<0,05) em relação ao ensaio CT com a pedra sinterizada. O aumento da vazão específica de ar de 0,05 para 0,3 vvm nos ensaios CT promoveu acréscimo de 9,8 % no valor de P_{máx}. Radmann *et al.* (2011) observaram P_{máx} de 80 mg.L⁻¹.

¹.d⁻¹ para *Spirulina* sp. em ensaios conduzidos em fotobiorreatores tubulares em série e injeção de 12 % v/v de CO₂ pelo difusor pedra sinterizada. Podemos observar que a aplicação do sistema de MFO e menor vazão de ar no presente estudo foi aproximadamente 39 % superior ao resultado obtido por Radmann *et al.* (2011). Isto evidencia que a aplicação do sistema de membranas de fibra oca pode contribuir para maior conversão do carbono fixado em biomassa microalgal.

A concentração de carbono elementar (C) na biomassa de *Spirulina* manteve-se entre 46,2 e 47,9 % m.m⁻¹ não apresentando diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos aplicados (Tabela 1). Conforme relatado por Borges *et al.* (2013), a biomassa microalgal pode apresentar em torno de 50 % m.m⁻¹ deste elemento em sua composição. Quanto à máxima taxa de biofixação de CO₂ e a eficiência de utilização de CO₂ pela microalga *Spirulina* sp. LEB 18 (Tabela 1) os maiores resultados foram observados no cultivo com vazão específica de ar de 0,05 vvm e sistema de MFO, apresentando diferença significativa em relação ao ensaio controle na mesma vazão ($p < 0,05$). Ao se realizar a comparação entre vazões para a mesma configuração de difusor, foi observado aumento significativo de 12,5 e 14,0 % das respostas T_{CO2} e E_{CO2}, respectivamente para o ensaio CT, quando a vazão utilizada passou de 0,05 para 0,3 vvm. Já para o ensaio com MFO, o aumento da vazão de aeração promoveu a redução significativa ($p < 0,05$) de 6,5 e 5,6 % das respostas T_{CO2} e E_{CO2}, respectivamente, quando a vazão utilizada passou de 0,05 para 0,3 vvm.

Fan *et al.* (2007) utilizando sistema de membranas de fibra oca (MFO) a fim de substituir o difusor convencional (anel perfurado) no cultivo de *Chlorella vulgaris*, verificaram T_{CO2} de 6600 mg.L⁻¹.d⁻¹ pela microalga com sistema de MFO, sendo este valor 53 % superior ao ensaio que empregou o anel perfurado.

Apesar de serem verificadas elevadas taxas de biofixação e eficiência de utilização de CO₂ por *Spirulina* com o aumento da vazão no ensaio controle, diversos fatores devem ser considerados a fim de se definir os parâmetros mais adequados ao processo. De acordo com Zhang *et al.* (2002) a aplicação de altas vazões de aeração aos cultivos de microalgas pode ser inviável do ponto de vista econômico, principalmente quando almeja-se o aumento de escala.

O emprego de MFO como sistema para injeção de CO₂ resultou em E_{CO2} máxima de aproximadamente 87 % no cultivo de *Spirulina* com vazão de ar de 0,05 vvm (Figura 2a), tendo esta resposta relação com o perfil de crescimento da microalga (Figura 2b). Na Figura 2a é possível observar que durante a fase logarítmica de crescimento, esta delimitada entre o ponto inicial e o 5º d de cultivo, a E_{CO2} aumentou continuamente atingindo eficiências entre 69 e 79 %.

Os apontamentos relatados no presente estudo são corroborados por Chai e Zhao (2012) em estudos com a microalga *Chlorococcum* sp., os quais verificaram comportamento semelhante entre o perfil de crescimento celular e a eficiência de utilização de CO₂ pela microalga. Estes autores observaram que a E_{CO2} aumentou continuamente com o tempo de cultivo, partindo de 75 % para o valor máximo de 88 %, este observado na fase logarítmica de crescimento.

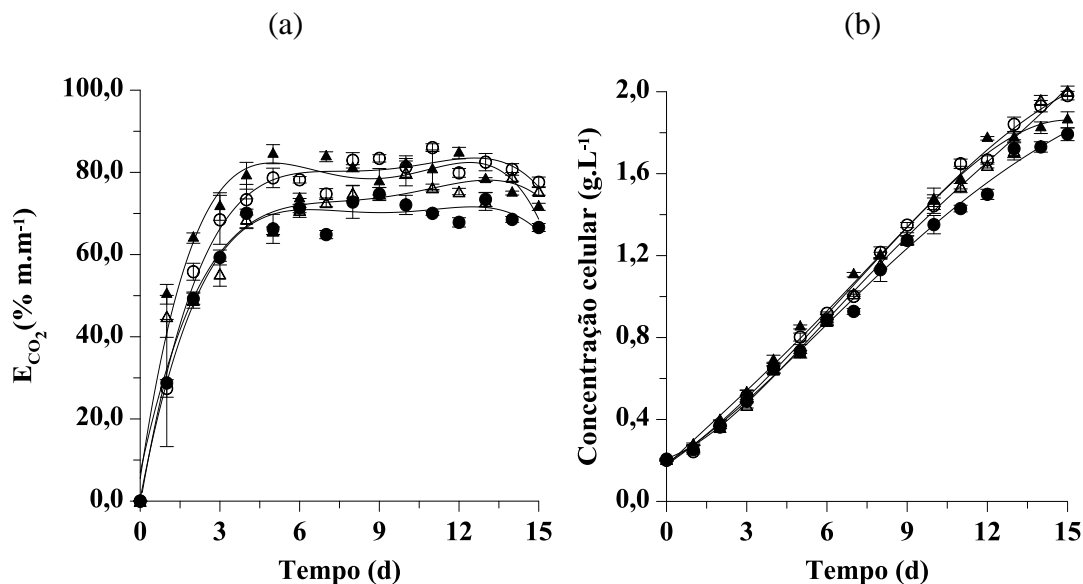


Figura 2 – Perfis de E_{CO_2} (a) e concentração celular (b) dos ensaios: MFO nas vazões específicas de ar de 0,05 (\circ) e 0,3 vvm (Δ) e CT nas vazões específicas de ar de 0,05 (\bullet) e 0,3 vvm (\blacktriangle).

4. CONCLUSÃO

Com este estudo foi possível desenvolver e aplicar o sistema de MFO para alimentação de CO_2 no cultivo de *Spirulina* sp. LEB 18. A aplicação deste sistema promoveu maior acúmulo de carbono inorgânico dissolvido no meio de cultivo ($127,4 \pm 6,1 \text{ mg.L}^{-1}$) na vazão específica de ar de 0,05 vvm. Os maiores resultados de produtividade de biomassa ($131,8 \pm 1,9 \text{ mg.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$), taxa de biofixação de CO_2 ($231,6 \pm 2,1 \text{ mg.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$) e eficiência de utilização de CO_2 por *Spirulina* ($86,2 \pm 0,8 \% \text{ m.m}^{-1}$) também foram verificadas no ensaio com MFO na vazão de ar de 0,05 vvm quando comparadas ao ensaio CT para a mesma vazão. Os resultados obtidos demonstraram que a aplicação do sistema de MFO e menor vazão de aeração proporcionaram aumento da produtividade de biomassa, bem como das taxas de biofixação e eficiência de utilização de CO_2 por *Spirulina* sp. LEB 18.

5 REFERÊNCIAS

- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - *Standard Methods. For The Examination of Water and Wastewater*. 20 Ed. American Public Health Association. Washington, 1998.
- ANJOS, M.; FERNANDES, B. D.; VICENTE, A. A.; TEIXEIRA, J. A.; DRAGONE, G. Optimization of CO_2 bio-mitigation by *Chlorella vulgaris*. *Bioresource Technol.*, v. 139, p. 149–154, 2013.
- BORGES, J. A.; ROSA, G. M.; MEZA, L. H. R.; HENRARD, A. A.; SOUZA, M. R. A. Z.; COSTA, J. A. V. *Spirulina* sp. LEB-18 culture using effluent from the anaerobic digestion. *Braz. J. Chem. Eng.*, v. 30, n. 2, p. 277–287, 2013.
- CARMOUZE, J. P. *O metabolismo dos ecossistemas aquáticos: fundamentos teóricos, métodos de estudo e análises químicas*. São Paulo, Editora Edgard Blucher, FAPESP, 253 p., 1994.

- CARVALHO, A. P.; MEIRELES, L. A.; MALCATA, F. X. Microalgal reactors: a review of enclosed systems design and performances. *Biotechnol Progr.*, v. 22, p. 1490–1506, 2006.
- CHAI, X.; ZHAO, X. Enhanced removal of carbon dioxide and alleviation of dissolved oxygen accumulation in photobioreactor with bubble tank. *Bioresource Technol.*, v. 116, p. 360–365, 2012.
- CHAI, X.; ZHAO, Z.; BAOYING, W. Biofixation of carbon dioxide by *Chlorococcum* sp. in a photobioreactor with polytetrafluoroethene membrane sparger. *Afr. J. Biotechnol.*, v. 11, p. 7445–7453, 2012.
- COSTA, J. A. V., COLLA, L. M., DUARTE FILHO, P., KABKE, K.; WEBER, A. Modeling of *Spirulina platensis* growth in fresh water using response surface methodology. *World J. Microb. Biot.*, v. 18, p. 603–607, 2002.
- COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. The role of biochemical engineering in the production of biofuels from microalgae *Bioresource Technol.*, v. 102, p. 2–9, 2011.
- FAN, L.; ZHANG, Y.; CHENG, L.; ZHANG, L.; TANG, D.; CHEN, H. Optimization of Carbon Dioxide Fixation by *Chlorella vulgaris* Cultivated in a Membrane-Photobioreactor. *Chem. Eng. Technol.*, v. 30, n. 8, p. 1094–1099, 2007.
- HUGHES, E.; BENEMANN, J. Biological fossil CO₂ mitigation. *Energy Convers. Manage.*, v. 38, p. 467–473, 1997.
- KUMAR, A.; ERGAS, S.; YUAN, X.; SAHU, A.; ZHANG, Q.; DEWULF, J.; MALCATA, F. X.; LANGENHOVE, H. Enhanced CO₂ fixation and biofuel production via microalgae: recent developments and future directions. *Trends Biotechnol.*, v. 28, p. 371–380, 2010.
- MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Biofixation of carbon dioxide by *Spirulina* sp. and *Scenedesmus obliquus* cultivated in a three-stage serial tubular photobioreactor. *J. Biotechnol.*, v. 129, p. 439–445, 2007.
- MORAIS, M. G.; REICHERT, C. C.; DALCANTON, F.; DURANTE, A. J.; MARINS, L. F.; COSTA, J. A. V. Isolation and Characterization of a New *Arthrospira* Strain. *Z. Naturforsch.*, v. 63, p. 144–150, 2008.
- RADMANN, E. M.; CAMERINI, F. V.; SANTOS, T. D.; COSTA, J. A. V. Isolation and application of SOX and NOX resistant microalgae in Biofixation of CO₂ from thermoelectricity plants. *Energy Convers. Manage.*, v. 52, p. 3132–3136, 2011.
- TERASAKA, K.; HIRABAYASHI, A.; NISHINO, T.; FUJIOKA, S.; KOBAYASHI, D.; Development of microbubble aerator for waste water treatment using aerobic activated sludge. *Chem Eng Sci.*, v. 66, p. 3172–3179, 2011.
- ZARROUK, C. Contribution à l'étude d'une cyanophycée. Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et photosynthèse de *Spirulina maxima* Geitler. Ph.D. Thesis, University of Paris, 1966.
- ZHANG, K.; KURANO, N.; MIYACHI, S. Optimized aeration by carbon dioxide gas for microalgal production and mass transfer characterization in a vertical flat-plate photobioreactor. *Bioprocess Bios. Eng.*, v. 25, p. 97–101, 2002.