



Produksi Mikroalga Berbiomasa Tinggi dalam Bioreaktor Open Pond

Hadiyanto*, Istiyanto Samidjan**, Andri Cahyo Kumoro* dan Silviana*

*Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik Universitas Diponegoro Semarang
Jl. Prof sudharto,SH-Tembalang, Semarang 50239. Telp/Fax: +62-24-7460058; Email:
h.hadiyanto@undip.ac.id

** Jurusan Perikanan, Fakultas Ilmu Perikanan dan Kelautan, Universitas Diponegoro Semarang.

Abstrak

In 2025, it has been estimated that due to lack of fossil oil as the main energy sources will significantly affect to Indonesia's energy crisis. Therefore, the attempts to search new alternative of energy source are highly important. The biodiesel from current sources (Jatropha, palm oil, and soy) are not yet able to cover all the needs if the fossil oil can not be explored anymore. In this research, the use of microalgae was proposed as the new potential of energy (biodiesel) sources. The current problem of large scale cultivation is low yield of biomass due to no optimality in the bioreactor design and operation. This research aims to design an efficient bioreactor, cheap and able to produce high cell density algae culture. For this purpose, an open pond type of bioreactor was selected and by facilitating Computational Fluid Dynamic (CFD) the hydrodynamic properties of this bioreactor can be evaluated. The evaluations were performed for length (L) and width (W) ratio, power consumption, and dead zones in the bioreactor under turbulent flow simulation. The result showed that L/W ratio more than 10 is optimal for open pond bioreactor. Moreover, this research also showed that at Rembang and Jepara coasts, we can isolated the strain which have high potential for biodiesel sources (oil content:20-30%)

Keywords: Microalgae, Chlorella, CFD, Open pond

1. Latar Belakang

Dewasa ini usaha dan penelitian di bidang eksplorasi energi alternatif mengalami peningkatan secara berarti. Biodiesel merupakan sumber energi alternatif yang diperoleh dari minyak nabati, misalnya minyak sawit, minyak jagung, dan minyak jatropha ataupun minyak hewani yang digunakan sebagai pengganti minyak fosil. Meskipun metodologi pembuatan biodiesel sendiri telah ada sejak 50 tahun lalu, akan tetapi eksplorasi penggunaan mikroalga sebagai sumber biodiesel masih belum optimal dilakukan. Dengan kandungan minyak lebih dari 30% (Chisti,2007), mikroalga juga sangat berpotensi untuk digunakan sebagai sumber energi alternatif biodiesel dan berdasarkan penelitian sebelumnya mikroalga mempunyai produktivitas 200 kali lebih banyak dibandingkan sumber nabati lainnya seperti ditunjukkan pada Gambar 1 (Chisti, 2007).

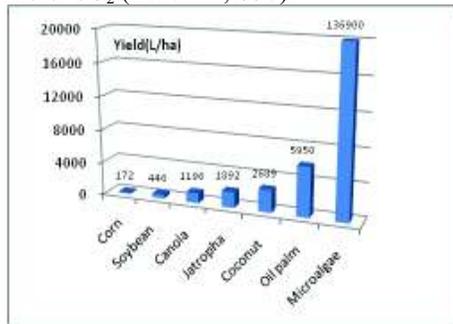
Berdasarkan perhitungan, pengolahan mikroalga pada lahan seluas 4.5 juta hektar mampu menghasilkan biodiesel yang akan dapat mengganti seluruh kebutuhan solar di Amerika Serikat (Oilgae.com, 26/12/2006). Lebih lanjut, luas lahan ini

hanya 1% dari total lahan yang sekarang digunakan untuk lahan pertanian dan padang rumput (sekitar 0.5 miliar ha). Semua jenis alga memiliki komposisi kimia sel yang terdiri dari protein, karbohidrat, lemak (*fatty acids*) dan *nucleic acids* yang persentasenya bervariasi jenis alganya. Dari komponen *fatty acids* inilah yang akan diekstraksi dan diubah menjadi biodiesel. Persoalan yang dihadapi saat ini dalam pembuatan biodiesel dari mikroalga yaitu belum optimalnya biomasa dengan konsentrasi yang tinggi. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan suatu metode kultivasi mikroalga dalam suatu bioreaktor yang murah dan efisien dan dapat menghasilkan mikroalga dengan kadar biomasa tinggi.

2. Mikroalga

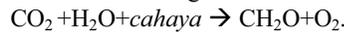
Mikroalga merupakan mikroorganisme(ukuran 1-100 μm) fotosintetik yang berpotensi digunakan untuk produk *fine chemicals* (Borowitzka,1999), unsur tambahan makanan untuk manusia dan hewan (Dallaire et al,2007), sistem immobilisasi pembentukan senyawa ekstraselular (Chetsummon et al,1994), untuk

biosorpsi logam berat (Wilde and Benemann,1993), dan fiksasi CO₂ (Beneman,1997).

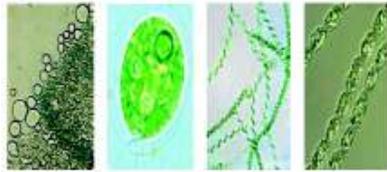


Gambar 1. Produktivitas Mikroalga dibandingkan dengan minyak nabati lainnya.

Mikroalga menggunakan cahaya untuk memetabolise CO₂ menjadi biomasa- CH₂O dengan bantuan sinar dan air sesuai dengan reaksi berikut:



Reaksi tersebut disebut proses fotosintetik dimana oksigen juga di hasilkan sebagai hasil samping. Cahaya yang digunakan untuk proses fotosintetik dapat berupa cahaya sintetik ataupun cahaya matahari yang sampai ke permukaan bumi sekitar 1500-2500 W/m².



Gambar 2. Bentuk Sel dari berbagai jenis mikroalga

Mikroalga mengandung banyak senyawa yang sangat potensial untuk dijadikan produk. Misalnya untuk pharamasi produk: Eicosapentaenoic acid (EPA) berguna untuk status vascular tubuh manusia, docosahexaenoic acid (DHA) untuk jaringan saraf otak, β-carotene sebagai pro-vitamin A dan astaxanthin sebagai anti oksidan. Dua produk terakhir telah dikomersialkan dalam skala besar (Borowitzka,1992, Olaizola,2000). Karena mikroalga juga merupakan sarana fotosintetik yang baik, maka mikroalga juga kaya akan pigment dikarenakan mempunyai sifat fluoresescentnya (Apt and Behrens,1999). Mikroalga akhir-akhir ini dieplorasi untuk penggunaannya dalam bidang bioenergi dikarenakan mikroalgae juga mempunyai kandungan karbon dan lipid yang tinggi. Beberapa jenis mikroalga berpotensi sebagai sumber minyak dengan kadar yang bervariasi tergantung jenis mikroalganya (Tabel 1).

Tabel 1. Kandungan minyak dari beberapa jenis mikroalga (Chisti,2007)

Mikroalga	Kandungan minyak (%)
<i>Botryococcus Braunii</i>	25-75
<i>Chlorella sp</i>	28-32
<i>Cryptocodinium cohnii</i>	20
<i>Cylindrotheca sp.</i>	16-37
<i>Dunaliella primolecta</i>	23
<i>Isochrysis sp.</i>	25-33
<i>Monallanthus salina</i>	>20
<i>Nannochloris sp.</i>	20-35
<i>Nannochloropsis sp.</i>	31-68
<i>Neochloris oleoabundans</i>	35-54
<i>Nitzschia sp.</i>	45-47
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	20-30
<i>Schizochytrium sp.</i>	50-77
<i>Tetraselmis sueica</i>	15-23

2. Kultivasi mikroalga

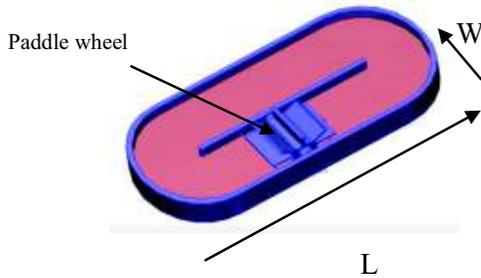
Untuk memperoleh biomasa yang tinggi, pemilihan jenis photobioreaktor merupakan hal yang penting untuk dilakukan (Richmond, 2000). Mikroalga biasanya dikultivasi di sistem terbuka (*open photobioreactors*) dan tertutup (*closed photobioreactors*) dengan diiluminasi baik dengan cahaya buatan ataupun cahaya matahari dengan temperture 27-30°C dan pH 6.5-8. Open pond merupakan sistem kultivasi mikroalga yang paling lama digunakan. Pada awalnya sistem ini digunakan sebagai sarana pengolahan limbah cair (Oswald,1950). Kultivasi mikroalga dalam open ponds sudah dilakukan beberapa tahun terakhir (Boussiba et al,1988; Tredici and Metrassi,1992; Hase et al,2000). Open pond dapat dikategorikan ke dalam kolam yang menggunakan air alam : danau, tambak atau kolam, sedangkan yang termasuk kolam buatan yaitu kolam dengan menggunakan dinding dari bahan tertentu seperti PVC, semen, atau tanah liat. Bioreaktor yang banyak dipakai yaitu kolam dengan aliran sirkular dengan 1 pedal roda (wheel paddle) untuk menghasilkan. Keuntungan dari open pond ini adalah mudah untuk dibuat, dan lebih murah dikarenakan hanya menggunakan sinar matahari untuk sistem fotosintetiknya. Sebaliknya kelemahan open ponds adalah untuk sistem dengan volume kultur yang besar, sinar matahari tidak sepenuhnya diserap oleh mikroalga di dasar kolam (Ugwu et al,2007). Selain itu, dengan kontak langsung dengan udara maka kehilangan akibat evaporasi relative lebih besar (*loss evaporation*) dan mixing atau pengadukan tidak maksimal dan mengakibatkan sedimentasi sel di dasar kolam reaktor. Selain itu kontaminasi merupakan permasalahan lain dari kultivasi dalam reaktor ini. Flate photobioreactor termasuk sistem tertutup dan banyak digunakan karena mempunyai surface area yang besar (Milner,1953). Dibanding reactor lain, akumulasi di flat-plate photobioreactor relative rendah akan tetapi mempunyai efisiensi fotosintesis yang tinggi (Hu et al,1996; Richmond,2000). Diantara yang lain, photobioreaktor jenis ini paling banyak

digunakan untuk system terbuka (Vonshak and Torzillo,2004). Perpindahan masa di tubular photobioreactor dapat ditingkatkan dengan sistem turbulensi dengan menggunakan static mixer. Kelemahan dari bioreaktor ini adalah kenaikan temperatur yang tinggi, terjadi re-karbonisasi yang mengakibatkan biaya pemeliharaan meningkat.

3. Metodologi Penelitian

3.1. Perancangan dan Pembuatan pilot scale open ponds

Bioreaktor kolam (Open ponds) merupakan salah satu jenis bioreactor yang termasuk paling murah dibanding photo bioreaktor tertutup (*closed photobioreactor*), dikarenakan jenis bioreaktor ini hanya menggunakan sinar matahari, sebagai sumber cahaya yang digunakan oleh mikroalga untuk fotosintesis (Chisti,2007) disamping mudah untuk dikonstruksi.



Gambar 3. Geometry alga open pond.

Untuk memperkirakan pola aliran turbulent dalam photobioreaktor, model k-ε digunakan. Persamaan tersebut adalah:

$$\frac{\partial \rho k}{\partial t} + \nabla \cdot (\rho u k) - \nabla \cdot \left(\left(\eta + \rho C_{\mu} \frac{k^2}{\varepsilon} \right) \nabla k \right) = \frac{1}{2} \rho C_{\mu} \frac{k^2}{\varepsilon} (\nabla u + (\nabla u)^T)^2 - \rho \varepsilon \quad (1)$$

$$\frac{\partial \rho \varepsilon}{\partial t} + \nabla \cdot (\rho u \varepsilon) - \nabla \cdot \left(\left(\eta + \rho C_{\mu} \frac{k^2}{\varepsilon} \right) \nabla \varepsilon \right) = \frac{1}{2} \rho C_{\varepsilon 1} k (\nabla u + (\nabla u)^T)^2 - \rho C_{\varepsilon 2} \frac{\varepsilon^2}{k} \quad (2)$$

Nilai parameter yang digunakan adalah $C_{\mu}=0.09$, $C_{\varepsilon 1}=1.44$, $C_{\varepsilon 2}=1.92$ (Lauder and Spalding, 1974). Dengan persamaan (2) dan (3) variasi panjang (L) dan lebar (W) reaktor kolam dapat dipelajari dengan memperhatikan power yang digunakan dan keseragaman pola aliran untuk tiap channel dalam kolam.

3.3. Kultivasi mikroalga dalam bioreactor kolam

Setelah dilakukan isolasi dan perancangan bioreactor, tahap selanjutnya yaitu kultivasi mikroalga terpilih dalam bioreaktor. Mikroalga yang dipilih berdasarkan kadar minyaknya yang tertinggi. Media yang digunakan yaitu air laut sintetis dengan komposisi: 29.23 g/L NaCl, 1.105 g/L KCl, 11.09 g/L MgSO4

7H2O, 1.21 g/L Tris-base, 1.83 g/L CaCl2 .2H2O, 0.25 g/L NaHCO3, and 3.0 mL of trace metal solution yang mengandung 281.3 mg/L NaNO3, 21.2 mg/L NaH2PO4 H2O, 16.35 mg/L Na2 EDTA, 11.8 mg/L FeCl3 6H2O, 37.5 µg/L CoCl2 6H2O, 37.5 µg/L CuSO4 5H2O, 82.5 µg/L ZnSO4 7H2O, 22.5 µg/L Na2MoO4, 0.375 mg/L vitamin B1, 0.188 µg/L vitamin B12.

Suhu dijaga konstan pada suhu kamar dan pH tetap pada 7-8. Kultur mikroalga dimasukkan dalam reaktor dengan perbandingan 10-15% dari total volume dan pertumbuhan dimonitor dengan mengukur Optical Density (OD)680 nm dengan spektrofotometer dan jumlah sel mikroskop. Untuk karakterisasi mikroalga ini, sejumlah variable akan di uji yaitu: pengaruh pengadukan, dan pH terhadap pertumbuhan alga. Pertumbuhan alga dihitung dengan formulasi berikut:

$$\mu = \frac{\ln(X_2) - \ln(X_1)}{t_2 - t_1} \quad (3)$$

Dimana X adalah biomasa (g/L) dan t merupakan waktu kultivasi (hari). Perhitungan kecepatan pertumbuhan dilakukan pada saat sel mikroalga berada pada fase eksponensial.

4. Hasil dan Pembahasan

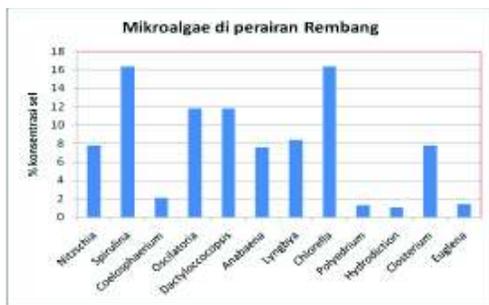
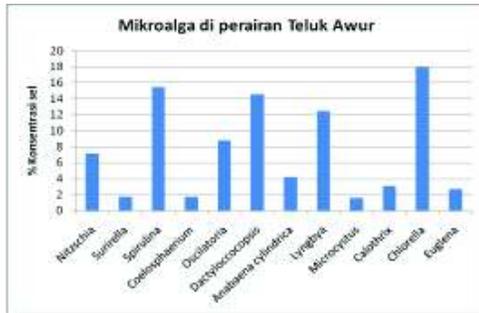
4.1. Identifikasi Mikroalga

Identifikasi mikro alga dilakukan dengan cara mengambil sample di perairan Pulau Panjang, Teluk awur Kabupaten Jepara dan Perairan Rembang yang mempunyai keanekaragaman plankton tinggi. Dari ketiga lokasi tersebut, mikroalga yang teridentifikasi dapat ditunjukkan pada Gambar 4a, 4b dan 4c.

Tabel 2. Hasil Analisis Laboratorium Kandungan Minyak Pada mikroalga

Komposisi Kimia	P(%)	K(%)	L(%)
<i>Nitzschia palea</i>	48	23	20
<i>Chlorella vulgaris</i>	58	17	27
<i>Spirulina platensis</i>	63	14	9
<i>Euglena gracilis</i>	61	18	20
<i>Anabaena cylindrica</i>	56	30	7

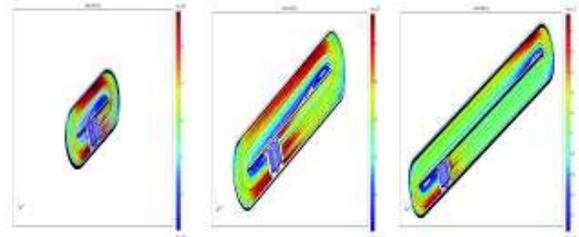
Dari Gambar 4a-c dapat dilihat bahwa Laut Jawa didominasi oleh jenis mikroalga *Nitzschia sp.*, *Spirulina sp.*, *Chlorella*, *Anabaena sp* dan *Euglena sp.* Sehingga kelima spesies tersebut yang selanjutnya dievaluasi kadar minyaknya.



Gambar 4. Identifikasi mikroalga diperairan Laut Jawa (a). Pulau Panjang, (b) Teluk awur dan (c). Perairan Rembang

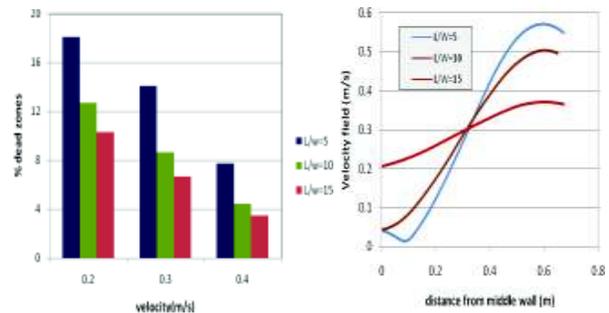
4.2. Simulasi dan Pemodelan untuk perancangan Bioreaktor

Sebagai sarana kultivasi mikroalga, photobioreaktor open pond dirancang untuk memperoleh ukuran yang optimal dari reaktor kolam. Perancangan dibuat dengan software COMSOL (www.comsol.com) dengan melihat sistem hidrodinamika di dalam reaktor dan menggunakan k-ε model untuk mensimulasi aliran turbulennya. Ukuran yang dievaluasi yaitu perbandingan antara panjang reaktor (L) dan lebar saluran (channel), w dengan variasi L/w antara 5 sampai 15. Hasil perancangan dan evaluasi ditunjukkan pada Gambar 5. Gambar 5 menunjukkan bahwa dengan perbandingan L/w =5 daerah mati (dead zones) dimana sel mikroalga tidak dapat tumbuh dengan baik menjadi lebih besar dibandingkan L/w =10 dan 15.



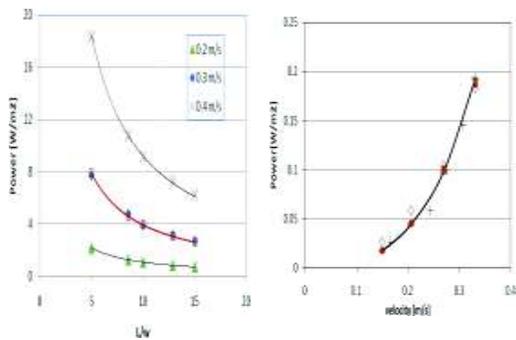
Gambar 5. Distribusi kecepatan fluida dalam saluran reaktor kolam(open pond) untuk ukuran berbagai L/w (a) L/w=5, (b) L/w=10, dan (c), L/w=15.

Dengan meningkatnya kecepatan fluida atau putaran paddle wheel dead zones dalam reaktor semakin kecil (Gambar 6a). Sehingga dapat direkomendasikan juga bahwa untuk meningkatkan perpindahan masa antara mikroalga dan fluida, kecepatan fluida atau putaran rpm dapat ditingkatkan, akan tetapi dengan peningkatan kecepatan ini power atau energy yang dibutuhkan semakin besar (Gambar 7). Parameter lainnya yang perlu dievaluasi yaitu distribusi kecepatan dalam channel. Gambar 6b menunjukkan bahwa dengan L/w reaktor semakin besar distribusi kecepatan semakin seragam. Keseragaman kecepatan ini dapat meningkatkan pertumbuhan sel mikroalga



Gambar 6. (a). Daerah mati dalam reaktor kolam sebagai fungsi dari kecepatan fluida dan ukuran reaktor, (b) Distribusi kecepatan dalam channel untuk berbagai ukuran reaktor.

Gambar 7 menunjukkan power yang dibutuhkan untuk menggerakkan fluida dengan kecepatan antara 10-40 cm/s. Dari Gambar 7b terlihat bahwa dengan meningkatnya kecepatan fluida power atau tenaga yang dibutuhkan naik dengan fungsi kubik. Sehingga secara praktis kecepatan yang biasa digunakan yaitu 20-30 cm/s.



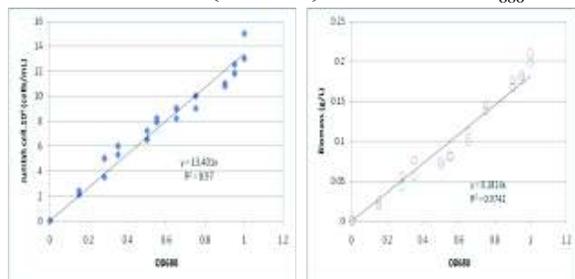
Gambar 7. (a). Power yang dibutuhkan untuk menggerakkan paddle wheel untuk variasi kecepatan fluida dan ukuran reaktor (b). Power yang dibutuhkan sebagai fungsi dari kecepatan fluida.

4.3. Kultivasi Mikroalga dalam Photobioreaktor

Untuk memperoleh hubungan antara jumlah sel dalam larutan dan berat kering biomasa untuk tiap optical densitinya maka diperlukan suatu kurva kalibrasi. Hubungan ini ditunjukkan dalam Gambar 8 a dan 8b.

Dari gambar 8 terlihat bahwa Optical Density (OD) berbanding lurus dengan jumlah sel dan biomasanya. Dari kurva kalibrasi tersebut di dapat persamaan sebagai berikut:

$$\text{Jumlah sel (sel / mL)} = 13.4 \times 10^6 \text{ OD}_{680}$$



Gambar 8. Kurva kalibrasi untuk *Chlorella* sp sebagai hubungan antara Optical density dan jumlah sel dalam larutan (a) dan Optical density dengan Biomasa (b).

Sedangkan hubungan antara Biomasa dengan OD680 adalah:

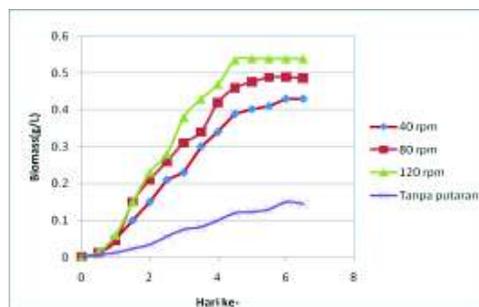
$$\text{Biomasa (g / L)} = 0.1814 \cdot \text{OD}_{680}$$

Dari persamaan tersebut diatas dapat disimpulkan bahwa jumlah sel berbanding lurus dengan biomasa yang dihasilkan yaitu:

$$\text{Biomasa (g / L)} = 1.35 \cdot 10^{-8} \text{ Jumlah sel (sel / mL)}$$

Kurva pertumbuhan ditunjukkan pada Gambar 9 untuk berbagai variasi kecepatan putaran paddle. Dari gambar 9 diperoleh informasi bahwa kecepatan

pengadukan memberikan peningkatan yang berarti terhadap pertumbuhan mikroalga dan jumlah biomasa yang dihasilkan. Tanpa pengadukan atau sirkulasi aliran, pertumbuhan mikroalga sangat lambat dikarenakan sel-sel yang ada mengendap dan nutrient serta cahaya tidak dimanfaatkan secara sempurna. Sedangkan dengan sirkulasi aliran memberikan distribusi yang merata sehingga didapatkan 3-4 x peningkatan biomasa dibandingkan tanpa sirkulasi dalam waktu kultivasi yang sama.



Gambar 9. Pengaruh kecepatan putaran paddle terhadap pertumbuhan mikroalga *Chlorella* dalam bioreaktor.

4.3.1. Penentuan Kecepatan pertumbuhan mikroalga

Kecepatan pertumbuhan (growth rate) diprediksi dengan menggunakan data pada Gambar 9. Formula yang digunakan yaitu persamaan 4 yang diaplikasikan pada fase eksponensial dari pertumbuhan alga. Dari perhitungan didapat hasil yang ditampilkan pada Tabel 3. Tabel 3 menunjukkan bahwa specific growth rate (kecepatan pertumbuhan) mikroalga dipengaruhi oleh laju alir fluidanya. tanpa adanya pengadukan dan sirkulasi sel mikroalga akan terakumulasi dan terendapkan di dasar kolam sehingga kesempatan untuk mendapatkan nutrient yang cukup berkurang. Selain itu untuk mendapatkan cahaya sebagai sumber energy fotosintetis akan berkurang. Sebagai perbandingan, dengan menggunakan 40 rpm, kecepatan pertumbuhan meningkat 60% dibanding tanpa adanya sirkulasi aliran, sedangkan dengan meningkatnya jumlah putaran 100% peningkatan growth rate hanya 10%.

Tabel 3. Kecepatan pertumbuhan mikroalga *Chlorella* sp dalam bioreaktor

Rpm	μ (1/hari)
0	0.53
40	0.82
80	0.91
120	1.00

5. Kesimpulan

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa bentuk geometri dari suatu reaktor akan mempengaruhi sistem hidrodinamikanya. Reaktor dengan ukuran perbandingan panjang dan lebar channel kecil akan membutuhkan energi yang relative besar. Selain itu stagnant area (dead zones) dimana algae cell tersedimentasi juga besar untuk persatuan volumenya. Mikroalga (fitoplankton) yang diperoleh dari ketiga perairan : Pulau Panjang, Teluk Awur Kan. Jepara dan Perairan Rembang, yang potensial untuk dikutlu masaal dan mempunyai kandungan minyak yang tinggi adalah jenis, *Nitzschia palea*(23), *Chlorella vulgaris* (27), *Spirulina platensis* (9), *Euglena gracilis* (20). Jenis algae tersebut mendominasi hampir di ketiga perairan yang mewakili perairan pantai utara Jawa. Sedangkan *Spirulina sp* merupakan sumber protein yang dapat dimanfaatkan sebagai zat suplemen pada makanan ternak dan manusia.

Ucapan terima kasih

Penelitian ini dibiayai dengan Hibah Kompetitif Prioritas Nasional Batch II Tahun 2009 dengan Nomor SPK: : 304/SP2H/PP/DP2M/VI/2009. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Pengelola Laboratorium Separasi dan Bioproses, Teknik Kimia Universitas Diponegoro Semarang

Daftar Pustaka

1. Andrei D. Polyenin , A.M. Kutepov, D.A. Kazenin , A.V. Vyazmin ,2002, Hydrodynamics, Mass and Heat Transfer in Chemical Engineering, Taylor and Francis
2. Araki, S., Martin-Gomez,S., Bécares, E. , De Luis-Calabuig, and Rojo-Vazquez, F., (2001); Effect of High-Rate Algal Ponds on Viability of *Cryptosporidium parvum* Oocysts, Appl Environ Microbiology 67(7): 3322–3324.
3. Becker, E.W.,(1994), Microalgae: Biotechnology and Microbiology, Cambridge University Press.
4. Chisti,Y., (2007), Biodiesel from Microalgae, Biotechnology Advances 25:294-306
5. Janssen, M., (2002) Cultivation of microalgae: Effect of light/dark cycles on biomass yield, PhD thesis Wageningen University, Netherlands.
6. Borowitzka MA,1999, Pharmaceuticals and agrochemicals from microalgae. In: Cohen Z,editor. Chemicals from Microalgae. Taylor & Francis:p: 313-352
7. Brune, D. E. , Schwartz, G. , Eversole, A. G. , Collier, J. A. , Schwedler , T. E. , (2003), Intensification of pond aquaculture and high rate photosynthetic systems, *Aquacultural Engineering* 28(1-2): 65-86
8. Cornet,J.F., Dussap, C.G., Gross, J.B., (1998), Kinetics and energetic of photosynthetic microorganism in photobioreactors: application to spirulina growth. *Advances in Biochemical Engineering and Biotechnology* 59: 155-224
9. E. Molina Grima, F.G. Ación Fernández, F. García Camacho and Y. Chisti,1999, Photobioreactors: light regime, mass transfer, and scaleup, *J. Biotechnol.* **70** (1999), pp. 23–247.
10. Hadiyanto, 2009, *Design High Raceways Algae Pond using CFD*, Internal Report TUDelft, Netherlands
11. M. Olaizola, 2000,Commercial production of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* using 25,000-liter outdoor photobioreactors, *J. Appl. Phycol.* **12** , pp. 499–506.
12. Pruvost, J., J. F. Cornet, et al. (2008). "Hydrodynamics influence on light conversion in photobioreactors: An energetically consistent analysis." *Chemical Engineering Science* 63(14): 3679-3694.
13. Richmond A.2004. Biological principles of mass cultivation. In: Richmond A, editor: Handbook of microalgae culture : Biotechnology and applied phycology. Blackwell.p:125-177
14. Richmond, A, (2004).” Principles for attaining maximal microalgal productivity in photobioreactors: an overview”, *Hydrobiologia* **512**: 33–37.
15. Sanchez Miron A, Contreras Gomez A, Garcia Camacho F, Molina Grima E, Chisti Y, 1999, Comparative Evaluation of Compact photobioreactor for large scale monoculture of microalgae, *J. Biotechnology* 70: 249-270
16. Shimamatsu, H, (1987), A pond for edible spirulina production and its hydraulic studies, *Hydrobiologica* 151/152: 83-89
17. Sukenik, A., Levy, R.S. Levy, Y., Falkowski , P.G., and Dubinsky, Z., (1991), Optimizing algal biomass production in an outdoor pond: a simulation model, *Model, Journal of applied phycology* 3:191-201
18. Ugwu, C.U, Aoyagi, H and Uchiyama, H, 2007, Photobioreactors for Mass cultivation of Algae, *Bioresource Technology* , in press
19. Welssman,J.C and Goebel, R.P, 1987,*Deisgn and Analysis of Microalgal Open Ponds for the Purpose of Producing Fuels*, Sub Contract Report at Solar energy Research Institute- Colorado USA
20. Wen Teng-WU and Chih-Hung Hsieh, 2008, *Cultivation of microalgae for optimal oil production*, *Journal of Biotechnology*, 136(1):p:S521