



Área: Engenharia de Alimentos

CULTIVO EM CONSÓRCIO DAS MICROALGAS *Spirulina platensis* E *Scenedesmus obliquus* COM ADIÇÃO DE EFLUENTE DE BOVINOCULTURA

Vítor Augusto Farina Cavanhi*, André Bergoli, João Felipe Freitag, Francisco Gerhardt Magro, Luciane Maria Colla

Laboratório de Bioquímica e Bioprocessos, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS

*E-mail: vitor.a.f.c@hotmail.com

RESUMO – As microalgas despontam como potencial matéria-prima para diversos produtos, visto suas composições intracelulares variadas, abrangendo áreas como a alimentícia, farmacêutica e cosmética. Também entram no contexto das biorrefinarias, apresentando potencial para aumento da sustentabilidade ambiental de certos processos, sendo um exemplo a possibilidade de tratamento de efluentes e posterior utilização da biomassa gerada para a produção de biocombustíveis e/ou biofertilizantes. O uso de efluentes no meio de cultivo e a inserção no contexto das biorrefinarias pode levar o uso de microalgas para certos fins, mais próximo da viabilidade econômica. Nesse sentido, o presente trabalho avaliou o cultivo microalgal das microalgas *Spirulina platensis* e *Scenedesmus obliquus* em consórcio, com e sem adição de efluente de bovinocultura proveniente de processo de biodigestão de esterco bovino para geração de energia, analisando a composição intracelular quanto ao teor de carboidratos e proteínas, e as concentrações de fósforo total e DQO.

Palavras-chave: Sustentabilidade; Biorrefinarias; Biocombustíveis; Valoração de resíduos.

1 INTRODUÇÃO

A busca por desenvolvimento sustentável tem levado a um foco em biorrefinarias, as quais consistem no uso de matérias-primas renováveis em um processo produtivo que não gere resíduos, ou que esses resíduos sejam mínimos, no final do processo completo. As biorrefinarias permitem, além de uma produção sustentável com uma geração reduzida de resíduos e gases poluentes, a obtenção de diversos produtos, entre eles: biocombustíveis, biofertilizantes, e alimentos funcionais (CHERUBINI, 2010; FERNANDO et al., 2006). Como potencial matéria-prima para biorrefinarias se apresentam as microalgas, microrganismos fotossintéticos que graças à possibilidade de direcionar seus cultivos para a obtenção de biomassas com composições específicas, permitem seu uso na produção de diversos produtos, o que pode diminuir os impactos dos elevados custos dos cultivos microalgais (PRÉAT et al., 2020; ASTOLFI et al., 2020; ZHU, 2015).

A utilização de microalgas não é uma novidade para a humanidade, tendo sido usadas por populações antigas devido aos benefícios alimentares que apresentam, e vem retornando desde a década de 1960 a se destacarem como alimentos considerados benéficos para a saúde, e em usos em áreas como a farmacêutica e cosmética (ZHU, 2015; BERTOLDI; SANT'ANNA; OLIVEIRA, 2008; RICHMOND et al., 1993). Porém, o cultivo de microalgas apresenta elevados custos, o que dificulta seu uso em escala industrial para fins ao qual tem potencial, como os biocombustíveis de terceira geração (ABDULLAH et al., 2019; PRÉAT et al., 2020; ZHU, 2015). Nesse âmbito, surge a busca por diminuir custos de cultivo, sendo o meio de cultivo uma parcela considerável dos custos, meios de cultivo alternativos são alvos de diversos estudos, entre eles o uso de efluentes (HULTBERG et al., 2017; MAHDY et al., 2015; ZENG et al., 2015).

O uso de efluentes das mais diversas origens é relatado em diversos estudos visando o cultivo de microalgas (ANSARI et al., 2019; HULTBERG et al., 2017; MARKOU, 2015; PADDOCK, FERNÁNDEZ-BAYO, VANDERGHEYNST, 2019). Esse uso traz duas vantagens estratégicas para o cultivo microalgal: com a adição de efluente, consequente aumento da carga orgânica, e limitação de nutrientes, ocorre estresse celular, levando assim, a microalga a acumular compostos de reserva, como os carboidratos, essenciais para a produção do biocombustível bioetanol (SALLA et al., 2016). A outra vantagem é a possibilidade de tratamento do efluente, devido à microalga utilizar como nutrientes certos compostos presentes no efluente, como fósforo e nitrogênio inorgânicos. Além de que a cooperação entre microrganismos já presentes no efluente e a microalga, pode trazer benefícios para o cultivo, como o aumento da produção de biomassa e remoção dos compostos mencionados anteriormente (WANG et al., 2020; MAHDY et al., 2015). Outra cooperação, que também traz benefícios, pode ser obtida por cultivos em consórcio utilizando mais de uma espécie de microalga (HUY et al., 2018; KOREIVIENĖ et al., 2014).

Assim, o uso de microalgas cultivadas com efluentes e no contexto de biorrefinarias, tem potencial para a redução de custos do cultivo e da geração de mais de um produto de valor-agregado, proporcionando assim, um processo ambientalmente sustentável e viável economicamente (ZHU, 2015; XIN et al., 2016). Por essa razão, o



presente trabalho avaliou o cultivo de um consórcio de microalgas, *Spirulina platensis* e *Scenedesmus obliquus*, com adição de efluente de bovinocultura, visando a obtenção de biomassa para a possível geração de bioprodutos de valor agregado (ZHU, 2015; XIN et al., 2016).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 CULTIVO MICROALGAL

O cultivo foi realizado em batelada alimentada com as microalgas *Spirulina platensis* LEB 52 e *Scenedesmus obliquus*, cujos inóculos são mantidos pelo Laboratório de Bioquímica e Bioprocessos do Campus I da Universidade de Passo Fundo, e efluente de bovinocultura proveniente de processo de biodigestão de esterco bovino para geração de energia em uma propriedade da cidade de Vacaria (RS). Foram utilizados tanques do tipo *raceway* de 10 L cada, sendo o cultivo conduzido na estufa localizada ao lado do Módulo II do Parque Científico e Tecnológico UPF Planalto Médio da Universidade de Passo Fundo (coordenadas geográficas: 28°13'40.0"S 52°23'23.7"W), com controle de temperatura entre 20°C e 30°C, mantida pelo sistema automatizado da estufa. O inóculo da *S. platensis* já estava adaptado em tanque de aproximadamente 200 L na própria estufa, enquanto a *S. obliquus* estava em biorreatores de 2 L em estufa com controle de luminosidade e temperatura, por esse motivo foi adaptada em biorreatores de 5 L para as condições da estufa onde foi conduzido o cultivo.

Após a adaptação dos inóculos, os cultivos foram iniciados em quatro tanques *raceway* com concentração microalgal total de aproximadamente 0,1 g/L, com adição de 10% (v/v) de efluente em dois dos tanques, enquanto em outros dois tanques não foi adicionado efluente, visando a avaliação da influência do efluente nos cultivos. O volume restante foi completado com meio de cultivo Zarrouk na concentração de 20% (ZARROUK, 1966). A agitação dos tanques foi realizada por bombas submersas de 5 W cada.

O cultivo foi conduzido durante 20 dias, com encerramento devido à chegada na fase de declínio ou morte celular. Foi realizada a análise diária de pH, e a cada cinco dias foram coletadas amostras para a determinação de massa seca por filtração em filtros de celulose com poros de 0,45 µm, e para centrifugação e posterior recolhimento de biomassa e sobrenadante, que foram usadas em análises subsequentes. A biomassa recolhida da centrifugação foi seca em estufa por 24 h a 50°C e depois congelada, enquanto o sobrenadante foi mantido congelado até a realização das demais análises. Após a coleta dessas amostras foram adicionados 1 L de efluente nos tanques 3 e 4, nos dias 5, 10 e 15, com exceção do 20º dia, quando foi encerrado o cultivo.

2.2 DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS

As biomassas coletadas nos dias 0, 5, 10, 15 e 20, foram submetidas ao rompimento celular por sonicação durante 5 min. Posteriormente, foram caracterizadas quanto aos teores de carboidratos pelo método fenol-sulfúrico (DUBOIS et al., 1956) e proteínas pelo método Folin-Lowry (LOWRY et al., 1951). Os sobrenadantes coletados nos mesmos dias foram caracterizados quanto à demanda química de oxigênio (DQO) por titulação e fósforo total (APHA, 2015).

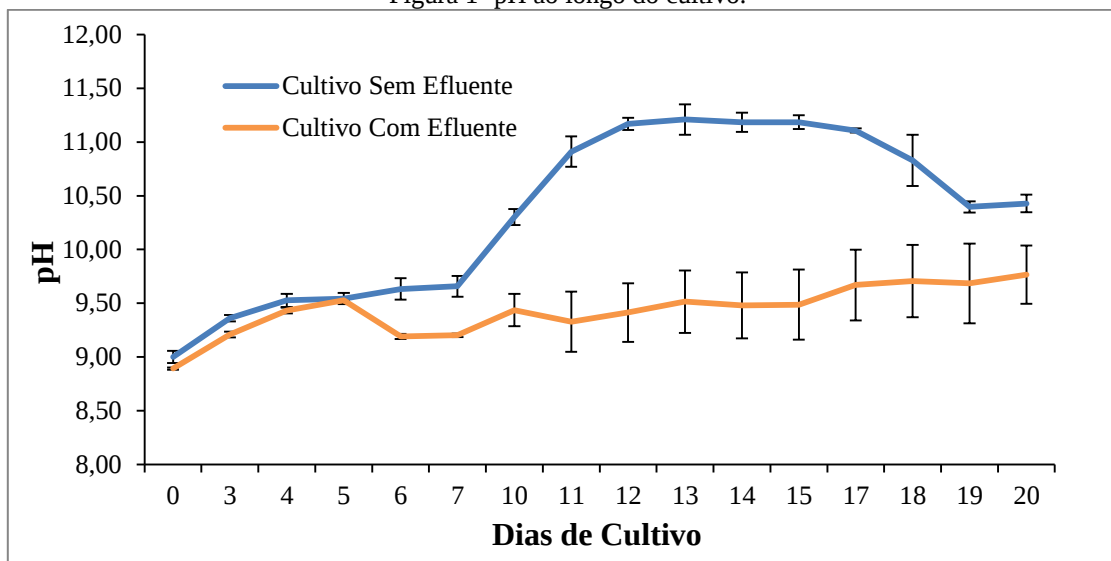
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 DETERMINAÇÕES DIÁRIAS DE pH

Na Figura 1 está presente a variação dos valores de pH ao longo do cultivo. O pH se manteve alcalino durante todo o cultivo, o que é esperado visto a composição alcalina do meio (ZARROUK, 1966), e ocorreu o crescimento das microalgas juntamente com a elevação do pH, enfatizando o melhor crescimento de microalgas em pH elevado (PEREZ-GARCIA et al., 2011). O decréscimo no final do cultivo sem efluente pode estar associado ao consumo de nutrientes que conferem caráter alcalino ao meio. E o pH do cultivo com efluente se manter estável pode estar associado à adição periódica de efluente, que apresentava pH 7,24±0,02, diminuindo assim o pH do meio.



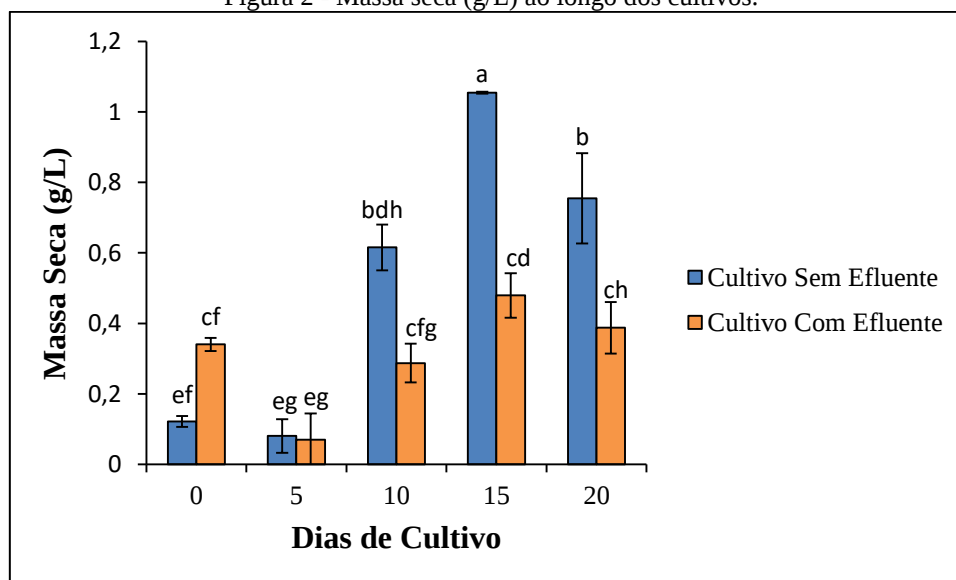
Figura 1- pH ao longo do cultivo.



3.2 MASSA SECA

Observa-se pela Figura 2 que o cultivo sem efluente atingiu valores maiores de massa seca quando comparado ao cultivo com efluente, isso pode ser devido ao estresse celular causado pelo efluente, que pode ter levado a um crescimento menor da microalga. O valor máximo de massa seca para o cultivo sem efluente foi de $1,0545 \pm 0,0026$ g/L no dia 15, enquanto para o cultivo com efluente o valor máximo de massa seca foi de $0,4794 \pm 0,0631$ g/L também no dia 15, porém as concentrações de massa seca do cultivo com efluente nos dias 0, 10, 15 e 20 foram estatisticamente iguais, ou seja, não ocorreu aumento significativo da concentração de massa seca no cultivo com efluente em relação ao início do cultivo, somente uma diminuição no dia 5, provavelmente pelo aumento da quantidade de efluente e pela microalga ainda estar se adaptando ao meio com efluente.

Figura 2 - Massa seca (g/L) ao longo dos cultivos.



Colunas que compartilham de uma mesma letra não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de Tukey a 5% de significância.

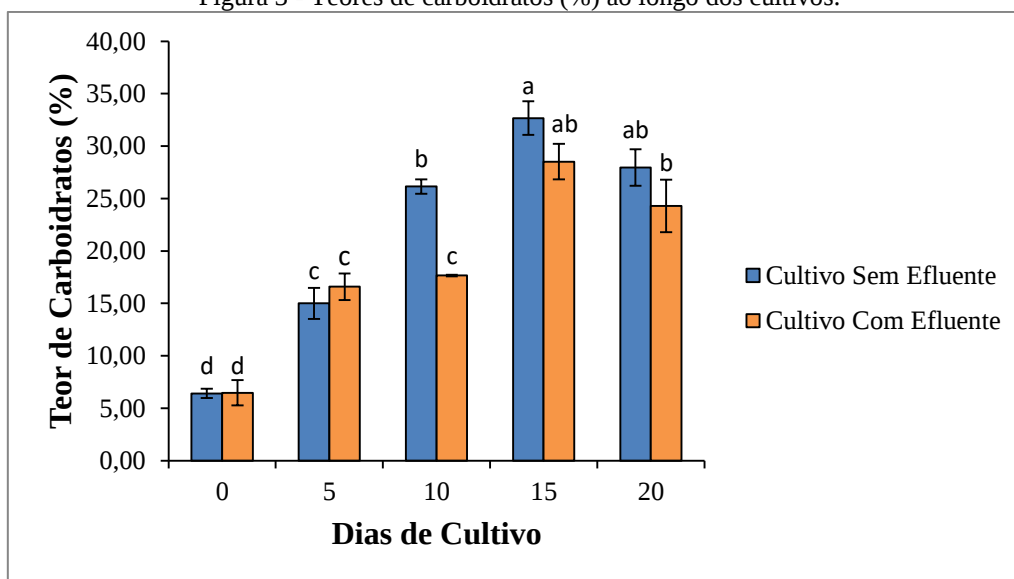
3.3 TEORES DE CARBOIDRATOS E PROTEÍNAS

Na Figura 3 está apresentada a variação dos teores de carboidrato ao longo dos cultivos com e sem efluente. Observa-se principalmente grande similaridade dos resultados, momento ao qual os teores de carboidratos em uma mesmo dia são estatisticamente iguais, com exceção do dia 10. Também, os cultivos com e sem efluente do dia 15 são estatisticamente iguais ao cultivo sem efluente do dia 20, e os cultivos com efluente do dia 15 e do dia 20 são também



estatisticamente iguais. E no dia 10 o cultivo sem efluente é estatisticamente igual ao cultivo com efluente do dia 15 e ao cultivo sem efluente do dia 20. Portanto, no que diz respeito aos teores de carboidratos intracelulares, tanto os cultivos com e sem efluente apresentaram mesmo comportamento ao longo dos 20 dias de cultivo. O valor máximo obtido foi no dia 15, com $32,67 \pm 1,61\%$ no cultivo sem efluente, e $28,52 \pm 1,70\%$ no cultivo com efluente, como já mencionado, os valores são estatisticamente iguais. Comparando o dia 0 com o dia 20, no dia 0 o cultivo sem efluente apresentava $6,41 \pm 0,44\%$ de carboidratos intracelulares e essa concentração elevou-se para $27,97 \pm 1,17\%$ no dia 20, enquanto no cultivo com efluente, no dia 0 apresentava $6,47 \pm 1,22\%$ de carboidratos intracelulares, atingindo uma concentração de $24,29 \pm 2,50\%$ no dia 20, lembrando que os valores desses dias, dentro de um mesmo dia, são estatisticamente iguais. Assim, a adição de efluente durante o cultivo, nas condições estudadas, não exerceu efeito significativo no acúmulo de carboidratos intracelulares, obtendo-se uma elevação de carboidratos intracelulares em ambos os cultivos.

Figura 3 - Teores de carboidratos (%) ao longo dos cultivos.

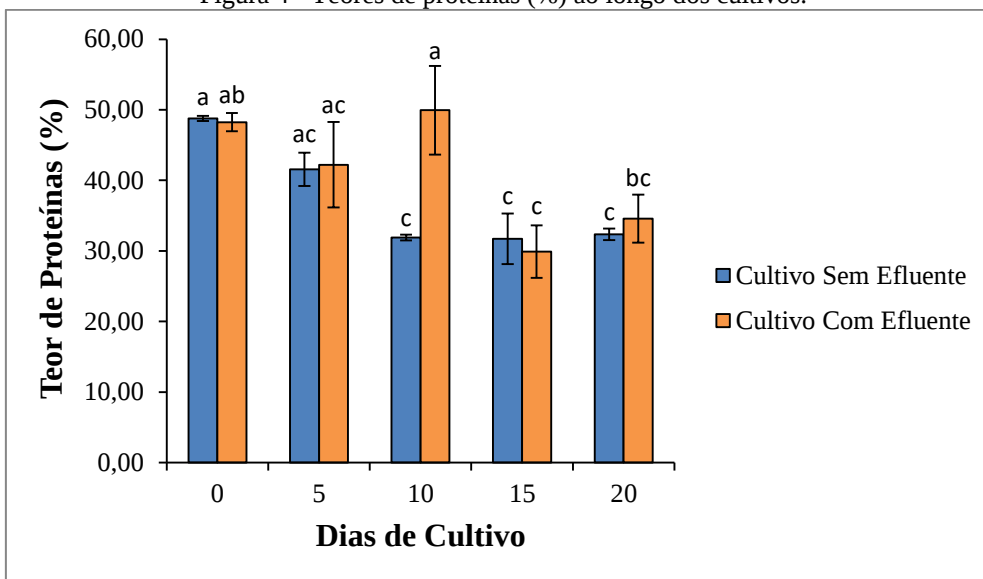


Colunas que compartilham de uma mesma letra não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de Tukey a 5% de significância.

Analisando a Figura 4, observa-se comportamento diferente entre as composições de carboidratos e proteínas. O teor de proteínas, apesar de um decréscimo quando comparados os dias 0 e 10, manteve, estatisticamente, uma estabilidade, enquanto a concentração de carboidratos intracelulares aumentou. Sendo que o cultivo sem efluente iniciou com uma concentração de proteínas de $48,77 \pm 0,37\%$, finalizando no dia 20 com $32,35 \pm 0,83\%$, e o valor mínimo atingido foi de $31,71 \pm 3,59\%$ no dia 15, valor estatisticamente igual ao do dia 20. Enquanto para o cultivo com efluente, que iniciou com um teor intracelular de proteínas de $48,25 \pm 1,30\%$, valor estatisticamente igual ao do cultivo sem efluente do dia 0, e terminou no dia 20 com $34,58 \pm 3,40\%$, valor estatisticamente igual ao do seu dia 0, também alcançou seu menor valor no dia 15 com $29,91 \pm 3,73\%$, valor estatisticamente igual ao do dia 5 e 20. Assim como com os teores de carboidratos, o teor de proteínas em um mesmo dia, com exceção do dia 10, foi estatisticamente igual entre o cultivo sem e com efluente. Em um âmbito geral, a adição de efluente durante o cultivo, nas condições estudadas, não exerceu efeito significativo no acúmulo de proteínas intracelulares.



Figura 4 - Teores de proteínas (%) ao longo dos cultivos.

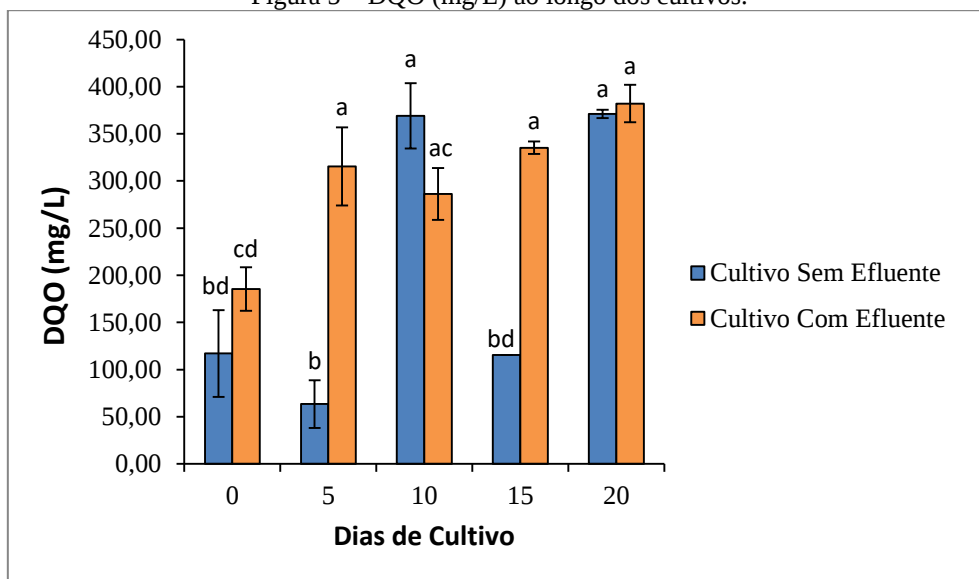


Colunas que compartilham de uma mesma letra não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de Tukey a 5% de significância.

3.4 ANÁLISES DO SOBRENADANTE

A Figura 5 apresenta os resultados das análises da demanda química de oxigênio (DQO). Quanto aos resultados de DQO, que expressa a matéria orgânica, o valor no dia 0 para os dois cultivos foi estatisticamente igual, $117,07 \pm 45,99$ mg/L no cultivo sem efluente, e $185,37 \pm 23$ mg/L no cultivo com efluente. Assim, a adição inicial de efluente não foi estatisticamente significativa quanto ao aumento de DQO. Observa-se que ocorreu um aumento de DQO entre o dia 0 e o dia 5 no cultivo com efluente, mantendo-se estável nos dias posteriores, e um aumento no cultivo sem efluente entre o dia 0 ao dia 10, visto que o valor de DQO para o cultivo sem efluente no dia 0 e no dia 5 são estatisticamente iguais, porém ao contrário do cultivo sem efluente, o valor de DQO diminuiu no dia 15, retornando para o mesmo patamar do dia 10 no dia 20. No dia 20 os cultivos terminaram com valor de DQO estatisticamente iguais, $371,15 \pm 4,41$ mg/L no cultivo sem efluente, e $382,07 \pm 19,85$ mg/L no cultivo com efluente. Analisando em um âmbito geral, ocorreu um aumento de DQO durante o cultivo, e com exceção dos dias 5 e 15, os cultivos se comportaram de forma semelhante quanto à DQO.

Figura 5 – DQO (mg/L) ao longo dos cultivos.

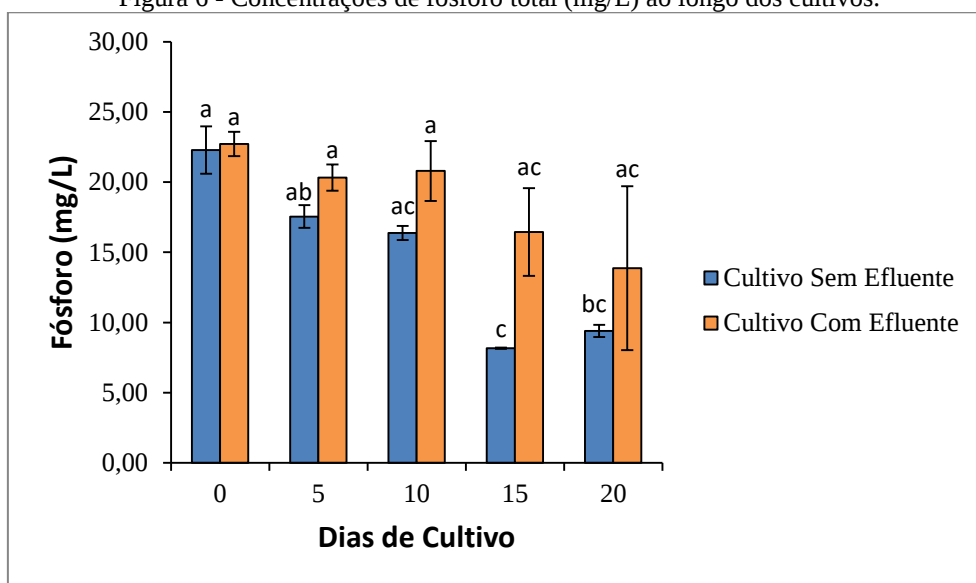


Colunas que compartilham de uma mesma letra não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de Tukey a 5% de significância.



Em relação às análises de fósforo total (Figura 6), ao longo dos cultivos foram observados alguns aspectos, como a redução da concentração no cultivo sem efluentes e concentrações estatisticamente iguais durante o cultivo com presença de efluente. A presença de fósforo em ambos os cultivos é provavelmente devido à presença de fonte nutricional fosfatada do meio Zarrouk. Durante os 20 dias, a concentração de fósforo, em um mesmo dia, foi estatisticamente igual entre o cultivo sem e com efluente. A redução entre o dia 0 e o dia 20 no cultivo sem efluente é provavelmente devido ao consumo das fontes de fósforo do meio de cultivo, enquanto a permanência de um valor de fósforo estatisticamente igual no cultivo com efluente entre o dia 0 e o dia 20 pode ser devido à adição periódica de efluente, que continha uma concentração de fósforo total de 3,09 mg/L, mantendo a concentração de fósforo em níveis estatisticamente iguais ao do dia 0. O cultivo sem efluente iniciou com uma concentração de fósforo de $22,28 \pm 1,68$ mg/L e terminou com uma concentração de $9,40 \pm 0,44$ mg/L, representando uma redução total de $57,61 \pm 5,15\%$ na concentração de fósforo. Enquanto o cultivo com efluente no dia 0 apresentava uma concentração de fósforo de $22,71 \pm 0,87$ mg/L e no dia 20 uma concentração de $13,86 \pm 5,85$ mg/L, valores estatisticamente iguais, assim não havendo uma redução significativa da concentração de fósforo no cultivo com efluente.

Figura 6 - Concentrações de fósforo total (mg/L) ao longo dos cultivos.



Colunas que compartilham de uma mesma letra não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de Tukey a 5% de significância.

4 CONCLUSÃO

Sabe-se que a aplicabilidade por vias biotecnológicas das microalgas é promissora, visto principalmente os biocombustíveis com simultâneo tratamento de efluentes. Dentre as conclusões do presente trabalho, observa-se principalmente a adaptabilidade das cepas de *S. platensis* e *S. obliquus* ao efluente de bovinocultura proveniente de processo de biodigestão de esterco bovino. No que se refere às composições intracelulares da biomassa após os cultivos com e sem efluente, nas condições estudadas, foi demonstrado que mesmo em meio de cultivo adverso as microalgas são capazes de sintetizar os biocompostos, e que a adição de efluente não exerceu efeito significativo sobre a concentração de proteínas e carboidratos intracelulares. Finalmente, em relação às análises físico-químicas de DQO e fósforo total, os resultados indicam que o cultivo microalgal com efluente, nas condições estudadas, não foi capaz de reduzir as concentrações de fósforo total e DQO do meio de cultura. A biomassa obtida tem potencial para a produção de bioprodutos que requeiram certas concentrações tanto de proteínas quanto de carboidratos.

5 AGRADECIMENTOS

Agradecimentos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de iniciação científica PIBIC/CNPq. E à Universidade de Passo Fundo pela sua estrutura, onde foi desenvolvido o trabalho.



6 REFERÊNCIAS

- ABDULLAH, B.; MUHAMMAD, S. A. F. S.; SHOKRAVI, Z.; ISMAIL, S.; KASSIM, K. A.; MAHMOOD, A. N.; AZIZ, M. M. A. Fourth generation biofuel: A review on risks and mitigation strategies. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 107, p. 37-50, 2019.
- ANSARI, F. A.; RAVINDRAN, B.; GUPTA, S. K.; NASR, M.; RAWAT, I.; BUX, F. Techno-economic estimation of wastewater phycoremediation and environmental benefits using *Scenedesmus obliquus* microalgae. **Journal of Environmental Management**, v. 240, p. 293-302, 2019.
- APHA. Standard methods for the examination of water and wastewater. **American Public Health Association (APHA)**: Washington, DC, USA, 2015.
- ASTOLFI, A. L.; REMPEL, A.; CAVANHI, V. A. F.; ALVES, M.; DEAMICI, K. M.; COLLA, L. M.; COSTA, J. A. V. Simultaneous saccharification and fermentation of *Spirulina* sp. and corn starch for the production of bioethanol and obtaining biopeptides with high antioxidant activity. **Bioresource Technology**, v. 301, p. 122698, 2020.
- BERTOLDI, F. C.; SANT'ANNA, E.; OLIVEIRA, J. L. B. Revisão: Biotecnologia de Microalgas. **B. CEPPA**, v. 26, n. 1, p. 9-20, 2008.
- CHERUBINI, F., The biorefinery concept: using biomass instead of oil for producing energy and chemicals. **Energy Conversion and Management**, v.51, p. 1412 - 1421, 2010.
- DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, p. 350-356, 1956.
- FERNANDO, S.; ADHIKARI, S.; CHANDRAPAL, C.; MURALI, N. Biorefineries: Current status, challenges, and future direction. **Energy & Fuels**, v. 20, p. 1727-1737, 2006.
- HUY, M.; KUMAR, G.; KIM, H. W.; KIM, S. H. Photoautotrophic cultivation of mixed microalgae consortia using various organic waste streams towards remediation and resource recovery. **Bioresource Technology**, v. 247, p. 576-581, 2018.
- HULTBERG, M.; LIND, O.; BIRGERSSON, G.; ASP, H. Use of the effluent from biogas production for cultivation of *Spirulina*. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 40, p. 625-631, 2017.
- KOREIVIENĖ, J.; VALČIUKAS, R.; KAROSIENĖ, J.; BALTRĖNAS, P. Testing of *Chlorella/Scenedesmus* microalgae consortia for remediation of wastewater, CO₂ mitigation and algae biomass feasibility for lipid production. **Journal of Environmental Engineering and Landscape Management**, v. 22, p. 105-114, 2014.
- LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin-Phenol reagent. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 193, p. 265-275, 1951.
- MARKOU, G. Fed-batch cultivation of *Arthrospira* and *Chlorella* in ammonia-rich wastewater: Optimization of nutrient removal and biomass production. **Bioresource Technology**, v. 193, p. 35-41, 2015.
- MAHDY, A.; MENDEZ, L.; BALLESTEROS, M.; GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, C. Algaculture integration in conventional wastewater treatment plants: Anaerobic digestion comparison of primary and secondary sludge with microalgae biomass. **Bioresource Technology**, v. 184, p. 236-244, 2015.
- PADDOCK, M. B.; FERNÁNDEZ-BAYO, J. D.; VANDERGHEYNST, J. S. The effect of the microalgae-bacteria microbiome on wastewater treatment and biomass production. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 104, p. 893-905, 2019.
- PEREZ-GARCIA, O.; ESCALANTE, F. M. E.; DE-BASHAN, L. E.; BASHAN, Y. Heterotrophic cultures of microalgae: Metabolism and potential products. **Water Research**, v. 45, p. 11-36, 2011.
- PRÉAT, N.; TAELEMAN, S. E.; DE MEESTER, S.; ALLAIS, F.; DEWULF, J. Identification of microalgae biorefinery scenarios and development of mass and energy balance flowsheets. **Algal Research**, v. 45, p. 101737, 2020.
- RICHMOND, A.; BOUSSIBA, S.; VONSHAK, A.; KOPEL, R. A new tubular reactor for mass production of microalgae outdoors. **Journal of Applied Phycology**, v. 5, p. 327-332, 1993.
- SALLA, A. C. V.; MARGARITES, A. C.; SEIBEL, F. I.; HOLZ, L. C.; BRIÃO, V. B.; BERTOLIN, T. E.; COLLA, L. M.; COSTA, J. A. V. Increase in the carbohydrate content of the microalgae *Spirulina* in culture by nutrient starvation and the addition of residues of whey protein concentrate. **Bioresource Technology**, v. 209, p. 133-141, 2016.
- WANG, Y.; WANG, S.; SUN, L.; SUN, Z.; LI, D. Screening of a *Chlorella*-bacteria consortium and research on piggy wastewater purification. **Algal Research**, v. 47, p. 101840, 2020.
- XIN, C.; ADDY, M. M.; ZHAO, J.; CHENG, Y.; CHENG, S.; MU, D.; LIU, Y.; DING, R.; CHEN, P.; RUAN, R. Comprehensive techno-economic analysis of wastewater-based algal biofuel production: A case study. **Bioresource Technology**, v. 211, p. 584-593, 2016.
- ZARROUK, C. Contribution à l'étude d'une cyanophycée: Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de *Spirulina maxima*. 1966. Tese (Ph.D) - Université de Paris, Paris, 1966.
- ZENG, X.; GUO, X.; SU, G.; DANQUAH, M. K.; ZHANG, S.; LU, Y.; SUN, Y.; LIN, L. Bioprocess considerations for microalgal-based wastewater treatment and biomass production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 42, p. 1385-1392, 2015.
- ZHU, L. Biorefinery as a promising approach to promote microalgae industry: An innovative framework. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 41, p. 1376-1384, 2015.