



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för naturresurser och lantbruksvetenskap
Institutionen för växtproduktionsekologi

Konstruktion av en fotobioreaktor för odling av alger

– ett småskaligt försök

Brage Frick, Lukas Axelsson, Tobias Neselius

Konstruktion av en fotobioreaktor för odling av alger

Brage Frick, Lukas Axelsson, Tobias Neselius

Handledare: Göran Bergkvist, SLU,
VPE

Examinator: Bodil Frankow-Lindberg, SLU,
VPE

Omfattning: 15 hp

Nivå och fördjupning: Grund C

Kurstitel: Självständigt arbete i biologi

Kurskod: EX 0418

Program/utbildning: Agronom Mark/Växt

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2010

Elektronisk publicering: <http://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: Fotobioreaktor, bioreaktor, alger, biobränsle



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för naturresurser och lantbruksvetenskap
Institutionen för växtproduktionsekologi

Abstract

The prevailing food and energy crisis of the world, due to the declining reserves of fossil energy and a never ending rise of consumption, forces us to look into new fields to supply our energy demand. The boom of bio energy is criticized, as food crops are used to provide biodiesel and ethanol and the volumes are ridiculously small to supply world demand. Algae are one of the world's oldest life forms and exist in many different phyla, providing a great variety to choose from, for different purposes. Cultivating microalgae offer a way to produce energy at great volumes without competing with food production and at the same time the algae offer a way to use our expensive nutrients in a more efficient way, besides this the algae are carbon dioxide neutral since their carbon source can be supplied by the atmosphere and the additional energy required can be supplied by algal oil or other renewable sources. Constructing a small photobioreactor for laboratory use offers a simple way of testing different algae. Using drainage water to cultivate algae in a photobioreactor could offer a way to enhance nutrition use efficiency in agriculture. This thesis consists of two experiments, growing microalgae in drainage water from a clay soil and cultivating algae for maximal growth. Both experiments were performed in our photobioreactor. The algae cultivated in drainage water showed no growth, probably due to very low levels of nitrogen released from the clay soil. To obtain more growth we added nutrients in increasing doses in the second experiment. The treatments with high nutrient levels showed the highest levels of biomass but the nutrients had to be added gradually to avoid osmotic stress. However the treatments with a small nutrient supply produced more biomass per unit of applied nutrients than treatments with high doses of applied nutrients. The results show that a drainage water rich in nutrients, perhaps from a sand soil, should be used to obtain algal growth. To grow high levels of biomass, nutrients have to be added continuously and to obtain fast growth, a large amount of nutrients have to be added.

Nyckelord: Alger, Lipider, Näring, Energi, Ljus, Bioreaktor

Innehållsförteckning

1	Introduktion	7
1.1	Vad är alger?	8
1.2	Alger som energigröda	11
1.3	Algodling	12
1.3.1	Öppna system	12
1.3.2	Bioreaktorer	13
1.4	Ljusets betydelse för tillväxt	14
1.4.1	Ljusets betydelse för produktionen	14
1.4.2	Tillskottsbelysning	15
1.4.3	Alternativa ljuskällor	15
2	Syfte och frågeställningar	17
3	Material och metod	18
3.1	Tillväxtmedium	18
3.2	Fotobioreaktor	21
3.2.1	Skörd av alger	22
4	Resultat	23
5	Diskussion	25
5.1	Förbättringar och synpunkter	26
6	Framtida möjligheter	28
7	Tillkännagivanden	30
8	Litteraturlista	31

1 Introduktion

Det senaste seklet kännetecknas av ökande befolkning och aldrig tidigare skådad exploatering av naturens resurser. Vårt levnadssätt är och har de senaste 50 åren varit helt beroende av fossila energikällor, där oljan kommit i fokus, främst för sin stora mångsidighet vad gäller att producera olika sorters bränslen och material. Oljan har möjliggjort mekanisering och konstgödselframställning vilket har mångdubblat skördarna på kort tid, men idag står vi inför ett stundande epokskifte, oljan håller på att ta slut, samtidigt som efterfrågan ökar. Ett fåtal länder har mycket stora fyndigheter, och exporterar till övriga världen. USA dominerar marknaden genom den stora importen och genom att olja handlas i dollar, vilket håller upp värdet på valutan och därigenom bibehåller en stark köpkraft för USA. En situation där världen är beroende av ett par storproducenter bäddar för problem vilket kanske är tydligast i de militära konflikterna. Irakkriget är bara ett exempel.

Kan energiproduktionen bli lika lokal som matproduktionen skulle mycket kunna vinnas. En nuvarande trend är drivmedelsframställning ur grödor vilka idag främst utgörs av livsmedelsgrödor som sockerrör, palmfrukter, vete, majs etc. Det finns dock flera problem med att använda landbaserade livsmedelsgrödor för att producera drivmedel. Energigrödeodlingen konkurrerar med livsmedelsproduktionen samtidigt som det ökade energibehovet gör att mer orörd mark exploateras. Därigenom finns risken att produktionen återigen koncentreras till ett fåtal länder med gynnsammare klimat, där odling av energigrödor har högre avkastningspotential.

Om man istället odlar alger är åtminstone de teoretiska vinsterna enorma. Algerna är en av de äldsta livsformerna på jorden (Brennan & Owende, 2010) och består av enkla oskyddade celler. Vattenmiljön gör att de inte måste specialdifferentiera celler till rötter, stamdelar och blad, utan de kan lägga all energi på tillväxt. De är mycket bra på att snabbt anpassa sig till miljön mycket

beroende på en enorm artdiversitet (Brennan & Owende, 2010). En praktisk följd av detta är att alla celler i algen innehåller lipider (fettsyror) och inte bara fröna som i till exempel raps. Detta kombinerat med mycket kortare generationstid och högre tillväxthastighet än för kärlväxter gör att man kan få en stor produktion av både olja och biomassa. Trots att algerna kräver akvatisk miljö, kan de öka tillgången på rent vatten, genom att vatten av otjänlig kvalité kan användas och till och med vara till fördel, då det göder algerna. Förutom vatten med för höga näringsnivåer för att vara tjänligt som dricksvatten, kan också vatten med höga salthalter användas. Enligt Brennan & Owende (2010) kan 12000 liter olja per ha produceras av alger i öppna sjöar, jämfört med rapsens 1000 liter per ha

1.1 Vad är alger?

Traditionellt har organismvärlden delats in i fyra riken: växter, djur, svampar och bakterier. Denna indelning har förändrats genom åren (Sadava *et al.*, 2006). Lindholm (1998) gör en uppdelning enligt tabell 1. Alger är en svårdefinierad grupp som innehåller organismer som både är växter, bakterier och djurlika organismer. De minsta mikroalgerna är så små som någon tusentals millimeter, medan de största makroalgerna kan bli upp till 60 meter långa (Lindholm, 1998). Alg är ett gammalt, sammanfattande namn på en stor grupp organismer, nedan följer en sammanställning av gruppen med fokus på de arter som är intressanta ur energiutvinningsperspektiv. Makroalger är ointressanta som energikällor och behandlas därför inte.

Tabell 1. Indelning av organismvärlden i 5 riken, 3 av dessa innehåller alger (fritt efter Lindholm (1998)).

Prokaryota (utan cellkärna)	
Monera	bakteriernas rike
-Archaeobacteria	ärkebakterier (underrike)
-Eubacteria*	Eubakterier (underrike)
Eukaryota (har cellkärna)	
Protista*	Protistriket
Fungi	Svampriket
Plantae*	Växtriket
Animalia	Djurriket

*riken med alger

Här ges ett urval av alger som har potential att producera bioenergi samt problem och möjligheter med dessa.

Cyanobakterier *Cyanobacteria*

Bland de prokaryota organismerna återfinns en grupp alger, cyanobakterier (Lee, 1999). De är även kända som blå-gröna alger och varje sommar rapporteras det om algblomningar i våra hav vilket omöjliggör badning i drabbade områden på grund av de gifter som produceras av nämnda alger. (NE¹)

Cyanobakterier saknar cellkärna och är närmare släkt med prokaryota bakterier än eukaryota alger. Likt bakterier har de sitt DNA samlat i en ringformad kromosom. Likheten med bakterier har därför medfört en ändring av namnet ”blå-gröna alger” till cyanobakterier. Cyanobakterier är fotoautotrofa, och man tror att de var de första organismer som började fotosyntetisera och därmed producera syre som kom högre organismer till gagn (Sadava *et al.*, 2007). Till skillnad mot övriga bakterier har cyanobakterier klorofyll a, och deras fotosyntes liknar mer växternas på så vis att de producerar syre genom spjälkning av vatten (NE¹). Flertalet av de olika arterna har förmågan att fixera luftburet kväve vilket sker i specialiserade celler, heterocyster. Dessa celler saknar fotosystem II, där syrgasen normalt bildas i fotosyntesen. Anaerob miljö krävs nämligen eftersom det enzym som medverkar vid kvävefixeringen, nitrogenas, är mycket känsligt för syre (Lee, 1999). Det är den kvävefixerande egenskapen som ger de stora algblomningarna t.ex. i Östersjön på somrarna. Vid låga halter av oorganiskt kväve får cyanobakterierna en konkurrensfördel gentemot övriga alger och den tillväxtbegränsade faktorn är fosfor. En kraftig algblomning ger en synergieffekt. När den stora biomassan dör och sjunker till botten ger nedbrytningen av den en anaerob miljö. Den anaeroba miljön på botten leder till att fosfor fastlagts till bl.a. järn friläggs och blir tillgängligt för cyanobakterier. Detta möjliggör ytterligare ökad tillväxt hos cyanobakterier (Blomqvist & Gunnars, 2007). Förmågan att binda luftburet kväve utnyttjas i jordbruket, främst i risodlingar. När odlingarna är översvämmade tillväxer cyanobakterier i vattnet och binder kväve som efter upptorkning av fälten tas upp av riset (Lee, 1999). Detta är ett enkelt sätt att få kväve till sin odling, och i många fattiga länder nödvändigt för livsmedelsproduktion.

Cyanobakterier är intressanta ur energiutvinning. Vid fotosyntesen spjälkas vatten upp i sina beståndsdelar, väte och syre. Normalt släpper inte cyanobakterien ifrån sig något väte, men på Uppsala Universitet har professor Peter Lindblad

lyckats genmodificera cyanobakterier att släppa ifrån sig den producerade vätgasen. Vätgas ger vid förbränning i princip endast vatten som restprodukt varför den är mycket intressant som ersättare för traditionella kolvätebränslen. Forskningsprojektet är relativt nytt, och verkningsgraden fortfarande låg (Eriksson, 2003). Inga försök med cyanobakterier som oljekälla har kommit till vår kännedom.

I dräneringsvatten från åkermark varierar halterna av olika näringsämnen beroende på en rad faktorer, såsom jordart, brukningsmetoder, gröda etc. (Myrbeck *et al.*, 2003). I kväverikt dräneringsvatten kommer förmodligen cyanobakterier att utkonkurreras av andra organismer. Dräneringsvatten från lerjordar har ofta en låg kvävehalt och en högre fosforhalt jämfört med jordar med grövre kornfraktioner (Myrbeck *et al.*, 2003). I sådant vatten kan cyanobakterien tillväxa och ta tillvara det fosfor som annars kan läcka ut i vattendragen. Biomassan kan ha en potential som gödningsmedel.

Cyanobakteriers förmåga att bilda toxiner kan göra dem mindre lämpliga i dräneringsvattendammar, särskilt om boskap hålls på platsen. Att boskap dör efter att ha druckit av sådant förgiftat vatten är mycket vanligt runt om i världen. Används dräneringsvattnet till bevattning riskerar man att dessa toxiner hamnar på grödan och sedan förgiftar konsumenten (Lee, 1999).

Kiselalger *Bacillario'phyta*

Gruppen kiselalger omfattar cirka 10 000 arter varav samtliga är eukaryota encelliga organismer, tillhörandes protistriket. Cellen omges av två skalhalvor som, likt en petriskål, omger cellen. Skalen består av kiselsyra vilket har givit algen dess namn (NE^2). Kloroplasterna innehåller en stor andel karotenoider som ger dem dess rödaktiga färg. Man finner dem särskilt i kalla vatten (Sadava *et al.* 2007). Olikt cyanobakterier är få arter av kiselalger giftiga, de sex kända arter som producerar gift är marina alger (Lindholm, 1998), vilket minskar risken med odling i dräneringsdammar. Fredin (2009), nämner kiselalger som de mest lovande ur energiutvinnings synpunkt.

Kiselalgen *Phaeodactylum tricornutum* anses intressant tack vare sin mixotrofa egenskap. Den kan alltså tillgodose sitt kolbehov inte enbart genom att fixera luftens koldioxid med hjälp av solljus, utan kan även ta upp kol från en organisk kolkälla löst i ett medium. Sett ur ett svenskt perspektiv skulle detta vara mycket fördelaktigt. Det är då möjligt att kompensera bristen på solljus under vissa årstider genom organisk koltillförsel. Vid biodieselframställning får man

restprodukten glycerol, som är en möjlig kolkälla samtidigt som man får ett mer slutet system (Fredin, 2009).

Grönalger *Chloro'phyta*

Grönalger är en stor grupp bestående av cirka 20 000 arter med stor artvariation, tillhörandes växtriket. De kan vara både en- och flercelliga. De har samma klorofyll och upplagring av stärkelse som landlevande växter och anses därför vara föregångare till dem. Det är dessa som orsakar problem hos akvarieägare (NE³). Enligt Lindholm, 2008, orsakar grönalger inga toxinrelaterade problem, varför de torde vara utmärkta att odla i anslutning till åkermark.

Grönalgen *Botryococcus braunii* producerar en biomassa med hög lipidhalt samtidigt som den har låga näringskrav. Den svarar mycket bra på en höjning av koldioxidhalten vilket gör den lämplig att odla för koldioxidrening av förbränningsgaser (Sydney *et al.*, 2010).

Chlorella sp. är likt kiselalgen *Phaeodactylum tricornutum* en mixotrof alg. Försök har visat att den tillväxer mycket bra med rötad kogödsel som näringskälla. I områden med hög djurtäthet skulle detta vara ett effektivt sätt att bli av med ett föroreningsproblem. På detta sätt utvinns energi i två steg, biogas från rötningen och olja från alger som konsumerat rötresten. (Wang *et al.*, 2009).

1.2 Alger som energigröda

Dagens fossila bränsle består av uråldriga alger, där oljan förfinats under årmiljonernas gång. Ur algerna kan en mängd produkter utvinnas. De lipidrika arterna används för att utvinna olja, som kan användas för att producera en råolja som i sin tur är basen för framställning av bensin, diesel, fotogen etc. Resterna kan utnyttjas för etanol eller biogasframställning, där de slutliga restprodukterna ger ett näringsrikt foder eller gödselmedel. Utöver detta har algerna potential som mineralrika livsmedel, där Japan förmodligen är föregångslandet.

Lipidproduktionen är komplex. Det intressanta är den totala volymen lipider producerade per tidsenhet, därför är man intresserad av både lipidhalten, som kan ligga runt 50 % ts (Lv *et al.*, 2010), och tillväxthastigheten. Dessvärre föreligger en negativ korrelation mellan dessa faktorer, högre tillväxt brukar innebära lägre lipidhalt och arter med hög halt växer dåligt (Lv *et al.*, 2010). Tillväxthastigheten beror av art men också på till exempel kvävetillförsel. Kvävegödsling ökar tillväxten, vilket innebär att lipidhalten kommer att sjunka med ökad dos kväve.

Lägst tillväxt innebär dock inte högst lipidhalt, då en viss tillväxt krävs även för att lipidproduktion och inlagring skall fungera. Då kvävebrist hämmar celledningen, stiger lipidhalten i cellerna, men för låg kvävehalt innebär sämre lipidansättning, detsamma gäller för koldioxidtillförsel. En högre koldioxidhalt effektiviserar fotosyntesen men tillväxtökningen kan alltså gå ut över lipidproduktionen. Är målet istället gasframställning så borde en ökad tillväxt vara enbart positiv. Ett sätt att mäta hur lipidproduktionen beror av olika tillväxtfaktorer är att mäta halten av klorofyll a, som är korrelerat med enzymhalter och redoxreaktioner, som påverkar syntesen av fettsyror och därigenom bildandet av lipider (Lv *et al.*, 2010).

1.3 Algodling

1.3.1 Öppna system

Idag sker odlingen av mikroalger enligt två system. Öppna system och bioreaktorer. De öppna systemen kan anläggas i naturliga sjöar och vattendrag men återfinns oftast som dammar. Djupet är 2-5 dm och man brukar koppla till omrörning för att kunna fördela den tillsatta näringen och algkulturen. Enligt den såkallade racerbanemetoden, roterar ett paddelhjul ett varv och detta varv motsvarar en tillväxtomgång. När hjulet kommit till ursprungsläget, sker skörd och nytt utsäde och näring tillförs (Brennan & Owende, 2010). För att förbättra luftväxlingen kan man dra ner pumpar i bassängen, som bubblar igenom luft. Om bassängen ligger i anslutning till ett kolkraftverk, bubblar man enkelt igenom koldioxidmättad luft (Sydney *et al.*, 2010). Ett problem med öppna system är att de är känsliga för sjukdomar och andra alger som kommer in (Chisti, 2007). För att endast utvalda arter skall klara sig brukar man odla i extrema miljöer, till exempel mycket hög salthalt. Det är dock svårt att få denna princip att fungera fullständigt i praktiken, då bakterier och andra mikroorganismer kan anpassa sig till extrema miljöer - jämför antibiotikaresistens. Dessutom begränsar detta artantalet man kan använda. Arterna med den snabbaste tillväxten eller högsta oljehalten kanske inte klarar av en extrem miljö.

1.3.2 Bioreaktorer

Bioreaktorer består av rör, plattor eller påsar, material är plast eller glas (Lehr & Posten 2009). Näring och luft (koldioxid) tillförs och ljuskällor kan vara såväl solen som lampor. Tillväxtprocessen är helt reglerad och man har möjlighet att använda ett renbestånd av alger som man ger rätt tillväxtförhållanden (Chisti, 2007). De vanligaste bioreaktorerna är byggda av rör. Rören bör ha en ganska liten diameter för att säkerställa att hela profilen får ljusinsläpp, 0,1 m nämns som gräns (Chisti, 2007). Det är mycket viktigt att luft pumpas genom rören för att tillgodose omrörning och gasutbyte, samtidigt som temperaturen hålls jämn. Syrekoncentrationen kan snabbt bli mycket hög i en sluten bioreaktor, ända upp till 10 gram O₂ per m³ och minut (Chisti, 2007). Därför måste syrgasen avskiljas (i form av gasbubblor) ur reaktorn, samtidigt som koldioxid tillförs. Avskiljningen sker i en särskild del av reaktorn och koldioxiden kan tillföras underifrån eller jämnt i röret, beroende på storlek och behov. Då algerna konsumerar koldioxid kommer vattnets pH att stiga vilket kan vara skadligt för algerna. Det är därför viktigt både för tillväxt och överlevnad att koldioxid tillförs. Den stora fördelen med bioreaktorer är att vattnet recirkuleras och inte avdunstar, samt att man har mycket större förutsättningar att styra processen och att arealskördarna är mycket större (Posten, 2009). De största problemen är att effektiviteten i odlingen är extremt låg jämfört med de teoretiska värdena (Posten, 2009), samt att anläggningarna är dyra. Biomassapriset blir för högt för att kunna konkurrera med fossila bränslen.

Världens största bioreaktor finns i Klötze, Tyskland och består av 500 km glasrör som är inbyggda i ett växthus som täcker 1,2 ha. Vattenvolymen är 600 m³ och produktionen är 100 ton biomassa per år (Posten, 2009). Solen är huvudljuskälla och effekten är cirka fem gånger större än med ett öppet system (Posten, 2009).

En del system består av plattor istället för rör. Plattorna sörjer för en stor genomsläpplighet av ljus och uppbyggnaden av syrenivåer är låg. Dock kan man få ökade problem med att algerna häftar sig fast på väggarna, då ytan är större (Xu *et al.*, 2009). Det finns också risk att lufttillförseln inte sker skonsamt och att reaktorn därför kan få kylningsproblem (Xu *et al.*, 2009). Detta kan förklara varför rörsystemen är helt dominerande trots att plattsystemen byggts sedan 1950-talet.

1.4 Ljusets betydelse för tillväxt

1.4.1 Ljusets betydelse för produktionen

Autotrofa alger förlitar sig liksom landväxter på fotosyntesen, som omvandlar solenergi till kemisk energi. Man mäter fotosyntesens effektivitet genom att jämföra hur mycket energi fotosyntatan innehåller jämfört med det infallande solljuset. Eftersom endast PAR (fotosyntetiskt aktivt ljus) kan användas, innebär det att 42,3 % av solljusenergin kan användas för energiproduktion. För att producera 1 mol kolhydrat krävs 8 fotoner. Då kolhydrat innehåller 467 kJ och fotonerna 1744, ger detta en effektivitet i fotosyntesen på 27 % men bara 42,3 % av ljuset kan användas vilket sänker effektiviteten till 11,3 % (Brennan & Owende, 2010). Dock sker en mängd energiförluster, som fotoinhibering, fotorespiration och ljusbrist, vilket ger landväxter en slutgiltig effektivitet på 1-2%. Alger visar värden från 2-20 %, beroende på deras enkla uppbyggnad (Brennan & Owende, 2010). Den höga effektiviteten är viktigt för att få snabb tillväxt.

De algarer som tillhör den fotoautotrofa gruppen, använder helt eller delvis solljuset som energikälla. Vid för höga ljusflöden finns risk för fotoinhibition som då skadar det centrala proteinet i fotosystem II och därmed gör att optimal tillväxtkapacitet inte kan bibehållas. Skyddsmekanismen mot detta kallas fluorescens och innebär att överskottsenergin avges som mörkrött ljus. Denna energikostsamma process skyddar växten, men om växten utsätts för alltför kraftigt ljus bildas syreradikaler och fotosystemen förstörs (Taiz & Zeiger, 2006). Av denna anledning kommer alger inte att växa mer bara för att de får tillgång till mer ljus, vilket också förklaras av att flertalet arter är anpassade till att leva i miljöer med låga ljusintensiteter med bara är en bråkdel av fullt dagsljus, även i regioner nära ekvatorn (Posten, 2009).

På grund av risken för fotoinhiberingen måste algerna odlas under optimala förhållanden för att undvika för höga ljusnivåer, men detta kan minimeras om man använder rätt sorts belysning. Laboratorieförsök har visat att största biomassatillväxt för *Euglena gracilis* erhöles vid en ljusnivå på 100 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \text{ s}$ (Kitaya *et al.*, 2005). Nivåer över eller under detta ledde till att biomassan minskade. För en europeisk sommar motsvarar 100 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \text{ s}$, 10 % av det fulla dagsljuset (Posten, 2009).

Vertikala konstruktioner kan därför dra fördelar av att det infallande ljuset avtar per ytenhet, denna konstruktion minskar risken för fotoinhibering eftersom ljusintensiteten blir lägre (Posten, 2009). Vid odling av alger i stora slutna

anläggningar är det bara en fördel att ljuset sprids över en större yta och därmed blir svagare, detta eftersom algerna enbart kan tillgodogöra sig 5 % av solens fulla spektrum som når jordytan (Posten, 2009).

Problem med för lite ljus kan uppstå om konstruktionen är byggd i större skala utan tanke på ljus- och mörkercyklerna, som uppstår när algerna passerar mellan utkanten och centrum på bioreaktorn. Algerna som befinner sig närmast reaktorväggarna får ett optimalt ljusflöde men allteftersom algerna förbrukar ljuset i fotosyntesen, avtar ljusintensiteten varpå det blir för mörkt för de inre algerna att tillväxa. Detta kan antingen undvikas genom att konstruera bioreaktorn på så sätt att det inte uppstår några mörka områden (Watanabe *et al.*, 1995) men även omblandningen spelar en viktig roll för algernas tillväxt. Om algerna har en långsam förflyttning, längre än en sekund, mellan mörka och ljusa områden, leder detta till en minskad tillväxt (Merchuk *et al.*, 2007). Detta kan vara orsaken till en låg skörd i stora reaktorer och öppna system där ljus- och mörkercyklerna är längre än en sekund (Posten, 2009).

1.4.2 Tillskottsbelysning

Vid odlingen av algerna användes lampor av metallhalogentyp som tillskottsbelysning. En metallhalogenlampa är en gasurladdningslampa och fungerar genom att argon och kvicksilver i gasform leder ström inuti lampan som då bildar en ljusbåge. Metallhalogenlampor har en relativt hög verkningsgrad trots att mycket av energin går till värmeutveckling. De har ett brett ljusspektrum, den lampa som används hade en färgåtergivning (Ra) på 90, vilket är fördelaktigt för växterna. Ra-värdet beskriver hur nära solens ljus spektret ligger, solen har värdet 100.

Lampans effektivitet inom PAR är upp till omkring 50 % av märkeffekten. Detta gör att spektret inte utnyttjas till fullo av växten och därigenom blir verkningsgraden för lampan lägre. Detta gör att dessa lampor inte är ett direkt alternativ för användning i kommersiell odling av alger. Man bör eftersträva att använda minsta möjliga tillskottsenergi, både ur ekonomisk och ur energiförbrukningssynpunkt.

1.4.3 Alternativa ljuskällor

I framtiden kan man tänka sig att nya energisnålare ljuskällor kan användas och på så sätt utöka den totala skörden i kommersiella algodlingar. I dagens läge är lysdioder (LED) ett tänkbart alternativ för detta ändamål eftersom de genererar

mycket mindre värme än exempelvis metallhalogenlampor. Detta blir en fördel, vad gäller effektiviteten i omvandlingen från el till ljus. Den låga värmeutvecklingen gör också att mediet inte får en oönskad temperaturhöjning (Schüssler & Bergstand, 2009).

2 Syfte och frågeställningar

Arbetet gick ut på att undersöka huruvida det är möjligt att, för laboratoriebruk, konstruera en fotobioreaktor för odling av algekulturer. För att pröva funktionen hos reaktorn valde vi att studera algernas tillväxtförmåga i olika näringskoncentrationer. Vi ville studera algernas förmåga att växa i dräneringsvatten, dessutom undersöka omständigheterna för maximal tillväxt. Hypotesen var att dräneringsvatten skulle vara lämpligt att odla alger i. Anledningen till vårt intresse för dräneringsvatten är att med dagens täckdikningssystem skulle det vara möjligt att samla upp vattnet i en damm eller bioreaktor och odla alger. Då dräneringsvattnet kommer direkt från jordbruksmarken var tanken att vi här borde hitta de högsta näringskoncentrationerna.

Vår undersökning gällande tillväxtmaximering gick ut på att testa om algerna svarar bäst på fortgående näringstillförsel med lägre startgiva eller om de reagerar gynnsamt med en hög startgiva.

3 Material och metod

3.1 Tillväxtmedium

Syntetiskt dräneringsvatten tillverkades genom att tillsätta Blomstra (för näringsinnehåll, se tabell 2) till vanligt kranvatten för att renodla effekten av näringsnivåer. I tabell 2 redovisas sammansättningen av använd näringslösning.

Tabell 2. Näringsammansättning i Blomstra (enl. tillverkaren)

Ämne	Innehåll (g/liter)
N	51
Ca	3
P	10
Mg	4
K	43
Na	-
S	4
Mn	0,2
Fe	0,17
Cu	0,015
Zn	0,03
B	0,1
Mo	0,004

(Fritt efter tillverkaren Cederroth International AB)

Det är olämpligt att använda naturligt dräneringsvatten som medium eftersom det innehåller för många olika faktorer för att kunna dra några välgrundade slutsatser (pers. kom. Abraham Joel). Dock valde vi att köra ett led med naturligt dräneringsvatten för att undersöka om det innehöll några algarter som var lämpliga

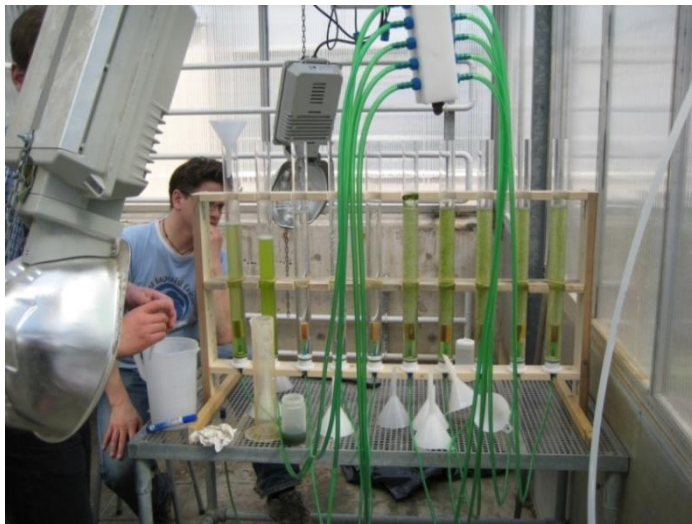
i vårt experiment. Detta vatten insamlades från en styv lera, närmare bestämt på Säby, Uppsala.

Efterhand har vi också höjt koncentrationerna långt över normala värden i dräneringsvatten. Vår klasskamrat Maria Schück hade ett pågående krukväxtförsök där försöket blivit kontaminerat av alger. Vi uppskattade att det rörde sig om mikroalger och samlade därför upp en tillräcklig mängd av dessa att ha som ”utsäde”. ”Arten” kallar vi för *Schück* sp. Näring tillsattes enligt tabell 3.

Tabell 3. Tillförd näring enligt datum och totalt (gram) (*försöket startades 11/5)

Led	4/5	11/5	13/5	14/5	15/5	16/5	22/5	Total
1	0,204	-	-	0,017	-	0,204	-	0,425
2	0,102	0,017	-	0,017	0,017	0,102	-	0,254
3	0,051	-	-	-	0,017	0,051	-	0,119
4	0,017	0,017	0,017	0,017	0,017	0,017	0,017	0,118
5	-	-	-	-	-	-	-	0,000
6		0,017*	-	-	0,017	0,017	0,017	0,067
7		0,013*	-	-	-	0,013	-	0,026
8		0,013*	-	-	-	0,013	-	0,026
9		0,010*	-	-	-	0,010	-	0,020
10		0,010*	-	-	-	0,010	-	0,020

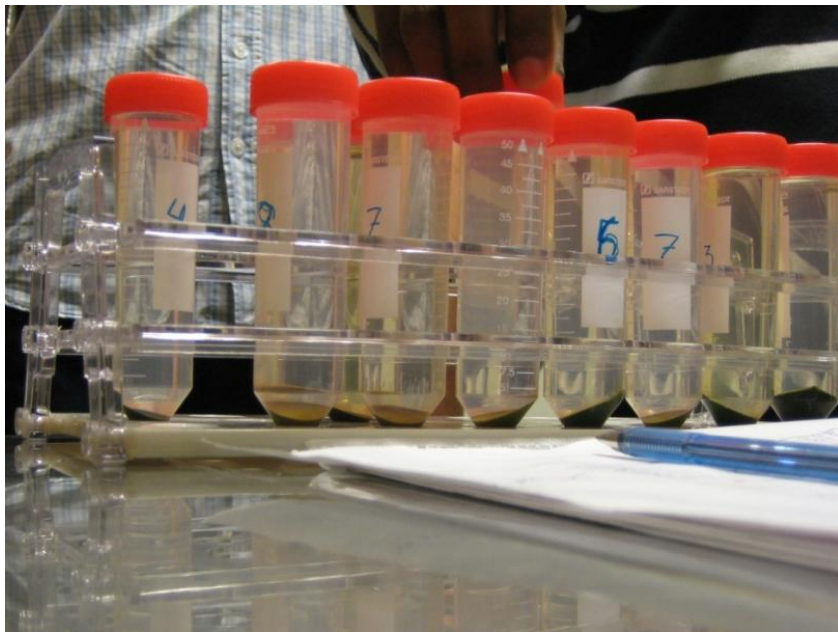
I figur 1, 2 och 3 presenteras arbete med försöket, som följs av en beskrivning av tillvägagångssättet i dagboksform.



Figur 1. Bioreaktorn startas upp, här användes syrestenar i sandelträ som senare byttes ut mot syrestenar i stenmaterial.



Figur 2. När tillväxten ökade syntes en tydlig skillnad mellan leden med olika koncentration av växtnäring, det ljusa röret i mitten innehöll enbart dräneringsvatten från Säby.



Figur 3. Efter centrifugering hade algerna helt sedimenterat och separationen av vattnet underlättades.

3.2 Fotobioreaktor

Planerna till vår bioreaktor för alger grundar sig på bygganvisningarna på en försöksbioreaktor från Sieg *et al.* (2009), men den slutgiltiga versionen såg dock betydligt annorlunda ut.

Rören vi använde oss var tillverkade i plexiglas och hade en diameter på 36/40 mm och var cirka 670 mm höga. Rören placerades på rad i en träställning. Arbetsvolymen för mediet sattes till 400 ml för att det skulle finnas en viss säkerhetsmån, då skumbildningen medförde att mediet svämmade över, något vi uppmärksammat vid provkörningarna.

Vid planeringen av vår bioreaktor anpassades den för användning i ett växthus med redan befintlig växthusbelysning. Därför frångicks förlagans ursprungliga cirkulära konstruktion till fördel för en konstruktion där tio rör placerades i rad. Denna placering av rören valdes då det underlättar för ett jämt flöde med tillskotts belysning när den befintliga växthusbelysningen används. Två metallhalogenlampor på vardera 400 W placerades vertikalt på varsin sida om bioreaktorn för att optimera användandet av ljuset. Lamporna ställdes in för att lysa 12 timmar per dag med hjälp av ett datorprogram, men de kalibrerades för att enbart lysa när solstrålningen låg under 300 W/m^2 . För en illustration av lampornas placering, se figur 3, bilaga 10.1. Detta ändrades dock till 500 W/m^2 efter en tid för att öka på ljusflödet till algerna och på så sätt förhoppningsvis ge ett mer optimalt ljusflöde, trots att ljusintensiteten då troligen ligger över teoretiskt optimum. Ställt i relation till intensiteten på solen, så är fullt dagsljus på sommaren i Sverige upp emot 1100 W/m^2 .

För att tillgodose vår reaktor med luft, använde vi en elektrisk luftpump som källa. Till varje rör drogs slang och alla slangarna sammankopplades i ett kopplingsstycke, varifrån en slang gick till en tryckregulator som var sammankopplad med luftpumpen. I botten på rören sattes en plugg med en slangnippel, förbunden med en syresten, för att få luften att bubbla genom röret.

Syrestenarna som användes i vår bioreaktor var tillverkade av sandelträ som enligt försäljaren skulle ge mindre bubblor än syrestenar som var tillverkade i syntetmaterial. Dessa gav överlag fina bubblor, men när tio stenar användes tillsammans med en tryckregulator blev flödena synbart varierande och bubblingen avstannade flera gånger fast trycket var det samma.

Efter första körningen med bioreaktorn byttes syrestenarna i trä ut mot syrestenar i syntetmaterial. Detta resulterade i ett jämnare flöde av luft, men även

att syrestenarna i det nya materialet inte sattes igen lika lätt därför inte slutade bubbla lika fort.

3.2.1 Skörd av alger

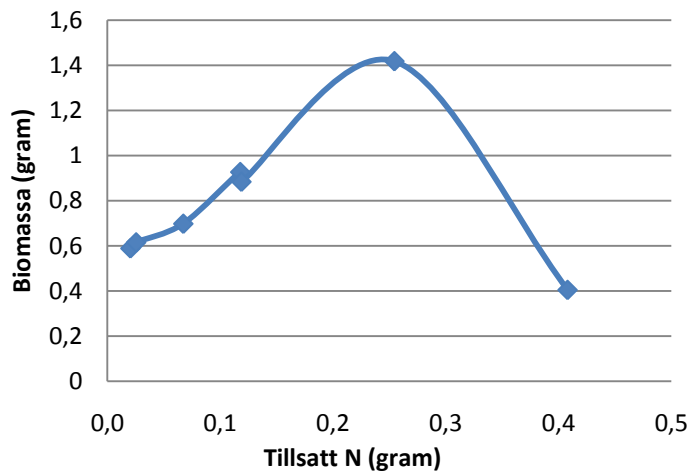
Efter 20 dagar skördades algerna. Genom att stänga av luftpumpen tilläts algerna sedimentera för att underlätta avskiljningen av alger från vätskefasen. Den koncentrerade algsuspensionen centrifugerades i 10 minuter med 4300 varv/minut. En tydlig ansamling av alger i botten av centrifugeringsrören, samt en klar vätskefas, medförde att i princip all vätska kunde hällas av. Ansamlingen av algerna i botten av rören visas i figur 5, bilaga 10.2. Proven torkades i två dygn (40 grader dygn 1, 50 grader dygn 2) varpå algerna vägdes in med en noggrannhet på 3 decimaler.

4 Resultat

Fotobioreaktorns funktion var tillfredställande, vilket visar att det är fullt möjligt att med relativt enkla medel konstruera en sådan. Den högsta skörden uppnåddes vid näst högst näringstillförsel. Totalskörden i detta led låg på 1,4 g, vilket gav ett genomsnitt på 0,18 gram biomassa per liter och dag, räknat på 20 dagar. Ledet med högst näringstillförsel hade lägst tillväxt, 0,4 gram. Ledet med dräneringsvatten avkastade ingenting under hela försökstiden. I tabell 4 visas kväveeffektiviteten uttryckt i tillsatt kväve dividerat på skörden alger.

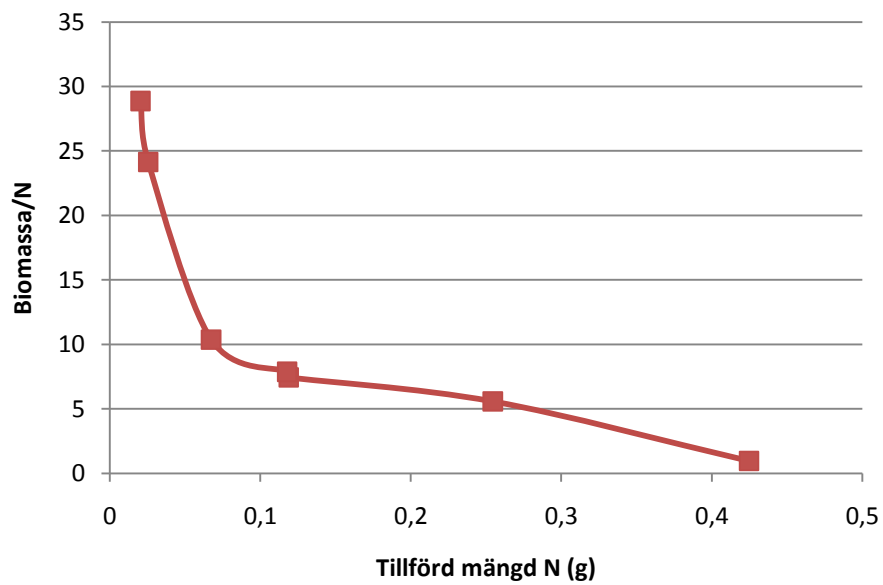
För att testa fler alger samlade vi också upp alger ur Mälaren, men dessa tillväxte inte alls i bioreaktorn varför dessa led kasserades.

I figur 4 redovisas hur tillväxten har svarat på kvävetillförseln. I figuren ser man tydligt vid vilken giva vi har uppnått maximal tillväxt samt hur för hög tillförsel reducerar tillväxten.



Figur 4. Skördad biomassa i relation till total tillförd mängd kväve.

I figur 5 visas kväveutnyttjandet vid olika näringskoncentrationer. Led med en hög skörd/N kvot utnyttjar kvävet bäst.



Figur 5. Visar effektiviteten i kväveutnyttjandet.

Jämför man figur 4 med figur 5 ser man att det led med högst kväveutnyttjandegrad har väldigt låg skörd.

5 Diskussion

Vår största skörd som låg på 1,4 g (rör 2) kan tyckas löjligt liten men om man betänker mängden tillsatt algkultur samt växtperioden blir skörden relativt sett mycket hög. Rör två visade ett genomsnitt på 0,18 gram i tillväxt per liter och dag, utslaget på 20 dagar. Men då det mesta av tillväxten observerades under ett dygn, är det rimligt att anta att tillväxten momentant visar betydligt högre siffror. Kommersiella anläggningar med olika sorters bioreaktorer och olika algarter visar på siffror från 0,05 till 50 gram per liter och dag (Brennan & Owende, 2010).

Resultatet visar på en stor tillväxtpotential men kväveutnyttjandet är också intressant. I tabell 5 jämförs kväveutnyttjandet hos rör 2 (med högst tillväxt), rör 10 (högst kväveutnyttjande) med en spannmålsodling som gödslats med 160 kg N och avkastar 8500 kg.

Tabell 4. Kvoten mellan kvävetillförsel och skörd

Rör	N/Skörd	Höstvete
2	0,179	0,019
10	0,028	0,019

Våra resultat visar på den stora potentialen vad gäller odlingen, men också på svårigheten att få produktionen att fungera hela vägen. Resultaten tyder på en tydlig respons i tillväxt kopplad till olika kvävenivåer. Den omgång med högst kvävegiva har förmodligen utsatts för osmotisk stress (då vi tillsatte en hög startgiva) varför tillväxten har blivit sämre. I omgången med dräneringsvatten har ingen tillväxt observerats, förmodligen har vattnet varit tämligen näringsfattigt, beroende på att det var en lerjord. Alger som växer naturligt, växer i en dynamisk vattenmiljö där vattnet ofta är i omrörning. Vid en dräneringsdamm kan detta innebära att ny näring hela tiden tillförs, varför vårt försök med dräneringsvatten

inte återspeglar verkligheten till fullo. Trots detta kan slutsatsen dras att lerjordars kvävefattiga dräneringsvatten inte tillgodoser algernas näringsbehov. Att rena detta dräneringsvatten från kväve med hjälp av alger kan därmed anses onödigt. En undersökning med dräneringsvatten från en lätt jord hade varit intressant, eftersom kvävehalten i dräneringsvattnet vanligtvis är mycket högre.

I en fotobioreaktor styr man ett flertal processer själv och det är därför också många olika parametrar man måste hålla reda på och experimentera med. Det finns egentligen hur många olika kombinationer som helst.

5.1 Förbättringar och synpunkter

Vår fotobioreaktor är byggd med enkla medel och utan beprövade förlagor, vilket ibland slog igenom på ett negativt sätt.

Problemen med jämn bubbling har beskrivits i material och metodavsnittet. Eftersom näringskoncentrationerna var olika i rören återspeglades detta i tillväxten, vilket resulterade i olika tryckmotstånd mellan rören. I de rör med mycket biomassa krävdes ett högre tryck för att upprätthålla en bra bubbling. Bubblingen ville vi ha för att få luften att fördela sig jämnt i röret och på så sätt tillföra koldioxid till hela algprofilen samt bubbla bort överskottssyre. Bubblingen ger också en omrörningseffekt vilket är viktigt för att inte algerna skall fastna på ytor och sedimentera och för att näringen skall fördelas i hela mediet. Vår reaktor hade en gemensam tryckregulator för alla rör, vilket försvårade individuell reglering för varje rör. Om vi hade beställt två pluggar till varje rör hade det varit möjligt att sätta en kran i toppen för att reglera tryckmotståndet. Det är en enkel och marginellt dyrare lösning som hade fungerat bra.

Ett problem med luftpumpen var kondensbildning i matarslangen som utan tömning flera gånger resulterade i att luftflödet till syrestenarna avstannade och därmed även bubblingen. Detta löstes genom att koppla bort slangen och tömma den, vilket dock gav ett momentant bortfall av lufttryck ur systemet. Uppgiften var dessutom förenad med stort obehag ty slangen var försatt under tryck och vid slangens avlägsnande uppstod en vattenkaskad som effektivt blötte ned utövaren.

Syrestenarna var placerade cirka 6 cm upp i röret, varpå algerna visade sig benägna till att sedimentera under stenarna. En så låg placering som möjligt av stenarna gör att luftströmmen genomströmmar hela cylindervolymen och motverkar därmed sedimentation av algerna. Vi löste problemet genom att dagligen vända på rören och på så vis suspendera algerna, en arbetskrävande metod som medförde ständig passning och till följd därav mycket onödig arbetstid.

En möjlighet till förändring av syrestenarnas placering är att antingen föra ner syrestenen från ovasidan av röret. En annan möjlighet är att använda en syresten som är lika stor som rörets invändiga diameter och på så sätt minimera antalet alger som ansamlas under syrestenen.

När luftpumpen stängdes av rann alger och vatten tillbaka i luftslangarna och försvårade omstart av pumpen. Luftrycket fick ställas upp på max för att pumpen skulle förmå trycka tillbaka vätskan in i rören. Initialt använde vi backventiler eftersom vi före försökets start insåg problemet. Backventilerna höll tyvärr en låg kvalitet och krävde olika luftryck för att fungera. Man bör därför införskaffa backventiler av ett välkänt märke som öppnar vid samma tryck. Vår lösning var att placera slangarna så de bildade ett vattenlås för att undvika att vatten rann in och skadade pumpen. Problemen vid omstart av pumpen kvarstod dock.

När vi letade information innan arbetet startade fick vi intrycket av att det skulle gå snabbt och enkelt att få tag på renodlade algkulturer. Så var inte fallet. När högskolor och universitet kontaktades kunde de inte hjälpa oss. Ofta var det fel algararter men även pris och leveranstider gjorde det omöjligt att införskaffa alger. Firmor i USA har ett stort utbud men detta sågs inte som ett rimligt alternativ, både ur kostnads- tids- och tillståndssynpunkt. Man får inte släppa ut främmande arter i naturen, och om vi hade använt en sådan art hade vi fått vidta extra försiktighetsåtgärder. Problemen att få fram alger var en viktig lärdom för oss och vi kan starkt rekommendera andra som funderar på ett liknande projekt att skaffa alger först av allt.

Avsaknaden av renodlade algkulturer tvingade oss att själva uppbringa lämpligt material. Vi samlade in ett par arter som inte ville växa och förlorade på så sätt viktig inkörningstid för reaktorn, dock var det naturligtvis intressant att se algernas naturliga habitat.

Då vi väl hittat en kultur som ville växa, drog tillväxtstarten ut på tiden, varför vi inte hann starta så många led som vi hoppats på. Man bör i liknande försök försäkra sig om att tiden inte är alltför begränsad.

6 Framtida möjligheter

Alger som energikälla har stor utvecklingspotential och ett intressant användningsområde är algodlingen kombinerat med ett förbränningskraftverk. Kraftverket producerar koldioxid och andra föreningar som kan ledas ner i bioreaktorn och därigenom öka algproduktionen. Algbiomassan kan senare användas i förbränningsanläggningen och syret som algerna producerar kan användas för att effektivisera förbränningen. Det har gått åt mycket energi att samla ihop koldioxiden och koncentrera den i skorstenen från kraftverket, en sådan koncentrationsökning innebär en energipotential, som absolut bör utnyttjas. En kraftverkslösning där biomassan direkt eldas upp är energieffektiv, då man inte måste lägga energi på att utvinna olika produkter, men däremot går det åt energi i att bli av med vattnet ur biomassan här skulle kanske solfångare kunna ha en roll, om värmeenergin kan utnyttjas direkt, utan omvägen via elektricitet.

Ett annat användningsområde för en större algodling är att kombinera den med reningsverk. Här kommer en mixotrof alg speciellt väl till pass, då algen kan utnyttja kolkällan i fekalier om solljuset skulle vara för dåligt. Algerna skulle utnyttja näringen och sönderdela många skadliga organiska föreningar i avloppsslammet, vilket skulle öka resternas användbarhet som jordbruksgödsel.

En tanke är att varje gård skall kunna ha sin egen anläggning, där odlingen kombineras med täckdikningssystemet. På detta sätt recirkuleras gårdens näringsämnen och man får möjlighet att producera sin egen eldningsolja. Till skillnad från till exempel en privatperson med villa, finns stora investeringsmöjligheter i jordbruket. Alganläggningen innebär en investeringskostnad, som för alla andra maskiner och byggnader på gården, men stort utrymme finns för egna idéer och eget utförande. Lantbrukarna är ofta intresserade och tekniskt kunniga, vilket förenklar uppgiften. Detta kombinerat med dagens lönsamhetsmässigt mycket pressade jordbruk och osäkerheten i både pris och tillgänglighet på energi gör att energilösningar är högtintressanta för

jordbruket. Förutom möjligheten att göra sin egen energiekonomi säkrare kan odlingen innebära en helt ny produktionsgren för lantbrukarna, där svenskt jordbruk börjar producera energi. På detta sätt skulle en mängd småproducenter växa upp, vilket ger en ny näring. Oljeraffinaderierna kommer att stanna kvar, men leveransen av råolja kommer att se helt annorlunda ut.

Ur näringsåterförselsynvinkel är algodling i havet intressant. Den naturliga utlakningen gör att näring förflyttas från land till hav, där det så småningom lagras i sediment, som om ett par miljoner år kan brytas. Det är vid de kustnära områdena som algbloomningen återfinns. Där finns näringen i tillräcklig koncentration och vattnet har en högre temperatur än ute till havs, eftersom botten är närmare och därmed vattenvolymen mindre att värma upp. Om dessa alger kan bärgas, eller om man bedriver en aktiv odling i den gynnsamma miljön skulle det vara ett tillskott till energiproduktionen, samtidigt som näringen återförs jordbruket och havet avlastas från eutrofiering.

Att i undervisningssyfte använda en enkel bioreaktor är ett utmärkt sätt att introducera en nyfikenhet och ett tänkande redan i gymnasiet. Det är ett mycket illustrativt och snabbt sätt att visa hur olika näringskoncentrationer påverkar tillväxt.

7 Tillkännagivanden

Under tiden vi har arbetat med kandidatarbetet har vi varit i kontakt med ett flertal professorer, forskare och andra personer som varit intresserade av vårt experiment och kommit med tips och idéer.

Tack till vår handledare, Göran Bergkvist vid institutionen för växtproduktionsekologi.

Vi vill tacka Carl Åkerberg vid institutionen för växtproduktionsekologi, för diverse praktisk hjälp.

Ett tack till Shakawat Hossain som handledde oss vid centrifugen.

Vi vill även tacka Jan-Olof Pettersson som upplät sin verkstadslokal för byggnationen av fotobioreaktorn.

Vi vill särskilt tacka Tony Fagerberg, doktorand vid Lunds universitet. Tony Fagerberg bedriver själv forskning inom algområdet varför hans intresse och synpunkter har därför varit särskilt värdefulla.

8 Litteraturlista

- Björkman, O. & Demmig-Adams, B. (1994). *Regulation of photosynthetic light energy capture, conversion, and dissipation in leaves of higher plants*. Ecophysiology of photosynthesis, (ed. Schulze, E.-D. & Caldwell, M. M.), 17-47. Berlin: Springer-Verlag.
- Blomqvist, S. Gunnars, A. (2007). *Mycket fosfor i östersjön ger blomning av cyanobakterier*. Skrift producerad av Umeå marina forskningscentrum. Umeå Print & Media. Umeå.
- Brennan, L. & Owende, P. (2010). *Biofuels from microalgae – A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products*. Bioresource technology 14: 557-577
- Chisti, Y. (2007). *Biodiesel from microalgae*. Biotechnology Advances 25: 294-306
- Eriksson, L. (2003) Ny Teknik Tidskrift Publicerad på internet 4/6 2003
http://www.nyteknik.se/nyheter/innovation/forskning_utveckling/article25866.ece
- Fredin, M. *Alger som energikälla – en svensk möjlighet?* (2009). Examensarbete Tekniska Högskolan i Jönköping
- Lee, R. (2009). *Phycology*. Cambridge University Press. Cambridge.
- Lehr, F. & Posten, C. (2009). *Closed photobioreactors as tools for biofuel production*. Current opinion in Biotechnology. 20: 280-285
- Lindholm, T. (1998). *Algfenomen och algproblem*. Åbo akademi. Åbo
- Lv, J. Cheng, L. Xu, X. Zhang, L. Chen, H. (2010). *Enhanced lipid production of Chlorella vulgaris by adjustment of cultivation conditions*. Bioresource technology. Ej tryckt. Tillgänglig 2010-06-03: http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6V24-4YXKFM8-2&_user=651610&_coverDate=09%2F30%2F2010&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=search&_sort=d&_docancor=&view=c&_acct=C000035238&_version=1&_urlVersion=0&_userid=651610&md5=ff76e843f689124269777b165f218e7f

- Kitaya, Y. Azuma, H. Kiyota, M. (2005). *Effects of temperature, CO₂/O₂ concentrations and light intensity on cellular multiplication of microalgae, Euglena gracilis*. *Advances in Space Research* 35: 1584–1588
- Merchuka, J. Rosenblata, Y. Berzinb, I. (2007). *Fluid flow and mass transfer in a counter-current gas–liquid inclined tubes photobioreactor*. *Chemical Engineering Science* 62: 7414-7425
- Myrbeck, Å. Arvidsson, J. och Keller, T. (2003). *Plöjningstidpunktens inverkan på markstruktur, växtproduktion och kväveutlakning på lerjord. Slutrapport från försök 1999-2002*. Rapport nr. 105. Avd. för jordbearbetning, SLU, Uppsala.
- Nationalencyklopedin 1 Cyanobakterier Tillgänglig 2010-05-28
url: <http://www.ne.se/lang/cyanobakterier>
- Nationalencyklopedin 2 Kiselalger Tillgänglig 2010-05-28
url: <http://www.ne.se/lang/kiselalger>
- Nationalencyklopedin 3 Grönalger Tillgänglig 2010-05-28
url: <http://www.ne.se/lang/gr%C3%B6nalger>
- Posten, C. (2009). *Design principles of photobioreactors for cultivation of microalgae*. *English life science*. 9: 165-177
- Sadava, D. Heller, C. Purves, William. (2006). *Life: The Science of biology. Volym 2: Evolution, Diversity and ecology*. WH Freeman & Company.
- Schüssler, H. Bergstrand, K. (2009). *Lysdioder-framtidens växthusbelysning? Fakta från Tillväxt Trädgård nr 7 2009* Tillgänglig 2010-06-03: http://pub-epsilon.slu.se:8080/1010/01/schussler_et_al_090930.pdf
- Sieg, D. Hendee, P. Bankston, H. (2009) *Making algae photobioreactors at home*. Tillgänglig 2010-06-03: <http://www.world-of-algae.com/PBR-FREE.html>
- Sydney, E. Sturm, W. de Carvalho, J. Thomaz-Soccol, V. Larroche, C. Pandey, A. Soccol C. (2010). *Potential carbon dioxide fixation by industrially important microalgae*. *Bioresource Technology* 101: 5892-5896
- Taiz, L. Zeiger, E. (2006). *Plant physiology 4:e uppl.* Sunderland
- Wahal, S. Viamajala, S. (2009). *Maximizing algal growth in batch reactors using sequential change in light intensity*. *Applied Biochemistry*. 161: 511-522.
- Wang, L. Li, Y. Chen, P. Min, M. Chen, Y. Zhu, J. Ruan, R. (2009). *Anaerobic digested dairy manure as a nutrient supplement for cultivation of oil-rich green microalgae Chlorella sp.* *Bioresource Technology* 101: 2623-2628

Watanabe, Y. de la Noüe, J. Hall, D. (1995). *Photosynthetic Performance of a Helical Tubular Photobioreactor Incorporating the Cyanobacterium Spirulina platensis*. *Biotechnology and Bioengineering* 47: 261-269

Xu, L. Weathers, P. Xiong, X. Liu, C. (2009). *Microalgal bioreactors: Challenges and opportunities*. *English Life Science* 9: 178-189