

UDK/UDC: 582.263:628.31

Prejeto/Received: 21.08.2017

Strokovni članek – Professional paper

Sprejeto/Accepted: 25.10.2017

UČINKOVITOST ZELENIH MIKROALG ZA ČIŠČENJE DIGESTATA THE EFFICIENCY OF GREEN MICROALGAE FOR TREATMENT OF DIGESTATE

Tilen Klemenčič¹, Pija Klemenčič², Miha Žitnik^{3*}

¹Gimnazija Poljane, Strossmayerjeva ulica 1, 1000 Ljubljana

²Osnovna šola Louisa Adamiča Grosuplje, Tovarniška cesta 14, 1290 Grosuplje

³Zdravstvena fakulteta, Univerza v Ljubljani, Zdravstvena pot 5, 1000 Ljubljana

Izvleček

V prispevku smo raziskovali učinkovitost čiščenja digestata s pomočjo zelene mikroalge *Chlorella vulgaris* in mešanice treh vrst zelenih mikroalg. Za raziskavo smo uporabili digestat iz bioplinarne, ki za proizvodnjo bioplina uporablja različne organske materiale, kot so živalske kože, odpadna jedilna olja, živalski stranski proizvodi in živila s pretečenim rokom uporabe. Raziskava je potekala 14 dni v laboratorijskih pogojih. Rezultati so pokazali, da je bila vsebnost hranil v uporabljenem digestatu majhna, zato je bil ta manj primeren za uspevanje alg. Zelena mikroalga *C. vulgaris* se je izkazala za znatno bolj učinkovito za odstranjevanje hranil iz digestata kot mešana kultura alg. V vzorcih s *C. vulgaris* smo dosegli 94 % zmanjšanje fosfatov in 23 % zmanjšanje nitratov, medtem ko se je v vzorcih mešane kulture alg vsebnost fosfatov zmanjšala le za 14 %, vsebnost nitratov pa se je celo povečala. Razlog je lahko bil slabo stanje mešane kulture alg in neustrezna izbira vrst alg.

Ključne besede: *Chlorella vulgaris*, čiščenje odpadne vode, digestat, zelene mikroalge.

Abstract

This paper investigated the efficiency of the green microalgae species *Chlorella vulgaris* and a mixture of three green microalgae strains in treating digestate. A digestate was used from a biogas plant producing biogas from various organic materials such as animal skins, waste edible oils, animal by-products, and expired foodstuffs. The study took place for 14 days under laboratory conditions. The results showed that the digestate used had low amounts of nutrients and was therefore less suitable for algae growth. The green microalgae *C. vulgaris* has proved to be significantly more effective in the removal of nutrients from digestate than an algal mixture. In *C. vulgaris* samples 94% reduction in phosphates and 23% reduction in nitrates was achieved, while in the algal mixture the content of phosphates decreased only by 14%, with an increase in nitrates. The reason could be the poor condition of the mixed algal culture and inappropriate selection of algae species.

Keywords: *Chlorella vulgaris*, wastewater treatment, digestate, green microalgae.

* Stik / Correspondence: miha@algen.si

© Klemenčič T. et al.; Vsebina tega članka se sme uporabljati v skladu s pogoji [licence Creative Commons Priznanje avtorstva – Nekomercialno – Deljenje pod enakimi pogoji 4.0.](#)

© Klemenčič T. et al.; This is an open-access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution – Non Commercial – ShareAlike 4.0 Licence.](#)

1. Uvod

Digestat je stranski proizvod pri proizvodnji bioplina, ki vsebuje veliko hranil, predvsem dušika, in ga je zato treba ustrezno obdelati pred izpustom v okolje (Cerar, 2015). Digestat je lahko v trdni obliki, poltekoč ali tekoč. Zaradi visoke vsebnosti hranil se lahko uporablja za gnojenje rastlin. V slovenski zakonodaji se obravnava kot biološko razgradljiv odpadki, ki se ga pod določenimi pogoji lahko uporabi kot proizvod (Kmetijsko gozdarska zbornica Slovenije, 2015; Uredba o predelavi biološko razgradljivih odpadkov in uporabi komposta ali digestata, 2013, 2015). V praksi je čiščenje digestata s klasičnimi biološkimi čistilnimi napravami zaradi visokih vrednosti hranilnih snovi energetsko zelo potratno. V Sloveniji v okviru projekta CIP EIP Eco-innovation AlgaeBioGas (2013–2016; <https://algaebiogas.eu>) od leta 2015 dalje že poskusno obratuje demonstracijska pilotna čistilna naprava z mešano kulturo alg in bakterij za čiščenje digestata iz bioplinarne, ki prideluje bioplin iz različnih organskih materialov (Reinhardt et al., 2015). Cilj te pilotne naprave je, da bi se tekoči del digestata očistil do te mere, da bi se ta neposredno odvajal na komunalno čistilno napravo, s čimer bi se zmanjšali stroški porabe energije za obratovanje biološke čistilne naprave ob hkratnem zmanjšanju količine izpustov ogljikovega dioksida v ozračje (Griessler Bulc et al., 2016).

S skupnim imenom alge označujemo veliko skupino organizmov, ki vsebujejo klorofil in so sposobni fotosinteze. V klasični botanični literaturi med alge v širšem smislu poleg evkariontskih alg prištevamo tudi prokariotske cianobakterije. V vseh pogledih so alge najbolj raznolika skupina rastlinskih organizmov. Nekatere so ostale na stopnji razvoja, ki ga najdemo v fosilnih ostankih pred milijardami let. Druge so se med evolucijo močno specializirale, zato jih danes najdemo povsod (Vrhovšek et al., 2006). Alge se vse bolj uporabljajo tudi za čiščenje različnih odpadnih voda, saj lahko tako poleg očiščene odpadne vode dobimo tudi večje količine algne biomase, ki jo lahko uporabimo za pridobivanje bioplina, biogoriva ali drugih proizvodov (Cerar, 2015).

Namen raziskave je bil ugotoviti učinkovitost zelene mikroalge *Chlorella vulgaris* in mešanice treh vrst zelenih mikroalg za čiščenje odpadne vode oz. digestata iz bioplinarne. Predpostavili smo, da bo mešanica kultur zelenih alg učinkovitejša pri čiščenju digestata kot monokultura zelene alge *C. vulgaris* (Chen et al., 2015).

2. Material in metode dela

Poskus smo opravili z digestatom iz bioplinarne, kjer pridelujejo bioplin iz različnih organskih materialov, kot so živalske kože, odpadna jedilna olja, živalski stranski proizvodi in živila s pretečenim rokom uporabe. V bioplinarni, kjer smo vzorčili digestat, pridelajo okoli 68 m³ tekočega digestata na dan, ki se čisti na lastni biološki čistilni napravi in nato odvaja v javni kanalizacijski sistem.

Eksperimentalno delo smo opravili v mikrobiološkem laboratoriju Zdravstvene fakultete Univerze v Ljubljani. Za pripravo inokuluma smo uporabili (1) kulturo zelene mikroalge *Chlorella vulgaris* (CCAP 211/11S) in (2) mešano kulturo treh zelenih mikroalg (neznana sestava), obe iz algne banke podjetja AlgEn d.o.o. Pogoji gojenja alg so opisani v Šunta (2016). Pred začetkom poskusa smo se s pomočjo svetlobnega mikroskopa (Nikon Eclipse Ci-S, 1000-kratna povečava) prepričali, da so uporabljene kulture zelenih mikroalg čiste, brez prisotnosti drugih mikroorganizmov, kot so bakterije in praživali.

2.1 Zasnova poskusa

Poskus smo izvedli šaržno v štirih 250 mL erlenmajericah (dve eksperimentalni erlenmajerici in dve kontrolni) v dveh ponovitvah, kar pomeni skupno osem erlenmajeric (preglednica 1). Poskus je trajal 14 dni. Erlenmajerice smo pokrili s papirnati brisačami in tako zmanjšali vpliv zunanjih dejavnikov, kot je vnos mikroorganizmov v eksperimentalne mešanice. Erlenmajerice smo osvetljevali z neonskimi lučmi Fluora 33w/77, svetilnosti 5000–6000 luksov, ki so ponazarjale dnevno svetlobo, v intervalu 18 ur na dan. Temperaturo v laboratoriju je uravnavala klimatska naprava, in sicer na 22 °C. Erlenmajerice so bile postavljene na magnetna mešala (Ika COLOR

SQUID Germany), ki so delovala 24 ur na dan (mešanje pri 150 rpm). Mešanje vsebine erlenmajeric je bilo potrebno, da se alge ne bi posedle na tla, s čimer se je povečala njihova čistilna učinkovitost. U-gojišče smo pripravili iz medija Plantfert U (8-8-7) (Chimro, Romunija), ki smo ga razredčili z destilirano vodo (dH₂O) v razmerju Plantfert U : dH₂O 1 : 300 in sterilizirali.

S pozitivno kontrolo smo želeli preveriti rast alg v optimalnih pogojih, brez prisotnosti digestata. Z negativno kontrolo smo preverjali, kaj se dogaja z digestatom brez prisotnosti alg.

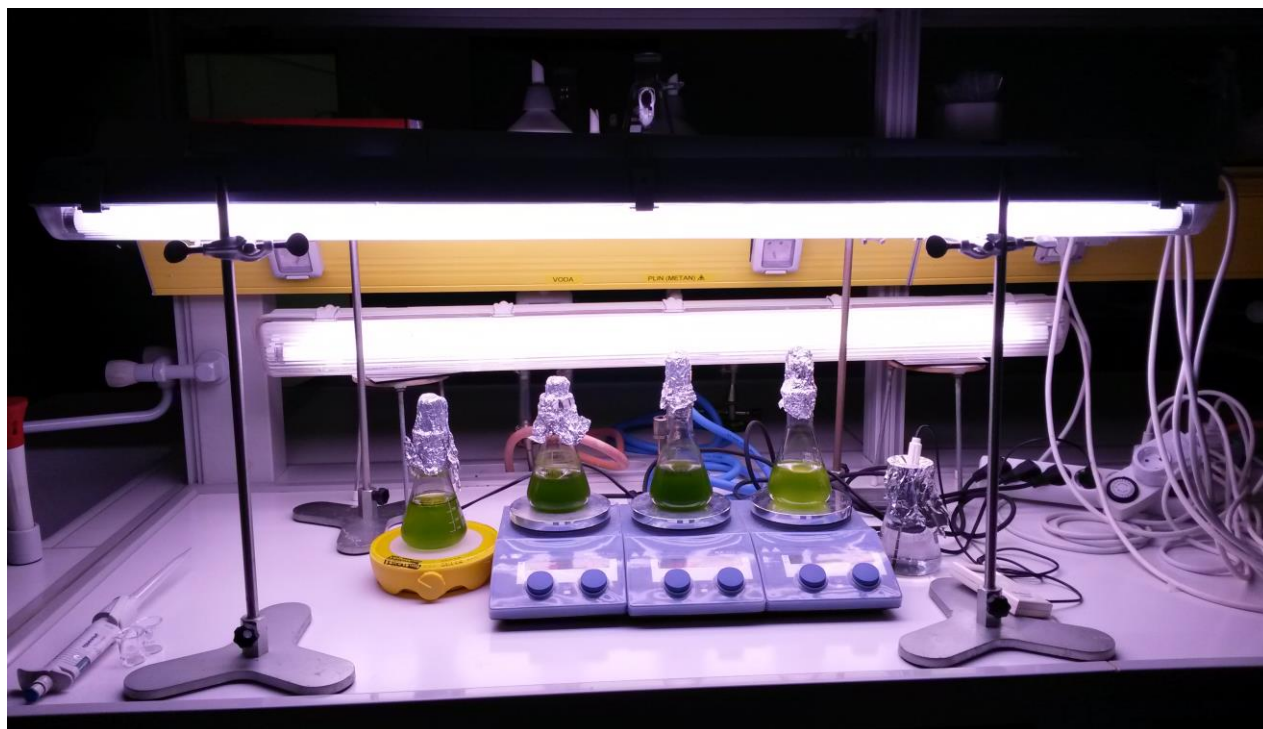
2.2 Kemijske analize in klorofil-*a*

V vseh erlenmajericah smo na začetku in na koncu poskusa po 14 dneh izmerili: pH, temperaturo, električno prevodnost, klorofil-*a*, absorbanco pri 680 nm in 470 nm, nitrat in ortofosfat. pH smo merili s pH-metrom WTW pH 3151, električno prevodnost s konduktometrom Hanna DiST, absorbanco s spektrofotometrom Nanocolor Macherey-Nagel NANO VIS ter nitrat in ortofosfat s pomočjo kivetnih testov Nanocolor. Za umerjanje spektrofotometra za merjenje absorbance smo uporabili razredčen digestat, pri pozitivni kontroli pa U-gojišče za alge.

Preglednica 1: Sestava eksperimentalnih mešanic in kontrol.

Table 1: Composition of experimental mixtures and controls.

	Enota	<i>Chlorella vulgaris</i>	Mešana kultura	Pozitivna kontrola	Negativna kontrola
Digestat	mL	160	160	-	200
U-gojišče	mL	-	-	160	-
Inokulum <i>C. vulgaris</i>	mL	40	-	-	-
Inokulum mešane kulture zelenih alg	mL	-	40	40	-
Skupni volumen	mL	200	200	200	200



Slika 1: Laboratorijski poskus čiščenja digestata s pomočjo zelenih mikroalg. Foto: Miha Žitnik.

Figure 1: Lab-scale treatment of digestate by green microalgae. Photo: Miha Žitnik.

Koncentracijo klorofila-*a* smo izmerili po metodi, opisani v Vollenweider (1969). 5 mL vzorca iz vsake erlenmajerice smo centrifugirali 10 minut pri 8000 obratih/min. Nato smo odlili supernatant in dodali 8 mL metanola. Mešanico mikroalg in metanola smo 1 uro greli v grelniku na 50 °C ter ponovno centrifugirali 10 minut pri 4000 obratih/min. Supernatant smo odlili v kiveto in izmerili absorbanco pri valovnih dolžinah 470 nm in 680 nm (Mahmoud et al., 2016). Spektrofotometer smo pred tem umerili s čistim metanolom. Koncentracijo klorofila-*a* v vzorcu smo izračunali po naslednji formuli:

$$\text{Klorofil-}a \left[\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \right] = \frac{13,9 \cdot (E_{470} - E_{680}) \cdot V}{V_{\text{vzorca}} \cdot l}, \quad (1)$$

kjer je:

E_{470} – absorbanca pri valovni dolžini 470 nm,

E_{680} – absorbanca pri valovni dolžini 680 nm,

V – volumen metanola [mL],

V_{vzorca} – volumen vzorca [mL],

l – širina kivete [cm] (Šunta, 2016).

3. Rezultati in razprava

Za izvedbo poskusa smo izbrali zeleno mikroalga *C. vulgaris*, saj jo je relativno lahko gojiti, je splošno prisotna v okolju, ima kratek generacijski čas (čas, v katerem se populacija podvoji, je 0,5 dneva) in dobro uspeva v različnih odpadnih vodah (Canovas et al., 1996). Ker so v naravnih pogojih prisotne le mešane združbe alg (sestavljene iz različnih vrst alg), smo poleg monokulture *C. vulgaris* za poskus uporabili tudi mešano kulturo alg.

V preglednici 2 so prikazani rezultati meritev pH, temperature, električne prevodnosti in absorbance v obeh eksperimentalnih mešanicah in kontrolah na začetku poskusa in po 14 dneh trajanja poskusa. V vseh vzorcih se je pH na začetku poskusa gibal okoli nevtralne vrednosti. V vzorcu *C. vulgaris* je pH do konca poskusa narastel na vrednost 10,5, kar je najverjetneje posledica intenzivne fotosintetske aktivnosti združbe alg, pri kateri se iz medija porablja CO₂, kar povzroča dvig pH. V vzorcu

mešane kulture alg je se je zgodilo ravno obratno, saj je bil pH ob koncu poskusa v kislem območju (6,0 pH), kar nakazuje na nizko fotosintetsko aktivnost mešane kulture alg ob zaključku poskusa. V vzorcu z negativno kontrolo (samo digestat) se pH med začetkom in koncem poskusa ni spremenil (7,2 pH), medtem ko je pH v vzorcu s pozitivno kontrolo, ki je vsebovala mešano kulturo alg, prav tako padel iz nevtralnega v kislo območje (6,2 pH). Temperatura je bila v vseh vzorcih enaka in je na začetku poskusa znašala 21,5 °C, na koncu poskusa pa 28,5 °C, kar je v skladu s Sharma et al. (2012), ki so ugotovili, da *C. vulgaris* najbolje uspeva pri temperaturah od 25 do 30 °C. Povišanje temperature med poskusom je najverjetneje posledica segrevanja zaradi osvetlitve z neonskimi lučmi (slika 1). Električna prevodnost je bila v vzorcu z mešano kulturo alg in pozitivno kontrolo znatno višja kot v vzorcih *C. vulgaris* in negativni kontroli. Razlike so najverjetneje posledica razlike v vsebnosti hranil med vzorci, kar je razvidno tudi iz slike 2 (večja vsebnost nitrata in fosfata v vzorcih mešane kulture alg in pozitivne kontrole).

Rast alg oz. razmnoževanje algnih celic smo ugotavljali z meritvami absorbance in analizami klorofila-*a*. Absorbanca pri 470 nm in 680 nm je bila v vseh vzorcih na koncu poskusa višja v primerjavi z vrednostmi, izmerjenimi na začetku poskusa, kar nakazuje na večjo biomaso alg po 14 dneh trajanja poskusa. Največji porast absorbance med začetkom in zaključkom poskusa je bil izmerjen v vzorcu *C. vulgaris* (do 7-krat), najmanjši pa v vzorcu z mešano kulturo alg (do 2-krat), kar nakazuje na znatno višjo prirast biomase *C. vulgaris* v primerjavi z mešano kulturo. Te ugotovitve potrjujejo tudi rezultati analiz klorofila-*a* (slika 2), iz katerih je razvidno, da so bile izmerjene vrednosti klorofila-*a* na začetku poskusa bolj ali manj enake v vseh vzorcih, medtem ko so bile ob koncu poskusa daleč najvišje v vzorcu *C. vulgaris*, sledita vzorca pozitivne kontrole in mešane kulture alg. V 14 dneh trajanja poskusa se biomasa alg v mešani kulturi skoraj ni povečala, kar nakazuje, da so v mešani kulturi alg te že začele propadati. Biomasa alg se je v vseh vzorcih povečala. Najbolj se je povečala v vzorcu *C. vulgaris*, kar pomeni, da so bile razmere za uspevanje alg v tem vzorcu najbolj ugodne.

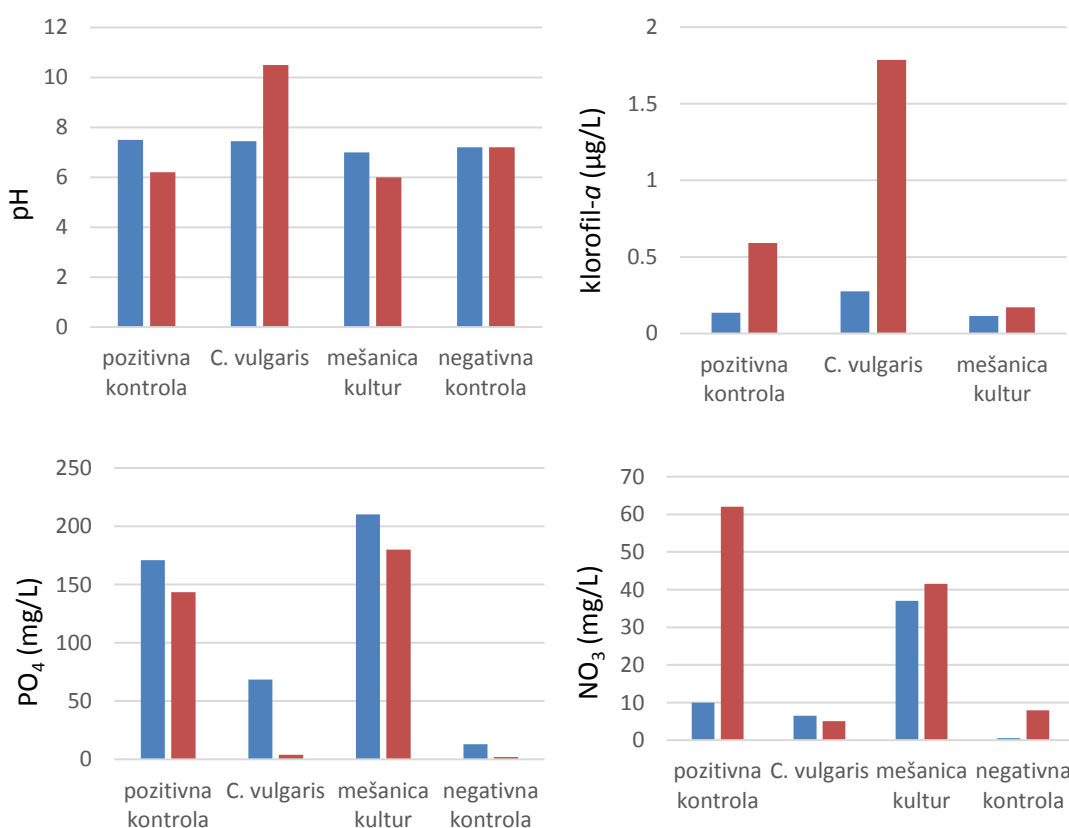
Izmerjene začetne vrednosti fosfatov in nitratov so bile v vzorcu mešane kulture alg in pozitivne kontrole znatno višje kot v vzorcu *C. vulgaris* in negativni kontroli, saj so bile v mešanici alg najverjetneje prisotne še druge snovi poleg alg in digestata. Po 14 dneh trajanja poskusa se je vsebnost

fosfata zmanjšala v vseh vzorcih, z največjim zmanjšanjem v vzorcu *C. vulgaris* (94 %) in zmanjšanjem v vzorcu mešane kulture alg za 14 %, medtem ko se je vsebnost nitrata zmanjšala le v vzorcu *C. vulgaris* (23 % zmanjšanje) (slika 2), v ostalih vzorcih pa ne.

Preglednica 2: Rezultati meritev pH, temperature (*T*), električne prevodnosti (*EC*) in absorbance pri 470 nm (*A*470) in 680 nm (*A*680) na začetku in na koncu poskusa čiščenja digestata z zelenimi mikroalgami (*n* = 2).

Table 2: Results of measurements of pH, temperature (*T*), electrical conductivity (*EC*), and absorbance at 470 nm (*A*470) and 680 nm (*A*680) at the beginning and at the end of the experiment (*n* = 2).

	Pozitivna kontrola		<i>Chlorella vulgaris</i>		Mešana kultura		Negativna kontrola	
	Začetek poskusa	Konec poskusa	Začetek poskusa	Konec poskusa	Začetek poskusa	Konec poskusa	Začetek poskusa	Konec poskusa
pH	7,5	6,2	7,5	10,5	7,0	6,0	7,2	7,2
<i>T</i> [°C]	21,5	28,5	21,5	28,5	21,5	28,5	21,5	28,5
<i>EC</i> [μS/cm]	2438	3693	1115	506	2513	2308	1084	735
A470	0,139	0,706	0,272	1,904	0,099	0,209	-	-
A680	0,135	0,591	0,275	1,787	0,115	0,171	-	-



Slika 2: Sprememba pH, vsebnosti klorofila-a, ortofosfata (*PO*₄) in nitrata (*NO*₃) pri poskusu čiščenja digestata z zelenimi mikroalgami. Prvi stolpec (moder) – meritev na začetku poskusa, drugi stolpec (rdeč) – meritev na koncu poskusa (*n* = 2).

Figure 2: Change in pH, values of chlorophyll-a, orthophosphate (*PO*₄) and nitrate (*NO*₃) in the experiment of digestate treatment with green microalgae. First column (blue) – measurement at the beginning of the experiment, second column (red) – measurement at the end of the experiment, (*n* = 2).

Količina hranil v digestatu in s tem pogoji za rast mikroalg se spreminjajo s spreminjanjem vhodnih surovin pri proizvodnji digestata (Marcilhac et al., 2014). Vsebnost hranil je bila v vzorcu negativne kontrole, ki je vseboval samo digestat, znatno nižja od vsebnosti hranil U-gojišča (Šunta, 2016), kar kaže na to, da digestat, ki smo ga uporabili za raziskave, ni vseboval dovolj hranil za gojenje alg. Poleg tega so alge v mešani kulturi bolj uspevale v pozitivni kontroli kot v digestatu. Razlog je lahko, poleg pomanjkanja hranil in mikroelementov, tudi neustrezna izbira vrst mikroalg, kar je skladno z ugotovitvami Cerar (2015), da na primer alga *Scenedesmus quadricauda* ne uspeva v digestatu. To je bil najverjetneje tudi eden od razlogov, da se je *C. vulgaris* v našem primeru izkazala za učinkovitejšo za odstranjevanje nitratov in fosfatov (23 % odstranitev nitratov in 94 % odstranitev fosfatov) iz digestata.

Čiščenje digestata s pomočjo mikroalg je še v raziskovalni fazi in se v širši praksi zaenkrat še ne uporablja. V okviru projekta AlgaeBioGas je bila postavljena ena prvih demonstracijskih čistilnih naprav z mešano kulturo mikroalg in bakterij za čiščenje digestata v Evropi (Reinhardt et al., 2015). Glavni slabosti čistilne naprave z mešano kulturo mikroalg in bakterij sta velika variabilnost v učinkovitosti čiščenja (npr. zmanjšana učinkovitost čiščenja v zimskem času) in visoka cena investicije in vzdrževanja. Pozitivna stran je manjša poraba energije za čiščenje digestata na račun manjše porabe energije za prezračevanje aeracijskih bazenov (alge proizvajajo kisik, ki ga bakterije porabljajo) in proizvodnja algne biomase, ki se lahko porabi kot vhodna surovina za proizvodnjo bioplina ali kot gnojilo kmetijskih površin.

4. Zaključki

Klasične biološke čistilne naprave so energetsko zelo potratne, v okolje pa sproščajo velike količine ogljikovega dioksida in mineralnih hranil. Alternativa klasični biološki čistilni napravi za čiščenje digestata je čistilna naprava na osnovi mešane kulture alg in bakterij. Na ta način dosežemo zapiranje snovnih in energetskih tokov, saj alge kot primarni proizvajalci porabljajo hranila in ogljikov dioksid za rast in razvoj, s čimer čistijo

vodo ter proizvajajo kisik, ki je nujen potreben za aerobne bakterije. Pri tem procesu nastajajo večje količine algne biomase, ki se lahko vrne v bioplinarno kot surovina za proizvodnjo bioplina. Tako lahko algna biomasa nadomesti del pridelkov, ki jih gojimo na kmetijskih površinah za energetske namene (Prijetelj Videmšek, 2015; povzeto po Griessler Bulc et al., 2016).

S poskusom hipoteze, da bo mešanica kultur zelenih alg učinkovitejša pri čiščenju digestata kot monokultura zelene alge *C. vulgaris*, nismo potrdili. Rezultati so namreč pokazali, da je kultura zelene mikroalge *Chlorella vulgaris* primernejša za čiščenje digestata, nastalega pri proizvodnji bioplina iz različnih organskih materialov, kot mešana kultura alg. S pomočjo zelene alge *C. vulgaris* je bila učinkovitost odstranitve fosfatov iz digestata 94 %, nitratov pa 23 %. Z mešano kulturo alg smo uspeli odstraniti le 14 % fosfatov, medtem ko se je količina nitratov v vzorcu povečala. Razlog je bil lahko slabo stanje mešane kulture alg in neustrezna izbira vrst alg.

Viri

- Canovas, S., Picot, B., Casellas, C., Zulkifi, H., Dubois, A., Bontoux, J. (1996). Seasonal Development of Phytoplankton and Zooplankton in a High-rate Algal Pond, *Water Science and Technology* **33**, 199–206.
- Cerar, A. (2015). Optimizacija gojenja mikroalg v iztoku iz bioplinarne naprave za proizvodnjo bioplina, Magistrsko delo, UL BF, 77 str.
- Chen, G., Zhao, L., Qi, Y. (2015). Enhancing the Productivity of Microalgae Cultivated in Wastewater toward Biofuel Production: A Critical Review. *Applied Energy* **137**, 282–270.
- Griessler Bulc, T., Jarni, K., Žitnik, M., Istenič, D., Šajn-Slak, A., Krivograd Klemenčič, A. (2016). Zelene tehnologije za zmanjševanje okoljskega odtisa – primeri uporabe v Sloveniji, *Kemija v šoli in družbi* **1**, 1–11.
- Kmetijsko gozdarska zbornica Slovenije (2015). Digestat – ostanek iz bioplinarn kot poceni gnojilo. <http://www.kgzs.si/GV/Aktualno/V-srediscu/Novica/ArticleId/2762/Digestat-ostanek-iz-bioplinarn-kot-poceni-gnojilo.aspx> (pridobljeno 3. 3. 2016).
- Marcilhac, C., Sialve, B., Pourcher, A.M., Ziebal, C., Bernet, N., Beline, F. (2014). Digestate Color and Light

Intensity Affect Nutrient Removal and Competition Phenomena in a Microalgal-Bacterial Ecosystem, *Water Research* **64**, 278–287.

Mahmoud, G. S., Hassan, T. Hj., Othman, R., Messikh, A. (2016). Simulation of Absorption Spectrum of Photosynthetic Pigments of *Chlorella vulgaris* B Algae. *Malaysian Journal of Mathematical Sciences* **10(S)**, 123–130.

Reinhardt, R., Lavrič, L., Lazar, B., Griessler Bulc, T., Žitnik, M. (2015). Algaebiogas: Demonstration Centre for Biogas Digestate Treatment with Microalgae. Book of Abstracts of the 2nd EABA and EC Algae Contractors' Conference and the 9th International Algae Congress, Lisbon, 77–78.

Sharma, R., Pal Singh, G., Sharma V. K. (2012). Effects of Culture Conditions on Growth and Biochemical Profile of *Chlorella Vulgaris*. *Journal of Plant Pathology & Microbiology* **3**, 131. doi: 10.4172/2157-7471.1000131

Šunta, U. (2016). Sprememba mikrobiološke slike črne vode ob njenem čiščenju z algami, Magistrsko delo, Univerza v Ljubljani, ZF, 88 str.

Uredba o predelavi biološko razgradljivih odpadkov in uporabi komposta ali digestata (2013, 2015). Uradni list RS, št. 99/2013, 56/2015.

Vollenweider, R. A. (1969). Primary Production in Aquatic Environments. International Biological Programme Handbook 12, Blackwell Scientific Publications Oxford, Burgess and Son, Great Britain, 213 str.

Vrhovšek, D., Kosi, G., Krivograd Klemenčič, A., Smolar-Žvanut, N. (2006). Monografija sladkovodnih in kopenskih alg v Sloveniji. Limnos, podjetje za aplikativno ekologijo, d.o.o., ZRC SAZU, Ljubljana, 172 str.