

ACADEMIA ROMÂNĂ
INSTITUTUL DE BIOLOGIE BUCUREȘTI

TEZĂ DE DOCTORAT
REZUMAT

Epurarea apelor uzate menajere utilizând
microorganismele fotosintetizante selectate și *Chlorella*
sorokiniana UTEX 1230

Coordonator științific,

Prof. Univ. Dr. Ioan ARDELEAN

Doctorand,

Roxana MANEA

București, 2020

Cuprinsul tezei:

Partea teoretică

Introducere

1. Epurarea apelor uzate	4
1.1. Epurarea apelor uzate în stațiile de epurare conventionale	4
1.2. Obiectivele și importanța epurării apelor uzate cu microorganisme fotosintetizante	14
1.3. Studii efectuate la nivel internațional	16
1.4. Obiectivele tezei	36

Partea Originală

2. Metode și mod de lucru în determinarea indicatorilor analizați din apă	37
2.1. Determinarea consumului chimic de oxigen	37
2.2. Determinarea conținutului de azotați	38
2.3. Determinarea conținutului de azoțiți	40
2.4. Determinarea conținutului de amoniu	43
2.5. Determinarea conținutului de azot total LCK 238 LATON	45
2.6. Determinarea conținutului de fosfor total	46
2.7. Determinarea conținutului de oxigen dizolvat	48
2.8. Determinarea spectrofotometrică a clorofilei a și b	49
3. Selectarea unor microorganisme fotosintetizante din microbiota endogenă în scopul utilizării lor în epurare	50
Introducere	50
Metodologia cercetării	51
Rezultate și discuții	54
Concluziile capitoului	64
4. Înlăturarea nutrienților apei uzate epurate utilizând microalga verde <i>Chlorella sorokiniana</i> UTEX 1230 imobilizată	65
Introducere	65

Metodologia cercetării	66
Rezultate și discuții	67
Concluziile capitolului	77
5. Înlăturarea nutrienților din apa uzată folosind nămol activ și <i>Chlorella sorokiniana</i>	
UTEX 1230	78
Introducere	78
Metodologia cercetării	79
Rezultate și discuții	81
Concluziile capitolului	90
6. Înlăturarea nutrienților folosind microorganisme fotosintetizante selectate în mod natural din apa uzată și epurată	91
Introducere	91
Metodologia cercetării	92
Rezultate și discuții	95
Concluziile capitolului	113
Concluzii generale	115
Lucrări științifice și participări la manifestări științifice	117
Bibliografie	121

Introducere

Studiul acestei lucrari a fost facut analizând parametri fizico-chimici ai apelor uzate și implicit a apelor epurate ai statiei de epurare Constanta Nord, una din cele două stații de epurare a orasului Constanța, care deservește în mare parte, partea de nord a orașului și statiunea Mamaia. Este proiectată să deserveasca un numar de 255 000 de locuitori echivalenți pentru perioada de vară și de 185 000 de locuitori echivalenți pe perioada de iarnă. O caracteristică particulară a acestei ape uzate este încărcarea sezonieră atât în parametri de debit cât și în încărcatura poluantilor. Stația de epurare este pozitionată pe o limbă de pamant între Marea Neagra și lacul Tabacariei având o suprafată de aproximativ 100 ha și care formează împreună cu lacul Siutghiol un complex lacustru (Ielenicz 1999, Antipa 1941).

Poziționată într-o zonă atât de sensibilă și având în vedere că efluentul se deversează în receptorul natural Marea Neagră la 4000 metri în larg la adiabata -18 metri, având și o conductă scurtă de descărcări accidentale la 500 metri în larg, autoritățile au impus limitele cele mai severe din legislația în vigoare. Astfel a apărut necesitatea de epurare drastică a apelor uzate menajere, în special în privința parametrilor fosfor total, azot total și CCO considerați a fi cei mai periculoși poluanți ai apelor, producând fenomenul de eutrofizare și implicit deteriorarea habitatului marin inclusiv microbiota marină.

Pentru a reduce încărcările influențului stațiilor de epurare, managementul acestora trebuie reconsiderat. În prezent, conținutul de fosfor din efluentul stațiilor de epurare este redus în cea mai mare parte prin precipitații chimice, în faza de tratament terțiar. Cu toate acestea, utilizarea substanțelor chimice este asociată cu costuri ridicate și duce la producerea excesivă a nămolului activ, considerat de legislație deșeu, crescând riscul de poluare. Aceste deficiențe ale tratării convenționale a apelor uzate terțiare au condus la introducerea unor abordări mai durabile. Numeroase studii au demonstrat că fitoremedierea, adică aplicarea biomasei de alge pentru tratarea apelor uzate, este o măsură eficientă pentru reducerea concentrației de nutrienți cu până la 95% (Arbib et al. 2014, Gao et al., 2016, Wang et al., 2017). Pe lângă tratarea apelor uzate, biomasa de alge este percepută ca o materie primă pentru producția de bioenergie, produse nutritive și de parfum. Astfel, printr-o prelucrare reușită ulterior folosirii acesteia, biomasa de algă nu numai că poate oferi un tratament cu costuri reduse ale apelor uzate, dar este și o abordare potențial profitabilă pentru gestionarea apelor uzate. Cu toate acestea, în ciuda posibilităților promițătoare de aplicare, anumite obstacole împiedică tratarea apelor uzate bazate pe alge de la exploatarea la scară largă și de a deveni o alternativă rentabilă pentru metodele convenționale. Tehnologia actuală pentru separarea biomasei de alge de apă crește semnificativ costurile totale de tratament (Milledge et al., 2013). În cele din urmă, conținutul chimic mereu în schimbare al apelor uzate ridică noi provocări, necesitând tratarea apelor uzate cu contaminare problematică și necunoscută, în timp ce influența lor asupra creșterii algelor este adesea obscură (Su et al., 2012).

Obiectivele și importanța epurării apelor uzate cu microorganismele fotosintetizante

- Selectarea unor microorganismele fotosintetizante din microbiota endogenă în scopul utilizării lor în epurare

- Înlăturarea nutrienților apei uzate epurate utilizând microalga verde *Chlorella sorokiniana* UTEX 1230 imobilizată
- Înlăturarea nutrienților din apa uzată folosind nămol activ și *Chlorella sorokiniana* UTEX 1230
- Înlăturarea nutrienților folosind microorganisme fotosintetizante selectate în mod natural din apa uzată și epurată
- Înlocuirea defosforizării chimice, treaptă în tehnologia de epurare, cu o alta soluție mai puțin periculoasă pentru om și pentru mediul înconjurător. În prezent această defosforizare se face întrucât fosforul din apa uzată menajeră este în concentrație mare, iar prin procesul de epurare biologic cu nămol activ, acesta este redus cu aproximativ 40%. Câteodată această diminuare este insuficientă pentru ca apa epurată să se încadreze în normele legislative ale țării privind limitele de încărcare cu poluanți ai apelor uzate industriale și orașenești la evacuarea în receptorii naturali. În aceste condiții, tehnologia de epurare prevede o treaptă terțiară de înlăturare a fosforului prin procedee chimice, de floclare, folosind cel mai des clorura ferică, o soluție foarte corozivă și foarte otrăvitoare pentru mediul acvatic.
- Despre nămolul activ se știe de peste 100 de ani ca are eficiență mărită de epurare a apelor menajere, acesta folosindu-se în mod obișnuit în epurarea cantităților foarte mari de apă menajeră, având nevoie de un timp de retenție relativ mic și un randament ridicat. Totuși problema întâlnită la această metodă de epurare este în privința consumurilor pe care această tehnologie le generează, cheltuieli foarte mari cu energia electrică și imposibilitatea nămolului de a înlătura fosforul atunci când cantitățile sunt mari. Un obiectiv al acestui studiu a fost de observare a procesului de fotosinteză care se produce și în ce măsură ajută sau afectează acesta nămolul activ. Un rezultat pozitiv ar putea ajuta în viitor la reducerea cheltuielilor cu consumul de curent electric folosit în epurarea tradițională la menținerea aerării în bireactoarele din stațiile de epurare, acestea folosind niște turbine generatoare de aer care sunt mari consumatoare de curent electric.

Contribuții originale

Capitolul 2 cuprinde metode și mod de lucru în determinarea indicatorilor analizați din apă. Toate metodele folosite sunt standardizate și rezultatele probelor au fost verificate cu materiale de referință certificate. Curbele de etalonare au fost făcute pentru ca rezultatele să se supună

statisticii și au fost determinate abaterile standard astfel încât precizia rezultatelor se încadrează în intervalul de încredere 5-10%.

Capitolul 3 cuprinde rezultatele experimentale cu privire la selectarea unor microorganisme fotosintetizante din microbiota endogenă în scopul utilizării lor în epurare.

Izolarea unor consorții de microorganisme fotosintetizante capabile să utilizeze ca nutrienți diferitele forme chimice de azot și fosfor din apele orașenești epurate, s-a făcut folosind mediul de cultură BG₁₁ (10%), în care s-au făcut inoculări.

a. din ape epurare mecanic (apa de intrare în stația de epurare trecută prin filtre grosiere, deznisipare și înlăturare grăsimi)

b. din ape epurate mecanic, biologic și chimic (apa de evacuare, epurată biologic cu nămol activ și tratată chimic cu sulfat de fier pentru reducerea chimică a fosforului)

Selectarea în matricea potrivită (apă uzată sau apă epurată) a unor consorții de microorganisme fotosintetizante capabile să utilizeze ca nutrienți diferitele forme chimice ale azotului și fosforului din apele orașenești epurate.

În vederea eficientizării îndepărtării nutrienților azot și fosfor, s-au experimentat diferite volume de probă de apă epurată lăsate în contact atât cu biomasă algală lăsată liberă sub formă de flocoane cât și cu biomasă algală imobilizată prin metode artisanale.

Întrucât rezultatele au fost îmbucurătoare și încurajante, s-a decis încercarea epurării apelor uzate menajere, neepurate anterior sub nici o formă, pentru a vedea ce îndepărtare a nutrienților se poate face pornind de la concentrații foarte mari ale acestora, ținând cont și de faptul că această nouă matrice are alte caracteristici și din punctul de vedere a încărcării organice.

În cazul probelor lăsate în contact timp de trei zile randamentul de defosforizare a fost de 99% respectiv procentul de azotat eliminat a fost de 73%, iar în cazul probelor lăsate în contact timp de cinci zile eliminarea nutrienților în medie a fost de 94% în cazul fosforului și de 99% în cazul azotatului. În experimentele cu timp mai lung de contact s-au constatat rezultate mai puțin favorabile de eliminare a fosforului de numai 87% și 100% azotat, cauza principală putând fi eliberarea fosforului prin descompunerea microorganismelor fotosintetizante moarte, în apa ulterior analizată. După cele patru zile de la contactul inițial, se poate observa creșterea concentrației de fosfor. Aceasta creștere poate fi explicată a) moartea microorganismelor, b)

formarea de noi celule fotosintetizante care nu se atasaseră de celalalte consortii și au fost prelevate împreună cu apa, dispersate în aceasta în momentul analizelor la baia de mineralizare.

Tabel 1. Eliminarea azotatului și a fosforului total din apa uzată epurată cu biomasa algală selectată anterior

Perioada de contact	Concentrație inițială (mg/l)		Concentrație finală (mg/l)		Procent eliminat (%)	
	P _{total}	NO ₃ ⁻	P _{total}	NO ₃ ⁻	P _{total}	NO ₃ ⁻
3 zile	0,919	24,3	0,018	6,630	99	73
4 zile			0,016	0,743	99	97
5 zile			0,060	0,214	94	99
6 zile			0,094	0,237	90	99
7 zile			0,127	0,174	87	100

În figura 1 se poate vedea randamentul de eliminare pe nutrienți în experimentul folosind ca matrice apă uzată. Conținutul de elemente chimice din proba de apă a fost destul de mare, deoarece este apă epurată doar mecanic, în special conținutul de fosfor total și amoniu (influențând în mod direct concentrația de azot total), astfel randamentul de îndepărtare al amoniului din probă nu a fost foarte mare în condițiile experimentului, probabil ar fi avut nevoie de o cantitate de biomasă mai mare pentru un randament mai ridicat. Randamentul de îndepărtare al azotului total a fost de 15% în prima zi, 29% în ziua a 2-a și de 33% în ziua 4, pe când eficiența îndepărtării fosforului a fost de 31% în ziua 1, 57% în ziua 2 și 80% în ziua 3. Restul nutrienților au fost îndepărtați cu succes cu randament de peste 50%, un procent considerabil ținând cont de concentrațiile mari ale apei neepurate anterior. S-a observat și o scădere semnificativă a consumului chimic de oxigen (CCO) ajungând la 43% în ziua 4. Această observație a indicat că iluminarea poate avea un efect benefic pentru absorbția organică de către alge. Această scădere sugerează că bacteriile ar fi putut mineraliza compuși organici pentru obținerea carbonului și energie pentru a-și susține metabolizarea și poate că unele surse de carbon au existat sub formă de particule foarte mici. Sa raportat că biomasa algală nu poate utiliza surse de carbon cu o dimensiune mare a particulelor, deoarece celulele algelor și membrana folosită pentru transportul de nutrienți au fost mai mici decât dimensiunile particulelor mari (White et al., 2000).

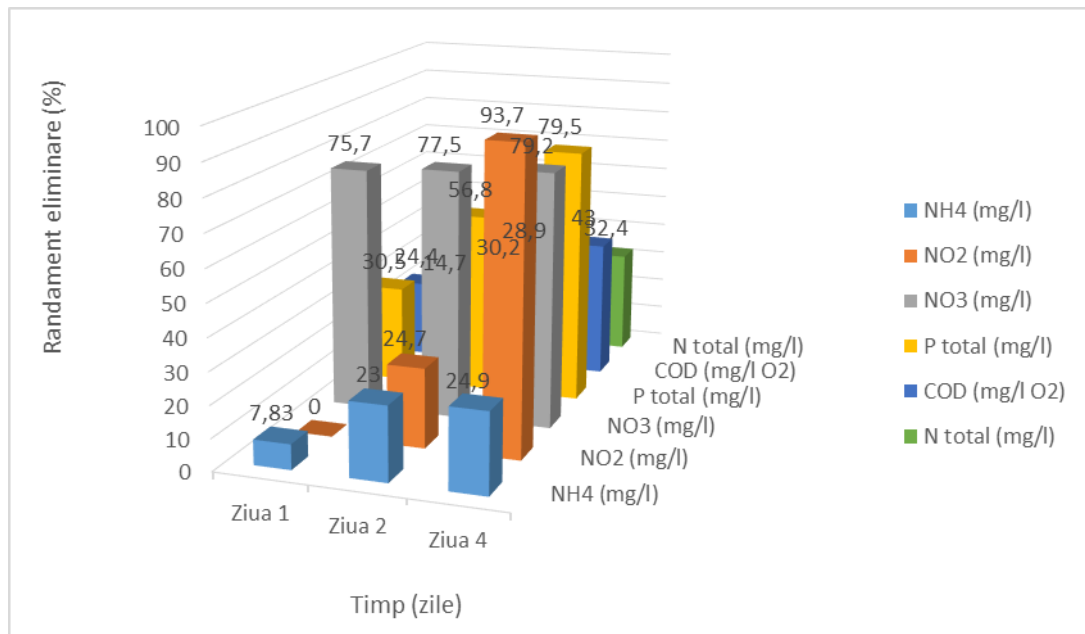


Figura 1. Randamentul de eliminare al nutrienților din apa uzată influentă

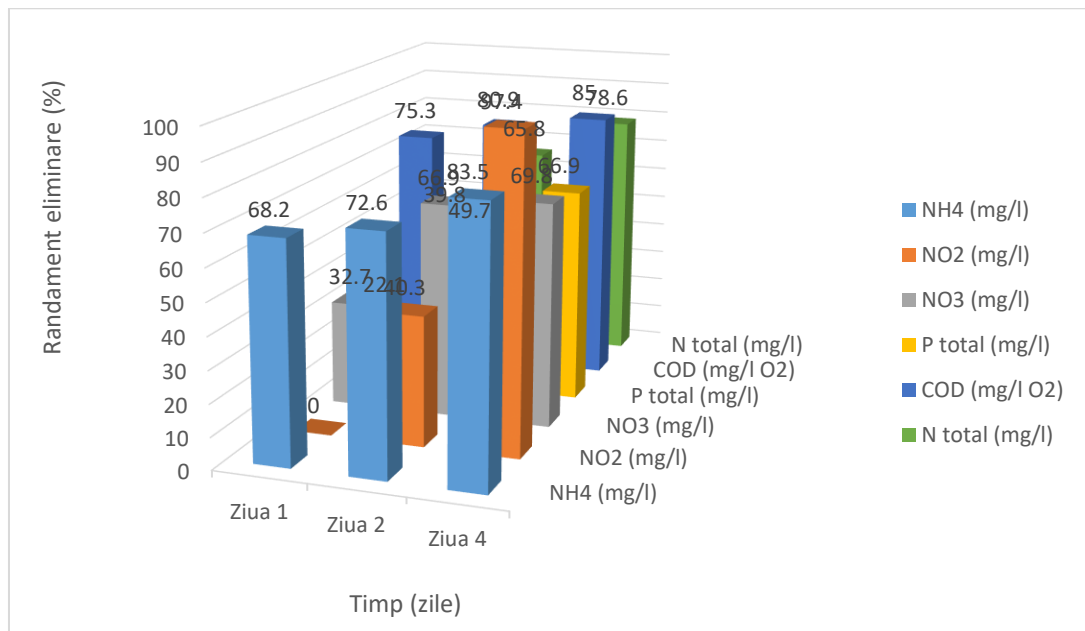


Figura 2. Randamentul de eliminare al nutrienților din apa epurată

În figura 2 este reprezentat randamentul de eliminare pe nutrienți, având în vedere concentrațiile destul de mici ale apei epurate anterior, se observă o eficiență foarte ridicată de eliminare pentru majoritatea indicatorilor analizați, încă din prima zi de experiment. Surpriza cea mai mare a venit de la indicatorul substanței organice care a scăzut încă din primele ore de la contact cu peste 75%. Fosforul a scăzut treptat, linear pana la 48 de ore de la contact, ulterior concentrația acestuia nu a fost modificata semnificativ.

Comparând cercetările personale cu date din literatură, am constatat faptul că în cercetări anterioare, *Chlorella vulgaris* a fost inoculată cu apă epurată a unei stații de epurare și studiul arata o înlăturare a concentrațiilor de fosfor total și azot total de 60% în 2 zile (Rawiwan et al. 2012).

În **capitolul 4** au fost incluse rezultatele investigațiilor care au vizat înlăturarea nutrienților apei uzate epurate utilizând microalga verde *Chlorella sorokiniana* UTEX 1230 imobilizată.

Experimentele s-au realizat utilizând *Chlorella sorokiniana* UTEX 1230 imobilizat în mediul agar BG11- rămas în contact cu apa uzată epurată în aceleași condiții de mediu (lumină, temperatură etc.) și timp de contact de până la 5 zile. Condițiile de mediu și parametri preselecțai ai experimentului au fost: volumul de 2 litri, 1 litru și 0,7 litri de probă de apă uzată epurată, rămase în contact cu biomasa microalgelor corespunzătoare a 141,81 mg clorofilă totală de *Chlorella sorokiniana* UTEX 1230.

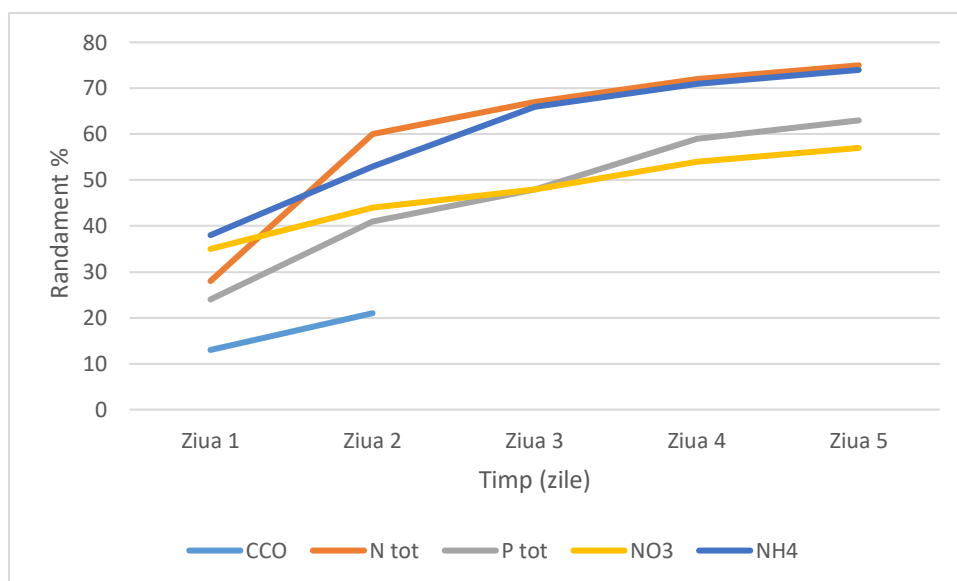


Figura 3. Randamentul de eliminare al nutrienților folosind un volum de 1 litru de apă epurată și biomasă de *Chlorella sorokiniana* UTEX 1230 imobilizată, masă care corespunde la 141,81 mg clorofila totală.

Așa cum se vede în figura 3, eficiența eliminării azotatului a fost de 35% în prima zi, 44% în a doua zi, 48% în a treia zi, 54% în a patra zi și 57% în a cincea zi; eficiența eliminării fosfatului total a fost de 24% în ziua 1, 41% în ziua 2, 48% în ziua 3, 59% în ziua 4 și 63% în ziua 5. Rata de îndepărtare a azotului total a fost de 28% în ziua 1, 60% în ziua 2, 67% în ziua 3, 72% în ziua 4 și 75% în ziua 5; în timp ce amoniul a fost eliminat cu 38% în ziua 1, 53% în ziua 2, 66% pentru ziua 3, 71% în ziua 4 și 74% în ziua 5. Eliminarea carbonului organic,

analizând consumul chimic de oxigen CCO a fost de 13% după 24 de ore, cu 21% mai puțin după 48 de ore și în următoarele zile concentrația a început să crească, ceea ce poate însemna că au crescut compușii organici în apă. . Analizând *Chlorella sorokiniana* în apa uzată efluentă unei stații de epurare de la o fabrică de mătase, cu un timp de retenție de 7 zile, s-au raportat o reducere a nutrienților de 87% pentru CCO, 40% pentru fosfor și azot total 21% (Li et al., 2019). Cea mai bună și rapidă eficiență a fost observată în primele 48 de ore, apoi concentrațiile au început să aibă fluctuații, crescând puțin și apoi scăzând.

Capitolul 5 cuprinde rezultatele înlăturării nutrienților din apa uzată folosind nămol activ și *Chlorella sorokiniana* UTEX 1230.

Scopul acestui capitol a fost de analiză a efectului utilizării simultane a algelor și a nămolului activ, având rații diferite/în raporturi cantitative diferite, comparativ cu eficiența doar a nămolului activ (procedeu clasic) de a epura apele uzate menajere. În experiment, o combinație de nămol activ și *Chlorella sorokiniana* s-a folosit pentru a epura apa uzată menajera. În acest moment, practica uzuală de epurare este de a insufla aer cu ajutorul unor turbo suflante electrice pentru a genera procesul de nitrificare. Acest procedeu folosește aproximativ 70% din totalul consumului de energie electrică al stației de epurare, iar folosirea microalgelor verzi este gândită urmărind literatura internațională, unde subiectul cunoaște o popularitate tot mai mare în ultimii ani (Whitton et al., 2015, Posadas et al., 2013, Tang et al., 2018, Chen et al., 2019, Fan et al., 2020, Katam et al., 2020, Mujtaba et al., 2019, Chen et al., 2017, Arun et al., 2019, Sforza et al., 2018, Roudsari et al., 2014, He et al., 2013). Utilizarea microalgelor ar putea deveni o modalitate de a suplimenta în oxigen molecular procesul epurării. Rezultatele ar putea ajuta procesul de epurare al apelor uzate, scăzându-le costurile și contribuind la o tehnologie mai eficientă atât din punct de vedere economic, cât și tehnologic, folosind oxigenul produs în mod natural de *Chlorella sorokiniana* prin fotosinteză. Impactul pozitiv al acestui ciclu de epurare ar putea duce la reducerea emisiilor de gaz cu efect de seră și ar ajuta la lupta împotriva încălzirii globale.

Experimentul s-a desfășurat în laborator, apa folosită fiind apă uzată menajeră recoltată proaspătă de la intrarea dintr-o stație de epurare tradițională, s-a folosit aceeași cantitate de apă în toate experimentele modificând doar biomasa folosită și anume nămol activ, *Chlorella sorokiniana* sau mixt între cele două, folosind rații diferite pentru a vedea care este raportul cel mai favorabil dintre biomasa de nămol activ și biomasa de microalge pentru procesul de epurare, la nivel de laborator.

Graficul concentrației de fosfor total (figura 4) are tendința descrescătoare în toate experimentele, cel mai eficient fiind experimentul folosind *Chlorella sorokiniana*/nămol activ în raport de 3:1 cu un randament de reducere de 95%, urmând rația de 1:1 cu randament de 90%, cel mai mic randament de reducere al fosforului total s-a observat la proba cu *Chlorella sorokiniana* singura de 21%. Fan et al., 2020, în diferite rații de nămol/ *Chlorella sorokiniana* de 1:0,5, 1:1, 1:2, 1:4 după 7 zile de contact, a avut un randament de eliminare a fosforului de 86%, 87%, 92%, 96% și respectiv, 82%.

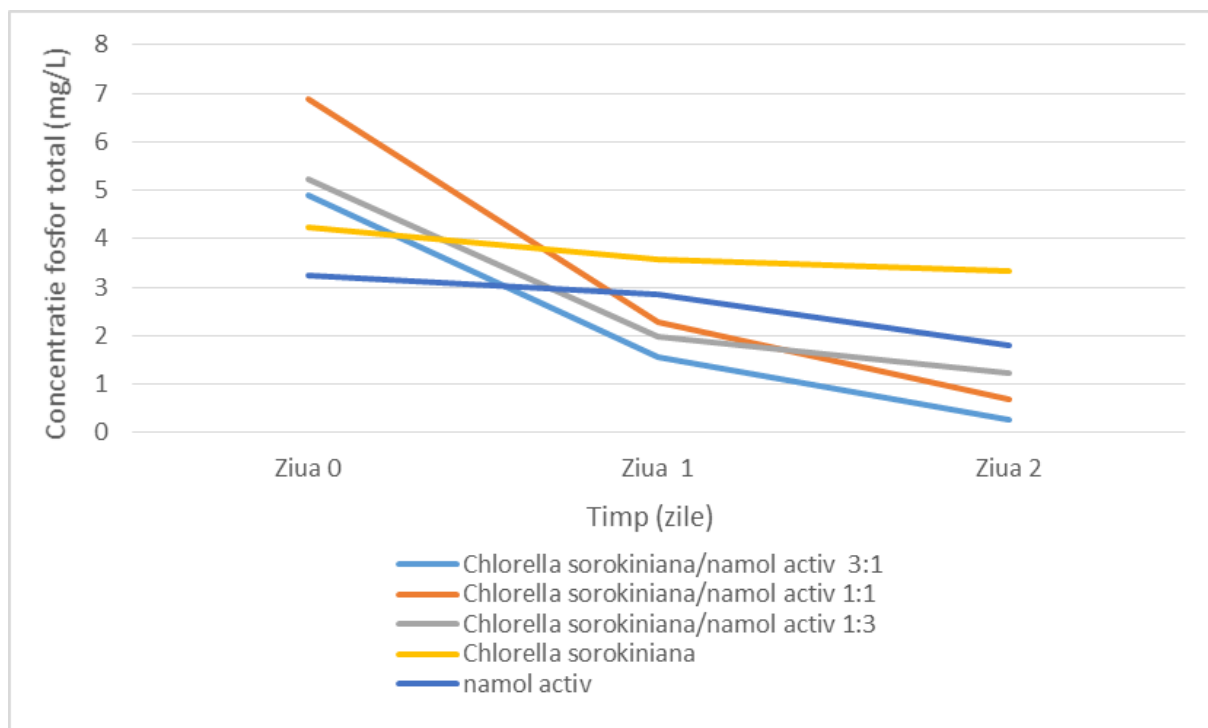


Figura 4. Influența în timp a concentrației fosforului total folosind nămol activ, *Chlorella sorokiniana* și diverse combinații între acestea două

Amini et al., 2020 a raportat ca în reactorul cu alge-nămol activ în raport de 5:1 a obținut cea mai mare eficiență de eliminare pentru amoniu și fosfor (respectiv $88,0 \pm 1,0\%$ și, respectiv, $84,0 \pm 1,0\%$).

Observând graficul evoluției concentrației de azot total în raport cu timpul (figura 5) se constată că cea mai bună eficiență este în cazul rațiilor de 1:3 și 3:1 nămol activ/*Chlorella srokiniana* de 83%, urmând experimentul cu nămol aerat mecanic cu un randament de 77%, în cazul rației de 1:1 randamentul a ajuns la 66%, iar cel mai mic randament de doar 54% s-a înregistrat la experimentul folosind exclusiv *Chlorella sorokiniana*. Sforza et al., 2018 a raportat o reducere până la 80% din azotul total dizolvat și un consum complet de fosfor când microalgele sunt prezente în consorțiu.

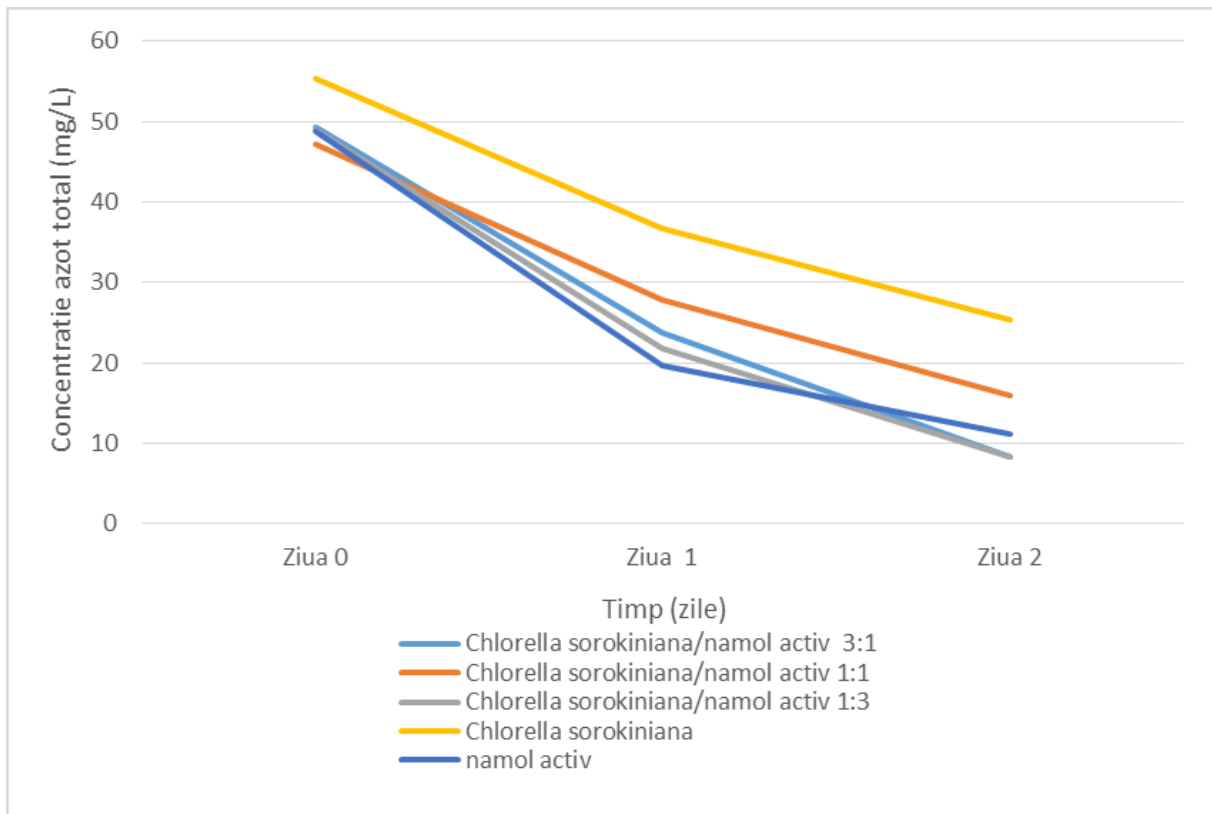


Figura 5. Influența în timp a concentrației azotului total folosind nămol activ, *Chlorella sorokiniana* și diverse combinații între acestea doua.

. Un alt set de experimente s-a făcut măsurând și observând concentrația oxigenului dizolvat. Cele trei experimente se pot vedea în figura 17, pentru a putea trage o concluzie asupra producției și consumului de oxigen din probele de apa. În primul grafic, cel care a înregistrat cea mai mare concentrație de oxigen dizolvat în timpul celor 48 de ore, este experimentul folosind doar *Chlorella sorokiniana*, înregistrările concentrației ajungând la peste 20 mg/l oxigen. În jurnalul de laborator s-a consemnat faptul ca proba de apa s-a încărcat de bule de gaz încă din primele minute de la montarea experimentului, acestea aderând la toate suprafețele care erau în contact cu apa. Vasul în care a avut loc experimentul nu a fost închis, schimbul gazos dintre el și atmosfera ambientală fiind permis în mod permanent.

Graficul 6 al experimentului folosind amestecul de 1:1 nămol activ / *Chlorella sorokiniana* are o reprezentare ascendentă, concentrația de oxigen înregistrată fiind în creștere și totuși situându-se mereu sub graficul reprezentat numai de *Chlorella sorokiniana*, ceea ce poate însemna consumul nămolului activ al oxigenului. În cadrul amestecului, nămolul consuma din oxigenul produs de către *Chlorella sorokiniana*, cantitatea fiind de aproximativ 3 mg/l oxigen dacă facem o comparație între primele doua grafice.

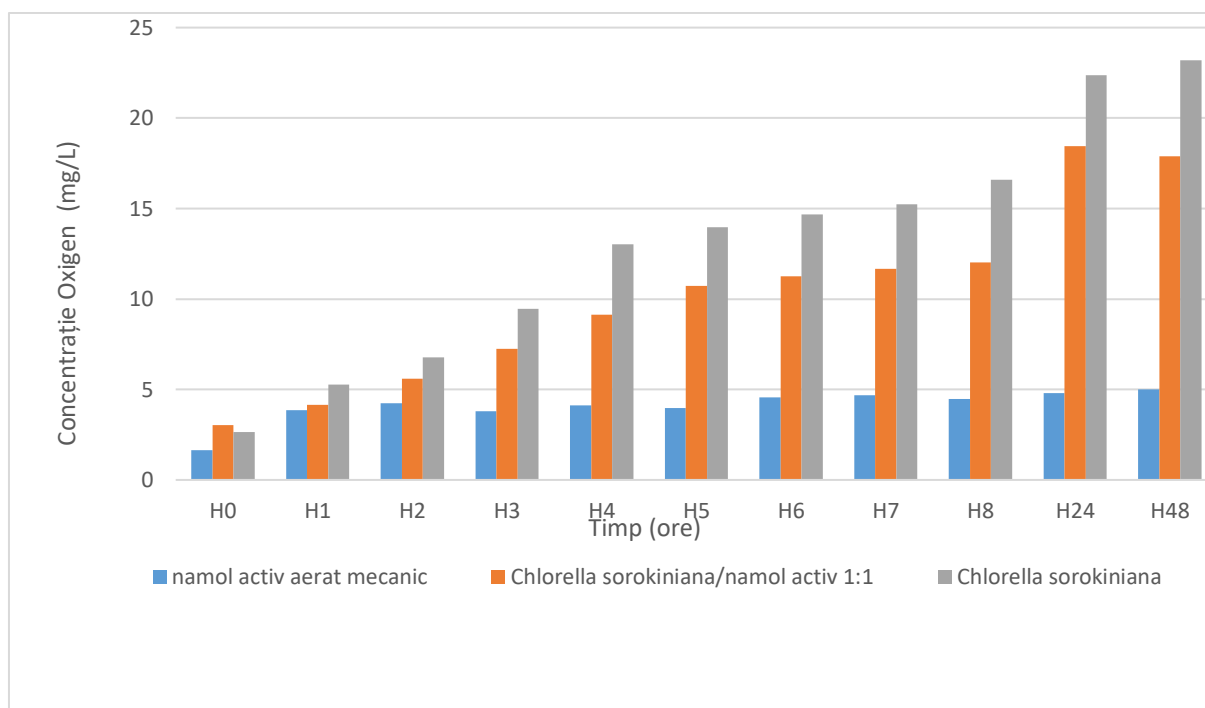


Figura 6. Influența concentrației de oxigen dizolvat în timp

În **capitolul 6** sunt prezentate rezultatele experimentelor pentru înlăturarea nutrienților folosind microorganisme fotosintetizante selectate în mod natural din apa uzată și epurată.

Microorganismele fotosintetizante în aceste experimente s-au selectat natural din apa uzată menajeră, în decurs de 14 zile de la recoltare acestea fiind apoi izolate, clătite cu apă distilată, cântărite, urmând a fi inoculate în diferite probe de apă uzată atât menajeră cât și epurată, recoltată din punctul de deversare a acesteia în receptorul natural. Acestea au fost lăsate libere în cadrul experimentului, libere în apa în care au fost inoculate.

S-a mai dorit observarea diferențelor care apar în cazul iluminării continue, dar și a iluminării 12/24 simulând condițiile naturale de iluminare având în vedere dorința de a putea aplica metoda cea mai eficientă în epurarea la scara largă a apelor uzate menajere. Experimentul s-a montat și în condiții de iluminare continuă și în condiții de iluminare 12/24 pentru ambele tipuri de microorganisme fotosintetizante respectiv mixt de nămol activ și biomasă algală atât în apă uzată, cât și în apă epurată. Timpul de contact a fost stabilit la 5 zile pentru a observa modificările ce apar și pentru a putea stabili un timp de retenție hidraulic optim.

În graficul de mai jos (Figura 7) sunt prezentate curbele determinate pentru fiecare experiment în parte pentru indicatorul CCO. Observând graficele, putem spune că se petrece un fenomen de scădere și apoi de creștere în cazul tuturor experimentelor, atât în cazul iluminării continue respectiv cea 12/24, dar și în cazul experimentelor care foloseau mixtul de microalge

cu nămol activ, respectiv microorganisme fotosintetizante. După primele 24 de ore, experimentul folosind mixtul de nămol activ și biomasă algală în raport de 1:1, în condiții de iluminare discontinuă, consumul chimic de oxigen a scăzut, urmând ca după 48 de ore să crească și tendința s-a menținut până în ziua a cinci-a. S-a observat de asemenea o modificare în structura nămolului activ care prezenta un fenomen de umflare, acesta devenind ușor pufos cu tendințe de risipire după primele 48 de ore și culoarea acestuia s-a modificat de la gri petrol lucios s-a înnegrit. Cel mai probabil, modificarea de structură a nămolului a modificat concentrațiile de CCO din apă, filamente de nămol activ descompunându-se în apă au făcut să crească concentrațiile de CCO. Nămolul activ a început să sufere după primele 24 de ore ajungând să se descompună puțin câte puțin până în ziua a cinci-a. Urmărind și graficul experimentului cu microorganisme fotosintetizante doar, în aceleași condiții de iluminare și temperatură, putem spune că acestea au avut o scădere a concentrației mai liniară care a continuat și după 48 de ore, dar din a treia zi s-au înregistrat de asemenea creșteri ale concentrației de CCO, mai puțin evidente decât în cazul mixtului care conținea și nămol activ, totuși tendința a rămas de creștere până în a cinci-a zi. Cel mai probabil, în probele de apă recoltate s-au găsit și celule de microorganisme fotosintetizante, ori moarte care s-au descompus din biomasa inoculată, ori celule în formare care au fost antrenate de către mișcările apei să se desprindă de biomasă și astfel au ajuns în apa de analizat. Apa astfel recoltată a fost pusă la mineralizat în cadrul analizei de laborator și astfel s-a extras totul din probă. În primele 48 de ore a înregistrat o scădere destul de semnificativă, de aproape 50 mg/l.

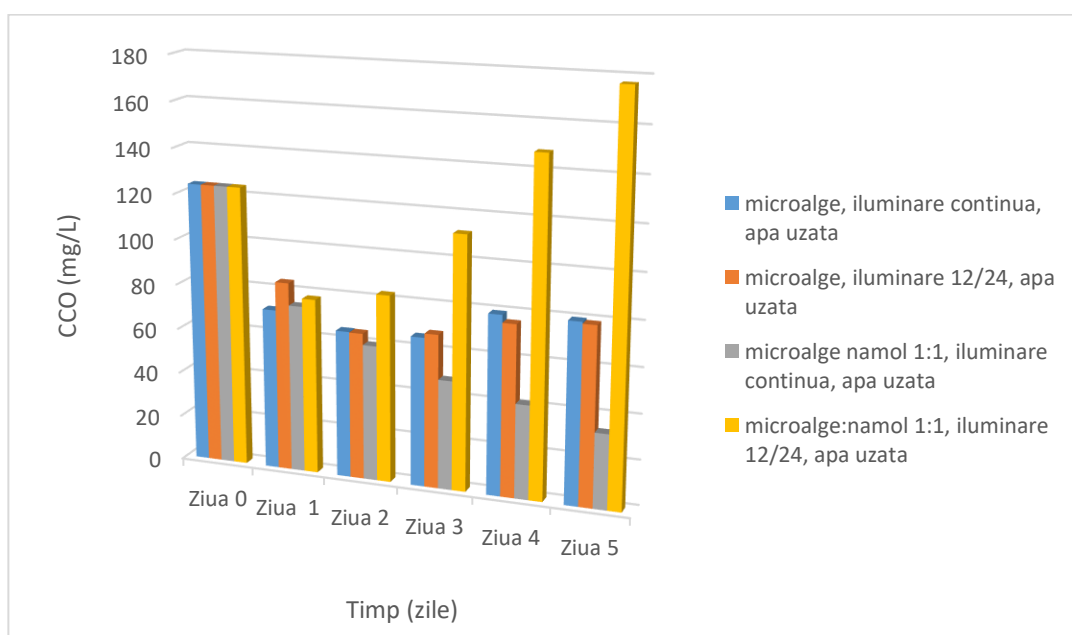


Figura 7. Evoluția în timp a concentrației de CCO în condiții de iluminare continuă și discontinuă atât folosind doar biomasă algală cât și mixt cu nămol activ în apă uzată

În figura 8 se pot observa variațiile concentrației de azot total înregistrate de către cele patru experimente montate. Majoritatea curbelor au tendințe asemănătoare, mai puțin curba experimentului folosind mixt de nămol activ și microorganisme fotosintetizante sub iluminare discontinuă. La acest grafic observăm o scădere semnificativă în primele 24 de ore și apoi o tendința de creștere slabă în cursul celorlalte patru zile. Având în vedere observațiile făcute pe nămolul din cadrul experimentului după primele 24 de ore în care s-a observat fenomenul de umflare, nămolul a fost suferind și a primit mai puțin oxigen decât ar fi avut nevoie, nu este de mirare acest comportament.

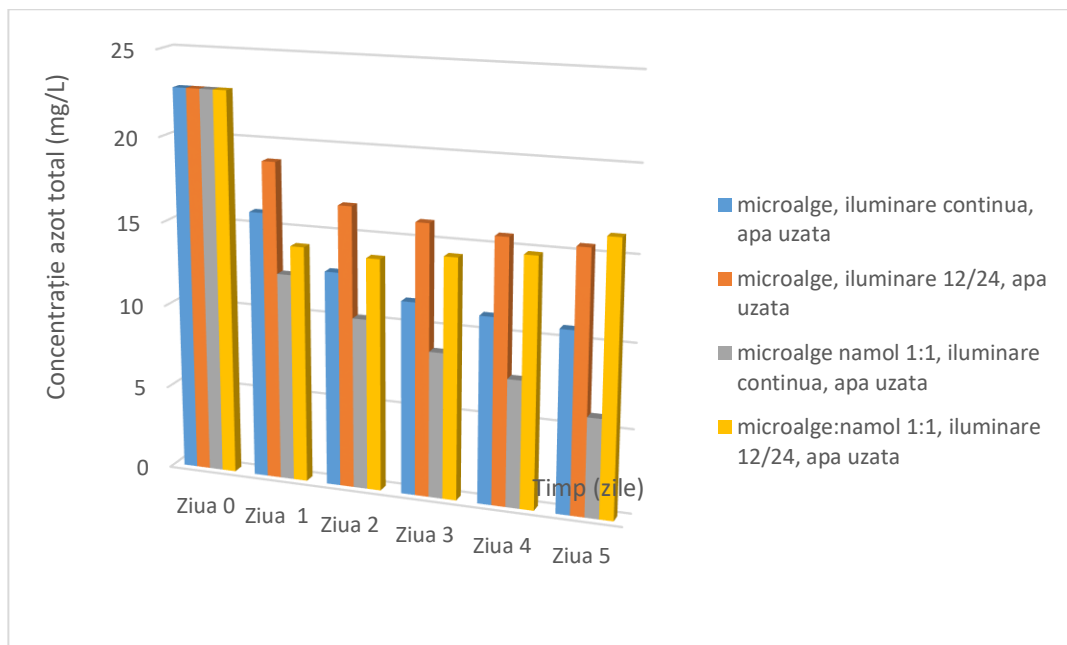


Figura 8. Evoluția în timp a concentrației de azot total în condiții de iluminare continuă și discontinuă atât folosind doar biomasă algală cât și mixt cu nămol activ în apă uzată

În figura 9 se prezintă concentrația de fosfor total în raport cu timpul pentru cele 4 experimente. Observând graficele se vede foarte clar o curba atipică și total diferită fata de celelalte. Aceea este de la experimentul folosind mixtul de nămol activ și biomasă algală iluminată 12 ore din 24. Se observă clar o diminuare a concentrației de fosfor dar numai în primele 48 de ore, scăderea cea mai mare apărând în primele 24 de ore, iar din a treia zi crește vertiginos concentrația de fosfor din apa de analizat. Putem presupune ca ceva s-a întâmplat și cel mai probabil, nămolul activ care a suferit vizibil, a început să se descompună în apă dizolvându-se. Lipsa oxigenului l-a făcut să sufere și să nu se mai dezvolte normal.

Experimentul folosind doar biomasa algală sub iluminare discontinuă a avut rezultate bune încă din primele 24 de ore și a continuat să consume fosforul total înregistrând în fiecare zi reduceri semnificative. Având în vedere concentrația mare de fosfor total din apa uzată menajeră, a reușit să ajungă în 5 zile la o concentrație sub 1 mg/l, limita prevăzută de legislația în vigoare privitoare la deversarea apelor epurate.

În cazul experimentelor sub iluminare continuă s-au înregistrat scăderi mai mari dar totuși comparabile cu experimentul doar cu biomasa algală iluminată 12/24. Experimentul folosind mixtul de nămol activ/microalge a înregistrat o scădere a fosforului total sub limita de detecție încă din ziua a patra, pe când experimentul doar cu biomasa algală a avut scădere comparabilă cu experimentul cu microorganisme fotosintetizante iluminat discontinuu, randamentul de consum al fosforului total fiind doar puțin mai bun. Cel mai probabil, biomasa algală a fost mai activă în prezența luminii, de aici diferența de consum al fosforului, pe când în prezența întunericului, metabolismul a intrat într-o ușoară încetinire. Fosforul a fost detectat în concentrații mai mari, fără aerare, biomasa algală, în perioada de întuneric (11.6 mg/l) față de perioada de lumină (6.79 mg/l), iar fosforul analizat la sfârșitul ciclului de întuneric a fost doar puțin mai mic decât cel determinat în condițiile de lumină (Cai et al., 2019).

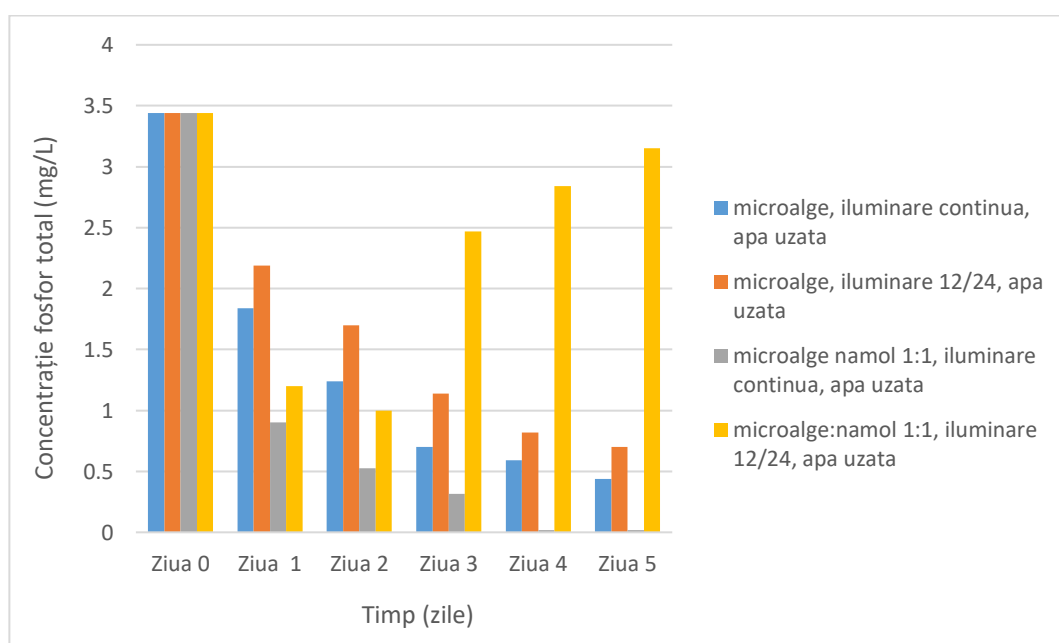


Figura 9. Evoluția în timp a concentrației de fosfor total în condiții de iluminare continuă și discontinuă atât folosind doar biomasă algală cât și mixt cu nămol activ în apă uzată.

Randamentul de eliminare al fosforului este maxim în experimentul mixtului de nămol activ, microorganismele fotosintetizante iluminate continuu, reducându-se încă din primele 24

de ore 74%, 85% în a doua zi, 91% în ziua a treia și 99% în zilele patru și cinci. În cazul celui cu iluminare discontinuă, s-a înregistrat un randament de 65% și 71% în prima zi, respectiv a doua.

Concluzii generale

- ✓ Timpul de contact optim este de până la 4 zile folosind microorganisme fotosintetizante, cea mai drastică scădere se înregistrează în primele două zile, iar după aceste două zile, concentrațiile nutrienților se modifică destul de puțin, pe când un timp de contact mai mare de 4 zile pare să influențeze concentrația de fosfor din apă, aceasta începând să crească, cauza principală putând fi descompunerea microorganismelor fotosintetizante în apa ulterior analizată.
- ✓ Înlăturarea eficientă a nutrienților se face cu ajutorul microorganismelor fotosintetizante atât în apele epurate având concentrații mai mici de azot și fosfor dar și în apele uzate menajere, puternic concentrate în nutrienți cu condiția de a mari semnificativ cantitatea de biomasă.
- ✓ Analizând rezultatele concentrațiilor zilnice îndepărtate de biomasa de *Chlorella sorokiniana* UTEX 1230 imobilizată, se poate concluziona că după a doua zi de la contact, în cazul tuturor nutrienților, nu au existat diferențe semnificative pentru zilele ce au urmat; stabilind pentru acest set de experimente un timp optim de retenție hidraulică de 2 zile.
- ✓ Cel mai bun randament de eliminare al nutrienților înregistrat folosind microorganisme fotosintetizante a fost de 33% și 80% pentru azot total respectiv fosfor total, în apa uzată și de 79% și 67% pentru azot total respectiv fosfor total, în apa epurată
- ✓ Cel mai bun randament de eliminare al nutrienților folosind *Chlorella sorokiniana* UTEX 1230 a fost de 90% și 98% pentru azot total respectiv fosfor total, în apa epurată.
- ✓ Cel mai mare randament de înlăturare a CCO-ului înregistrat a fost de 91% la proporția de 3:1 nămol activ/*Chlorella sorokiniana* ;
- ✓ Concentrația de amoniu a avut o îndepărtare foarte eficientă de 100% în cazul amestecului *Chlorella sorokiniana* / nămol activat în proporție de 3:1. În cazul

experimentului cu nămol simplu activ, randamentul de eliminare a amoniului a fost de 99%.

- ✓ Concentrația fosforului total a avut o diminuare mai mare în amestecul *Chlorella sorokiniana* / nămol activat de 3:1 cu o rată de reducere de 95%.
- ✓ Concentrația azotului total a scăzut cel mai mult în rapoartele de nămol activ / *Chlorella sorokiniana* de 1:3 și 3:1 înregistrând o eficiență de 83%.
- ✓ Nămolul activ a avut un consum de oxigen dizolvat de aproximativ 3mg/l în amestecul de nămol activ / *Chlorella sorokiniana* 1:1 în timpul experimentului folosind apă uzată menajeră
- ✓ În concluzie, simbioza dintre biomasa algală formată natural din apa uzată menajeră și nămolul activ recoltat din stația de epurare pentru experimentele efectuate, este una benefică în special pentru îndepărtarea nutrienților din apa uzată, dar și din punct de vedere financiar, nemaifiind nevoie de o aerare mecanică suplimentară în condiții de iluminare continuă, biomasa algală producând cantități foarte mari de oxigen, nămolul activ folosind o parte destul de mică din toată producția.

Bibliografie selectivă

1. Arbib Z., J. Ruiz, P. Álvarez-Díaz, C. Garrido-Pérez, and J. A. Perales, "Capability of different microalgae species for phytoremediation processes: Wastewater tertiary treatment, CO₂ bio-fixation and low cost biofuels production," *Water Research*, vol. 49, pp. 465–474, 2014.
2. Adav, S.S., Lee, D.-J., Show, K.-Y., Tay, J.-H., Aerobic granular sludge: recent advances. *Biotechnol. Adv.* 26, 411e423, 2008.
3. Ahmad, J.S.M., Cai, W., Zhao, Z., Zhang, Z., Shimizu, K., Lei, Z., Lee, D.-J., Stability of algal-bacterial granules in continuous-flow reactors to treat varying strength domestic wastewater. *Bioresour. Technol.* 244, 225e233, 2017.
4. Ahmed I A Alalawy , Waleed M Sh Alabdraba and Ebrahim A Omer, Nutrients and organic matters removal of ospitals wastewater by microalgae, *Journal of Physics: Conf. Series* 1294, 072002, 2019.
5. Arun S., N. Arul Manikandan, Kannan Pakshirajan, G. Pugazhenthii, Novel shortcut biological nitrogen removal method using an algae-bacterial consortium in a photo-

- sequencing batch reactor: Process optimization and kinetic modelling, *Journal of Environmental Management* 250, 109401, 2019.
6. Aslan, S., & Kapdan, I. K., Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae. *Ecological Engineering*, 28, 64–70, 2006.
 7. Azianabiha A. Halip Khalid, Zahira Yaakob, Siti Rozaimah Sheikh Abdullah, Mohd Sobri Takriff, Analysis of the elemental composition and uptake mechanism of *Chlorella sorokiniana* for nutrient removal in agricultural wastewater under optimized response surface methodology (RSM) conditions, *Journal of Cleaner Production* 210, 673-686, 2019.
 8. Beuckels A., E. Smolders, and K. Muylaert, “Nitrogen availability influences phosphorus removal in microalgae-based wastewater treatment,” *Water Research*, vol. 77, pp. 98–106, 2015.
 9. Barros, A.I., Goncalves, A.L., Simoes, M., Pires, J.C.M., Harvesting techniques applied to microalgae: a review. *Renew. Sus. Energ. Rev.* 41, 1489e1500, 2015.
 10. Beuckels, A., Smolders, E., & Muylaert, K., Nitrogen availability influences phosphorus removal in microalgae-based wastewater treatment. *Water Research*, 77, 98–106, 2015.
 11. Cai, T., Park, S. Y., & Li, Y., Nutrient recovery from wastewater streams by microalgae: Status and prospects. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 19, 360–369, 2013.
 12. Cai, W., Huang, W., Li, H., Sun, B., Xiao, H., Zhang, Z., Lei, Z., Acetate favors more phosphorus accumulation into aerobic granular sludge than propionate during the treatment of synthetic fermentation liquor. *Bioresour. Technol.* 214, 596e603, 2016.
 13. Cai, W., Jin, M., Zhao, Z., Lei, Z., Zhang, Z., Adachi, Y., Lee, D.-J., Influence of ferrous iron dosing strategy on aerobic granulation of activated sludge and bioavailability of phosphorus accumulated in granules. *Bioresour. Technol. Rep.* 2, 7e14, 2018.
 14. by the green alga *Chlorella sp.*, *Journal of Environmental Biology*, April 2013
 15. Chevalier P, Proulx D, Lessard P, Vincent W.F., De la Noue J., Nitrogen and phosphorus removal by high latitude mat-forming cyanobacteria for potential use in tertiary wastewater treatment. *J. Appl. Phycol* 12, 105-112, 2000.
 16. Christenson, L., Sims, R., Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels, and bioproducts. *Biotechnol. Adv.* 29, 686e702, 2011.
 17. Cho, Y., Kim, S., Park, H. et al. Removal of inorganic pollutants in rainwater by a peat-derived porous material. *J Porous Mater* 21, 387–394, 2014.

18. Chun-Yen Chen, En-Wei Kuo, Dillirani Nagarajan, Shih-Hsin Ho, Cheng-Di Dong, Duu-Jong Lee, Jo-Shu Chang, Cultivating *Chlorella sorokiniana* AK-1 with swine wastewater for simultaneous wastewater treatment and algal biomass production, *Bioresource Technology* Volume 302, 122814, April 2020.
19. Cong-Cong Tang, Yu Tian*, Heng Liang, Wei Zuo, Zhen-Wei Wang, Jun Zhang, Zhang-Wei He, Enhanced nitrogen and phosphorus removal from domestic wastewater via algae-assisted sequencing batch biofilm reactor, *Bioresource Technology* 250, 185-190, 2018.
20. Da Li, Philip Kwabena Amoah, Biao Chen, Chunye Xue, Xiaoli Hu, Kun Gao, Xiangyuan Deng, Feasibility of Growing *Chlorella sorokiniana* on Cooking Cocoon Wastewater for Biomass Production and Nutrient Removal, *Applied Biochemistry and Biotechnology* 188:663–676, 2019
21. De-Bashan, L.E., Bashan, Y., Immobilized microalgae for removing pollutants: review of practical aspects. *Bioresour. Technol.* 101, 1611e1627, 2010.
22. Eleonora Sforza, Martina Pastore, Alessandro Spagni, Alberto Bertucco, Microalgae-bacteria gas exchange in wastewater: how mixotrophy may reduce the oxygen supply for bacteria, *Environmental Science and Pollution Research*, 25:28004–28014, 2018.
23. Elham Amini, Azadeh Babaei, Mohammad Reza Mehrni, Jalal Shayegan, Mohammad-Saeed Safdaria Municipal wastewater treatment by semi-continuous and membrane algalbacterial photo-bioreactors *Journal of Water Process Engineering* 36, 101274, 2020.
24. Emeka G. Nwoba, Bede S. Mickan, Navid R. Moheiman, *Chlorella sp.* growth under batch and fed-batch conditions with effluent recycling when treating the effluent of food waste anaerobic digestate, *Journal of Applied Phycology* 31:3545–3556, 2019.
25. Esther Posadas, Pedro-Antonio García-Encina, Anna Soltau, Antonio Domínguez, Ignacio Díaz, Raúl Muñoz, „Carbon and nutrient removal from centrates and domestic wastewater using algal–bacterial biofilm bioreactors”, *Bioresource Technology* 139, 50-58, 2013.
26. Farahdiba A U, W Budiantoro, A Yulianto, Ammonia removal from Yogyakarta Domestic Wastewater (WWTP-SEWON) by microalgae reactor with CO₂ addition, *Earth and Environmental Science* 245, 012019, 2019.
27. Fatemeh Poursagharian Roudsari, Mohammad Reza Mehrnia, Akram Asadi, Zohreh Moayedi, Reza Ranjbar, Effect of Microalgae/Activated Sludge Ratio on Cooperative

- Treatment of Anaerobic Effluent of Municipal Wastewater, *Appl Biochem Biotechnol*, 172:131–140, 2014.
28. Fernández-Linares L.C., Guerrero Barajas C., Durán Páramo E., Badillo Corona J.A. , Assessment of *Chlorella vulgaris* and indigenous microalgae biomass with treated wastewater as growth culture medium, *Bioresource Technology*, Volume 244, Part 1, Pages 400-406, 2017.
 29. García, J., Hernández-Mariné, M., Mujeriego, R., Influence of phytoplankton composition on biomass removal from high-rate oxidation lagoons by means of sedimentation and spontaneous flocculation. *Water Environ. Res.* 72, 230–237, 2000.
 30. Gao F., C. Li, Z. H. Yang, G. M. Zeng, J. Mu, M. Liu, and W. Cui, “Removal of nutrients, organic matter, and metal from domestic secondary effluent through microalgae cultivation in a membrane photobioreactor,” *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, vol. 91, no. 10, pp. 2713–2719, 2016.
 31. Ghulam Mujtaba, Muhammad Rizwan, and Kisay Lee, Biological Treatment of Municipal Wastewater Using Green Microalgae and Activated Sludge as Combined Culture, *Frontiers in Water-Energy-Nexus—Nature-Based Solutions, Advanced Technologies and Best Practices for Environmental Sustainability* pp 393-396, 2019.
 32. González, C., Marciniak, J., Villaverde, S., García-Encina, P.A., Muñoz, R., Microalgae-based processes for the biodegradation of pretreated piggery wastewaters. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 80, 891–898, 2008.
 33. Grigore Antipa : Marea Neagră, Academia Română, București, pp. 55-64, 1941.
 34. Groeneweg, J., Klein, B., Mohn, F.H., Runkel, K.H., Stengel, E., 1980. First results of outdoor treatments of pig manure with algal–bacterial biomass. *Algae Biomass*, 255–264, 1980.
 35. Guieysse B., Borde X., Munoz R, Hatti-Kaul R, Nugier-Chauvin C, Influence of the initial composition of algal bacterial microcosms on the degradation of salicylate in fed batch culture. *Biotechnol. Lett.* 24, 531-538, 2002.
 36. Guzzon, A., Bohn, A., Diociaiuti, M., Albertano, P., Cultured phototrophic biofilms for phosphorus removal in wastewater treatment. *Water Res.* 42, 4357–4637, 2008.
 37. Hamed Eladel, Abd El-Fatah Abomohra, Mohamed Battah, Soha Mohammed, Aly Radwan, Hany Abdelrahim, Evaluation of *Chlorella sorokiniana* isolated from local municipal wastewater for dual application in nutrient removal and biodiesel production, *Bioprocess and Biosystems Engineering* 42:425–433, 2019.

38. Han Zhanga, Weijia Gongb, Langming Baia, Rui Chena, Weichen Zenga, Zhongsen Yana, Guibai Lia, Heng Lianga, Aeration-induced CO₂ stripping, instead of high dissolved oxygen, have a negative impact on algae–bacteria symbiosis (ABS) system stability and wastewater treatment efficiency, *Chemical Engineering Journal* 382, 122957, 2020.
39. He P.J., Mao B., Lü F., Shao L.M., Lee D.J., Chang J.S., The combined effect of bacteria and *Chlorella vulgaris* on the treatment of municipal wastewaters, *Bioresource Technology* 146, 562–568, 2013.
40. Higgins, B.T., Kendall, A., Life cycle environmental and cost impacts of using an algal turf scrubber to treat dairy wastewater. *J. Ind. Ecol.* 16, 436–447, 2012.
41. Hu, Y., Hao, X., van Loosdrecht, M., Chen, H., Enrichment of highly settleable microalgal consortia in mixed cultures for effluent polishing and low-cost biomass production. *Water Res.* 125, 11e22, 2017.
42. Huang, W., Li, B., Zhang, C., Zhang, Z., Lei, Z., Lu, B., Zhou, B., Effect of algae growth on aerobic granulation and nutrients removal from synthetic wastewater by using sequencing batch reactors. *Bioresour. Technol.* 179, 187e192, 2015a.
43. Huang, W., Huang, W., Li, H., Lei, Z., Zhang, Z., Tay, J.H., Lee, D.-J., Species and distribution of inorganic and organic phosphorus in enhanced phosphorus removal aerobic granular sludge. *Bioresour. Technol.* 232, 64e71, 2015b.
44. Illman, A.M., Scragg, A.H., Shales, S.W., 2000. Increase in *Chlorella* strains calorific values when grown in low nitrogen medium. *Enzyme Microb. Technol.* 27, 631– 635, 2000.
45. Jie Fan,, Yue Chen, Tian C Zhang, Bin Ji, Liang Cao, Performance of *Chlorella sorokiniana*-activated sludge consortium treating wastewater under light-limited heterotrophic condition, *Chemical Engineering Journal* 382, 122799, 2020.
46. Kedede-Westhead, E., Pizarro, C., Mulbry, W.W., Treatment of dairy manure effluent using freshwater algae: elemental composition of algal biomass at different manure loading Rates. *J. Agric. Food Chem.* 52, 7293–7296, 2004.
47. Keerthi Katam, Debraj Bhattacharyya, Effect of solids retention time on the performance of alga-activated sludge association in municipal wastewater treatment and biofuel production, *Journal Of Applied Phycology*, 2020
48. Lee, K., Lee, C.-G., Effect of light/dark cycles on wastewater treatments by microalgae. *Biotechnol. Bioproc. Eng.* 6, 194e199, 2001.

49. Liang Wang, Min Min, Yecong Li, Paul Chen, Yifeng Chen, Yuhuan Liu, Yingkuan Wang, Roger Ruan, Cultivation of Green Algae *Chlorella sp.* in Different Wastewaters from Municipal Wastewater Treatment Plant Liang Wang, Applied biochemistry and biotechnology 162(4):1174-86, November 2009
50. Liang, Z.J., Liu, Y., Ge, F., Xu, Y., Tao, N.G., Peng, F., Wong, M.H., Efficiency assessment and pH effect in removing nitrogen and phosphorus by algae-bacteria combined system of *Chlorella vulgaris* and *Bacillus licheniformis*. Chemosphere 92, 1383e1389, 2013.
51. Liu, L., Fan, H.Y., Liu, Y.H., Liu, C.X., Huang, X., Development of algae-bacteria granular consortia in photo-sequencing batch reactor. Bioresour. Technol. 232, 64e71, 2017.
52. Liu, C.X., Characteristics and performance of aerobic algae-bacteria granular consortia in a photo-sequencing batch reactor. J. Hazard Mater. 349, 135e142, 2018.
53. Liu, Z., Liu, Y.J., Zhang, A.N., Zhang, C., Wang, X.C., Study on the process of aerobic granule sludge rapid formation by using the poly aluminum chloride (PAC). Chem. Eng. J. 250, 319e325, 2014.
54. Long, B., Yang, C.-Z., Pu, W.-H., Yang, J.-K., Jiang, G.-S., Dan, J.-F., Li, C.-Y., Liu, F.-B., Rapid cultivation of aerobic granular sludge in a pilot scale sequencing batch reactor. Bioresour. Technol. 166, 57e63, 2014.
55. Martinez, M. E., Sanchez, S., Jimenez, J. M., Yousfi, F. E., & Munoz, L., Nitrogen and phosphorus removal from urban wastewater by the microalga *Scenedesmus obliquus*. Bioresource Technology, 73, 263–272, 2000.
56. Maxence Plouviez, Paul Chambonnière, Andy Shilton, Michael A. Packer, Benoit Guieysse, Nitrous oxide (N₂O) emissions during real domestic wastewater treatment in an outdoor pilot-scale high rate algae pond, Algal Research 44, 101670, 2019.
57. Metcalf, Eddy, Wastewater Engineering and Reuse, fourth ed. Mc. Graw Hill, 2003.
58. Mihai Ielenicz, Dicționar de geografie fizică, ed. Corint, București, 1999 ;
59. Milledge J. J. and S. Heaven, “A review of the harvesting of micro-algae for biofuel production,” *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, vol. 12, no. 2, pp. 165–178, 2013.
60. Mohamad Shurair, Fares Almomani, Simon Judd, Rahul Bhosale, Anand Kumar, Ujjal Gosh, Majeda Khreisheh, Advanced wastewater treatment using microalgae: effect of temperature on removal of nutrients and organic carbon, Earth and Environmental Science 67, 012032, 2017.

61. Moisescu C., Ardelean A. V., Ardelean I., Selection of photosynthetic microorganisms consortia able to remove nitrate and phosphorous, to be further use in RAS, Conference proceedings, (eds. Vesene Polesik, Bozidar Raskovic, Zoran Markovic), University of Belgrade- Faculty of Agriculture, p.379-383, 2018.
62. Mulbry, W., Westhead, E.K., Pizarro, C., Sikora, L., Recycling of manure nutrients: use of algal biomass from dairy manure treatment as a slow release fertilizer. *Bioresour. Technol.* 96, 451e458, 2005.
63. Mulbry W., Kondrad S., Pizarro C., Kebede- Westhead E., Treatment of dairy manure effluent using freshwater algae: algal productivity and recovery of manure nutrients using pilot-scale algal turf scrubbers. *Bioresour. Technol.* 99, 8137–8142, 2008.
64. Muñoz, R., Guieysse, B., Algal–bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: a review. *Water Res.* 40, 2799–2815, 2006.
65. Muñoz, R., Köllner, C., Guieysse, B., Biofilm photobioreactors for the treatment of industrial wastewaters. *J. Hazard. Mater.* 161, 29–34, 2009.
66. Murphy, T.E., Berberog, H., Temperature fluctuation and evaporative loss rate in an algae biofilm photobioreactor. *J. Sol. Energy Eng.* 134, 011002, 2012.
67. Murwanashyaka T, Shen L, Ndayambaje J.D., Wang Y., He N., Lu Y., Kinetic and transcriptional exploration of *Chlorella sorokiniana* in heterotrophic cultivation for nutrients removal from wastewaters, *Algal Research*, Volume 24, Part B, Pages 467-476, 2017.
68. Nyok-Sean L., Minami M. and Amirul Al-Ashraf A., Cyanobacteria: Photoautotrophic Microbial Factories for the Sustainable Synthesis of Industrial Products, *BioMed Research International*, 2015.
69. Park, J.B.K., Craggs, R.J., Shilton, A.N., Recycling algae to improve species control and harvest efficiency from a high rate algal pond. *Water Res.* 45, 6637– 6649, 2011.
70. Patureau, D., N. Bernet, and R. Moletta, Effect of oxygen on denitrification in continuous chemostat culture with *Comamonas* sp. strain SGLY2. *J. Ind. Microbiol.* 16:124–128, 1995.
71. Petrie B., R. Barden, and B. Kasprzyk-Hordern, “A review on emerging contaminants in wastewaters and the environment: Current knowledge, understudied areas and recommendations for future monitoring,” *Water Research*, vol. 72, no. 0, pp. 3–27, 2014.
72. Pizarro, C., Kebede-Westhead, E., Mulbry, W., Nitrogen and phosphorus removal rates using small algal turfs grown with dairy manure. *J. Appl. Phycol.* 14, 469–473, 2002.

73. Posadas, E., Morales, M. D. M., Gomez, C., Acien, F. G., & Munoz, R., Influence of pH and CO₂ source on the performance of microalgae-based secondary domestic wastewater treatment in outdoors pilot raceways. *Chemical Engineering Journal*, 265, 239–248, 2015.
74. Qu, C.B., Wu, Z.Y., Shi, X.M., Phosphate assimilation by *Chlorella* and adjustment of phosphate concentration in basal medium for its cultivation. *Biotechnol. Lett.* 30, 1735e1740, 2008.
75. Renuka, Nirmal, Sood, Anjuli, Ratha, Sachitra Kumar, Ahluwalia, R., Evaluation of microalgal consortia for treatment of primary treated sewage effluent and biomass production. *Journal of Applied Phycology*. 25. 10.1007/s10811-013-9982-x, 2013.
76. Renuka, N., Sood, A., Ratha, S.K., Prasanna, R., Ahluwalia, A.S., Nutrient sequestration, biomass production by microalgae and phytoremediation of sewage water. *Int. J. Phytoremediat.* 15, 789e800, 2013.
77. Ruban, V., Lopez-Sanchez, J., Pardo, P., Rauret, G., Muntau, H., Quevauviller, P., Selection and evaluation of sequential extraction procedures for the determination of phosphorus forms in lake sediment. *J. Environ. Monit.* 1, 51e56, 1999.
78. Sawayama, S., T. Minowa, Y. Dote and S. Yokoyama: Growth of the hydrocarbon-rich microalga *Botryococcus braunii* in secondarily treated sewage. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 38, 135-138, 1992.
79. Scholten, E., T. Lukow, G. Auling, R. M. Kroppenstedt, F. A. Rainey, and H. Dielmann, *Thaurea mecharnichensis* sp. nov., an aerobic denitrifier from a leachate treatment plant. *Int. J. Sys. Bacteriol.* 49:1045–1051, 1999.
80. Scott J. Edmundson, Michael H. Huesemann, The dark side of algae cultivation: Characterizing night biomass loss in three photosynthetic algae, *Chlorella sorokiniana*, *Nannochloropsis salina* and *Picochlorum* sp., *Algal Research* 12, 470–476, 2015.
81. Shi, J., Podola, B., Melkonian, M., Removal of nitrogen and phosphorus from wastewater using microalgae immobilized on twin layers: an experimental study. *J. Appl. Phycol.* 19 (5), 417–423, 2007.
82. Shouliang Huo, Beidou Xi, Honglei Yu, Yanwen Qin, Fengyu Zan and Jingtian Zhang, Characteristics and transformations of dissolved organic nitrogen in municipal biological nitrogen removal wastewater treatment plants, *Environmental Research Letters*, 8, 044005, 2013.
83. Sood A., Renuka N., Prasanna R., Ahluwalia A.S., Cyanobacteria as Potential Options for Wastewater Treatment. *Phytoremediation*. Springer, Cham, 2015.

84. SR ISO 6107-2, 6107-3, 6107-4 – calitate apei – vocabular
85. Su, Yanyan, Mennerich, Artur, Comparison of nutrient removal capacity and biomass settleability of four high-potential microalgal species. *Bioresource technology*. 124. 157-62. 10.1016/j.biortech.2012.08.037, 2012.
86. Tang C., W. Zuo, Y. Tian, N. Sun, Z. Wang, J. Zhang, Effect of aeration rate on performance and stability of algal-bacterial symbiosis system to treat domestic wastewater in sequencing batch reactors, *Bioresour. Technol.* 222, 156–164, 2016.
87. Taojing Chen, Quanyu Zhao, Liang Wang, Yunfeng Xu, Wei Wei Comparative Metabolomic Analysis of the Green Microalga *Chlorella sorokiniana* Cultivated in the Single Culture and a Consortium with Bacteria for Wastewater Remediation, *Appl Biochem Biotechnol* 183:1062–1075, 2017.
88. Tengku Dahril, Aras Mulyadi and Eddywan, A prospect to develop *Chlorella* industry in Riau Province, Indonesia, *Earth and Environmental Science* 460, 012042, 2020.
89. Tiron O, C. Bumbac, I. V. Patroescu, V. R. Badescu, C. Postolache; Granular activated algae for wastewater treatment. *Water Sci Technol*; 71 (6): 832–839, 2015.
90. Tiron, O., Bumbac, C., Manea, E., Stefanescu, M., Lazar, M.N., Overcoming microalgae harvesting barrier by activated algae granules. *Sci. Rep.* 7, 4646, 2017.
91. Wang J.-H., T.-Y. Zhang, G.-H. Dao, X.-Q. Xu, X.-X. Wang, and H.-Y. Hu, “Microalgae-based advanced municipal wastewater treatment for reuse in water bodies,” *Applied Microbiology and Biotechnology*, pp. 2659–2675, 2017.
92. Wang, L., Li, Y., Chen, P., Min, M., Chen, Y., Zhu, J., Ruan, R.R., Anaerobic digested dairy manure as a nutrient supplement for cultivation of oil-rich green microalgae *Chlorella sp.* *Bioresour. Technol.* 101, 2623e2628, 2010.
93. Wang, M., Kuo-Dahab, W.C., Dolan, S., Park, C., Kinetics of nutrient removal and expression of extracellular polymeric substances of the microalgae, *Chlorella sp.* and *Micractinium sp.*, in wastewater treatment. *Bioresour. Technol.* 154, 131e137, 2014.
94. Wei Cai, Ziwen Zhao, Dawei Li, Zhongfang Lei, Zhenya Zhang, Duu-Jong Lee, ,Algae granulation for nutrients uptake and algae harvesting during wastewater treatment’*Chemosphere* 214, 55-59, 2019.
95. Whitton R., F. Ometto, and M. Pidou, “Microalgae for municipal wastewater nutrient remediation: mechanisms, reactors and outlook for tertiary treatment,” *Environmental Technology Reviews*, vol. 4, no. 1, pp. 133–148, 2015.

96. Xingyu Chen, Zhan Hu, Yun Qi*, Chunfeng Song, Guanyi Chen, The interactions of algae-activated sludge symbiotic system and its effects on wastewater treatment and lipid accumulation, *Bioresource Technology* 292, 122017, 2019.
97. Yanyan S, Mennerich A., Urban B., Synergistic cooperation between wastewater-born algae and activated sludge for wastewater treatment: Influence of algae and sludge inoculation ratios, *Bioresource Technology* 105, 67-73, 2012.
98. Yecong Li, Yi-Feng Chen, Paul Chen, Min Min, Wenguang Zhou, Blanca Martinez, Jun Zhu, Roger Ruan, Characterization of a microalga *Chlorella sp.* well adapted to highly concentrated municipal wastewater for nutrient removal and biodiesel production, *Bioresource Technology* Volume 102, Pages 5138-5144, 2011.
99. Yue Huang, Li Luo, Ke Xu, Xiaochang C. Wang, Characteristics of external carbon uptake by microalgae growth and associated effects on algal biomass composition, *Bioresource Technology* 292, 121887, 2019.
100. Yunardi, E Munawar, Hisbullah, W Rinaldi, U Fathanah M I Djawad, A green engineering approach to simultaneously removing organic and nitrogenous substances in wastewater, *Earth and Environmental Science* 343, 012004, 2019.
101. Zarnea G., General microbiology, Publishing House of the Academy of Socialist Republic of Romania, volume 5, pp 1039-1045, 1994.
102. Zemke-White, W. L., Clements, K. D., & Harris, P. J., Acid lysis of macroalgae by marine herbivorous fishes: effects of acid pH on cell wall porosity. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 245(1), 57–68. 40, 2000.
103. Zhang, S., Kim, T.-H.H., Han, T.H., Hwang, S.-J.J., Hiep Han, T., Hwang, S.-J.J., Influence of light conditions of a mixture of red and blue light sources on nitrogen and phosphorus removal in advanced wastewater treatment using *Scenedesmus dimorphus*. *Biotechnol. Bioproc. Eng.* 20, 760e765, 2015.