

# USO DE *Chlorella* sp. Y *Scenedesmus* sp. EN LA REMOCIÓN DE NITRÓGENO, FÓSFORO Y DQO DE AGUAS RESIDUALES URBANAS DE MARACAIBO, VENEZUELA

Carmen Chacón<sup>1</sup>, Charity Andrade<sup>1</sup>, Carmen Cárdenas<sup>1</sup>,  
Ismenia Araujo<sup>1</sup> y Ever Morales<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigación del Agua (CIA), Facultad de Ingeniería,  
Universidad del Zulia -Maracaibo, Estado Zulia

<sup>2</sup>Laboratorio de Bioquímica y Microorganismos Fotosintéticos, Departamento de Biología,  
Facultad Experimental de Ciencias. E-mail: [everm@iamnet.com](mailto:everm@iamnet.com)

## Resumen

Se evaluó el uso de *Chlorella* sp. y *Scenedesmus* sp., para la remoción de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, P-PO<sub>4</sub><sup>-3</sup> y DQO de las aguas residuales del sistema de estabilización de la Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela. Los experimentos se realizaron con un volumen de 200 mL de agua residual esterilizada y no esterilizada, en relación a un control con agua destilada y medio de cultivo ALGAL. Los bioensayos se mantuvieron a 137 μmol.q.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>, fotoperíodo de 12:12h, 26±2°C, sin aireación y durante 27 días. *Chlorella* sp. produjo una densidad celular significativamente mayor (p<0,05) en agua residual esterilizada, y *Scenedesmus* sp. en la correspondiente no esterilizada, con valores de 66,20±4,61x10<sup>6</sup> y 9,35±1,32x10<sup>6</sup> cel.mL<sup>-1</sup> respectivamente; los cuales fueron de 3,67 y de 1,99 veces del obtenido en el control. Ambas microalgas produjeron un contenido de clorofila total, carotenoides y proteínas significativamente mayor (p<0,05) con el agua residual no esterilizada. Se presentó una remoción total de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, al final del experimento, en todos los cultivos con agua residual; mientras que, la remoción máxima de P-PO<sub>4</sub><sup>-3</sup> para *Chlorella* sp. fue del 44,0% en agua residual esterilizada y del 48,7% en agua residual no esterilizada para *Scenedesmus* sp. La remoción de DQO para *Scenedesmus* sp. fue 55,8% en agua residual esterilizada al final del experimento; mientras que *Chlorella* alcanzó un máximo del 54,8% en agua residual no esterilizada a las 24h. Los resultados muestran que ambas especies de microalgas, ofrecen una buena alternativa para el tratamiento de las aguas residuales.

**Palabras clave:** Aguas residuales, *Chlorella* sp., DQO, fósforo, nitrógeno, remoción, *Scenedesmus* sp., sistema de estabilización.

**USE OF *Chlorella* sp. AND *Scenedesmus* sp. FOR NITROGEN, PHOSPHORUS**

## AND COD REMOVAL FROM URBAN WASTEWATERS IN MARACAIBO, VENEZUELA

### Abstract

The use of *Chlorella* sp. and *Scenedesmus* sp. for the removal of  $\text{N-NH}_4^+$ ,  $\text{P-PO}_4^{-3}$  and COD from wastewaters in the University of Zulia stabilization system, Maracaibo, Venezuela, was evaluated. Experiments were made using 200 mL of sterile and non sterile wastewater, related to a control using sterile distilled water and an ALGAL culture medium. The experimental materials were maintained at  $137 \mu\text{mol.q.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , with a 12:12h photoperiod,  $26\pm 2^\circ\text{C}$ , without aeration for 27 days. *Chlorella* sp. produced a cellular density significantly higher ( $p < 0,05$ ) on sterilized wastewater, as *Scenedesmus* sp. did on non sterilized wastewater, with values of  $66,20\pm 4,61 \times 10^6 \text{ cel.mL}^{-1}$  and  $9,35\pm 1,32 \times 10^6 \text{ cel.mL}^{-1}$ , respectively; which were 3,67 and 1,99 times the growth reached on the control. Both microalgae produced total chlorophyll, carotenoid and protein contents significantly higher ( $p < 0,05$ ) with the non sterilized wastewater. Total removal of  $\text{N-NH}_4^+$  was achieved at the end of the experiment in all the cultures with wastewaters; while the maximum  $\text{P-PO}_4^{-3}$  removal for *Chlorella* sp. was 44,0% on sterilized wastewater and 48,7% on non sterilized wastewater for *Scenedesmus* sp. Maximum COD removal for *Scenedesmus* sp. was 55,8% on sterilized wastewater at the end of the experiment, while *Chlorella* sp. attained a maximum of 54,8% on non sterilized wastewater in 24h. Results show that both species offer good alternatives for wastewater treatment.

**Key words:** *Chlorella* sp., COD, nitrogen, phosphorus, removal, *Scenedesmus* sp., stabilization system, wastewaters.

**Recibido:** 04 Junio 2002 . **Aceptado:** 08 Julio 2004

### INTRODUCCIÓN

El uso de las microalgas, como biosistema alternativo, en el tratamiento de las aguas residuales, ha sido el objeto de numerosas investigaciones debido a su capacidad de remover cantidades significativas de N y P durante su crecimiento, absorber metales y acelerar la inactivación de bacterias patógenas (Abalde et al. 1995, Lau et al. 1995, Tam et al. 2001). Además la biomasa algal producida, durante el procesamiento de estos efluentes, representa una fuente potencial de alimentos, químicos y pigmentos, entre otras importantes aplicaciones (Borowitzka y Borowitzka 1988).

Los géneros *Chlorella* y *Scenedesmus*, así como algunas especies del grupo de las cianobacterias, se han descrito en el tratamiento de diferentes tipos de aguas residuales,

destacando las provenientes de plantas de tratamiento convencionales (Lavoie y De la Noüe 1985, Tam y Wong 1989), de origen industrial (González et al. 1997), urbano (Jonte et al. 2002) y las derivadas de excretas animales (Baumgarten et al. 1999, Bermúdez y Morales 2002). No obstante, en Venezuela no existen registros sobre la utilización de las microalgas para la recuperación de aguas residuales destinadas para el riego o para ser liberadas a cuerpos de aguas con valores de nutrientes permisibles. El objetivo de la presente investigación es evaluar el uso de *Chlorella* sp. y *Scenedesmus* sp. para la remoción de nitrógeno, fósforo y DQO de aguas residuales urbanas de Maracaibo, Venezuela.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **MICROALGAS**

Se emplearon cepas de *Chlorella* sp. y *Scenedesmus* sp., aisladas de la Represa de Tulé, estado Zulia y del sistema de lagunas de estabilización del Centro de Investigación del Agua (CIA) de la Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela, respectivamente. Ambas cepas se mantienen en la Colección de Microalgas del Departamento de Biología de la Facultad Experimental de Ciencias de la Universidad del Zulia.

### **MEDIOS DE CULTIVO**

Se utilizó agua residual urbana proveniente del Sistema "A" de las Lagunas de Estabilización del Centro de Investigación del Agua (CIA) de la Universidad del Zulia, Venezuela, como medio de cultivo. Las muestras colectadas corresponden al afluente de la laguna facultativa A<sub>1</sub> (Fig. 1). Es decir, el agua que entra a esta laguna sólo ha sido sometida a un tratamiento preliminar de cribado, por lo que contiene la mayor concentración de nutrientes en relación al resto de lagunas que la siguen y que se encuentran ubicadas en serie.

El agua residual colectada de la laguna A<sub>1</sub> se separó en dos porciones, una de las cuales se sometió a esterilización durante 20 minutos a 121°C y 15 libras de presión (agua esterilizada: Aa), mientras que la otra alícuota solamente se filtró, dos veces usando papel Whatman N° 42 (agua filtrada: Af).

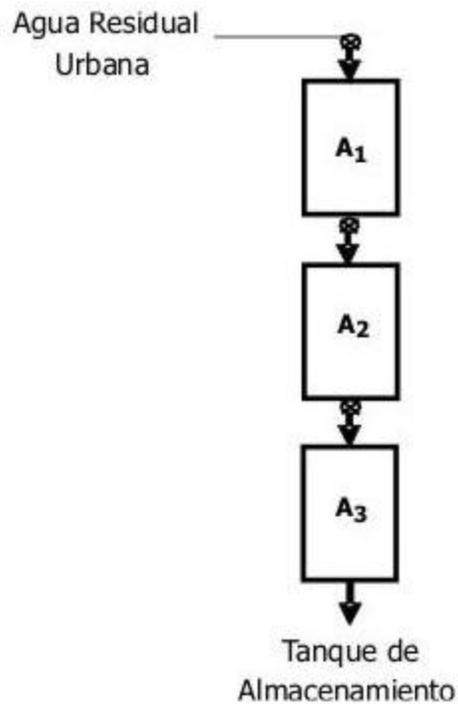


FIGURA 1. Diagrama del Sistema A de lagunas de estabilización

Los tratamientos controles se prepararon con agua destilada esterilizada y medio de cultivo ALGAL (Fábregas et al. 1989) a una concentración equivalente a 6,0 mM de  $\text{NaNO}_3$  y 0,3 mM de  $\text{NaHPO}_4$  como únicas fuentes de nitrógeno y fosfato.

### CONDICIONES DEL CULTIVO

Los bioensayos se iniciaron con un inóculo de  $0,64 \times 10^6$  y  $0,23 \times 10^6$  cel.mL<sup>-1</sup> para *Chlorella* sp. y *Scenedesmus* sp. respectivamente, los cuales provenían de cultivos en fase exponencial y desarrollados en medio ALGAL a 6,0 mM de  $\text{NaNO}_3$ . Los experimentos se desarrollaron, por triplicado, en recipientes de vidrio con un volumen de 200 mL, se mantuvieron con una radiación de  $137 \mu\text{mol.q.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , bajo ciclos de luz:oscuridad de 12:12 horas, a una temperatura promedio de  $28 \pm 2^\circ\text{C}$  y sin aireación por un período de 27 días.

### DENSIDAD CELULAR, CONTENIDO DE PIGMENTOS Y DE PROTEÍNAS

El crecimiento de cada microalga se determinó mediante el conteo celular de los cultivos cada 3 días, utilizando una cámara de Neubauer. El contenido de clorofila total y de carotenoides se cuantificó a partir del extracto metanólico de la biomasa algal fresca cada 3 días. Los extractos obtenidos se clarificaron por centrifugación y la concentración de los pigmentos se determinó mediante espectrofotometría, de acuerdo a las ecuaciones de

Wellburn (1994). En el caso de *Scenedesmus* sp. se utilizó un equipo de ultrasonido (Ultrasonic Processor GE 130) para lograr la ruptura de la pared celular. Los valores de las proteínas totales se evaluaron según el método de Lowry, modificado por Herbert (1971), y se empleó como estándar seroalbúmina bovina (BSA) de  $1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ . El contenido de pigmentos y de proteínas se expresó en  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ .

## **ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS**

El contenido de fosfato ( $\text{P-PO}_4^{-3}$ ), nitrógeno amoniacal ( $\text{N-NH}_4^+$ ) y DQO se analizó según la metodología descrita en la APHA, AWWA y WPCF (1998). Estos análisis se realizaron en:

a) Agua residual cruda: agua residual sin ningún tratamiento.

b) Agua residual para el cultivo de las microalgas: agua residual esterilizada y agua residual filtrada no esterilizada, y luego de inocular la microalga a las 24 h y a los 27 días de iniciado el experimento.

En estos análisis se utilizaron los sobrenadantes de los cultivos por réplica de cada tratamiento, luego de una centrifugación de 30 mL de cada cultivo durante 15 minutos a 1000 rpm.

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Los resultados se expresaron como los promedios de los triplicados de cada tratamiento. Los valores de pigmentos y proteínas, se compararon mediante el Análisis de la Varianza de una vía (ANOVA) con  $p \leq 0,05$  para la prueba de Scheffe's, a través del programa estadístico STAT MOST for Windows versión 3,0.

## **RESULTADOS**

Los valores de  $\text{P-PO}_4^{-3}$ ,  $\text{N-NH}_4^+$  y DQO obtenidos en el agua residual cruda fueron los más elevados con respecto al agua residual filtrada y la esterilizada (Tabla 1). Estos valores indican que el tratamiento de filtración, y la posterior esterilización de las muestras, produjo una disminución en el contenido de fosfato y de nitrógeno amoniacal del 30 y 70% respectivamente. De esta forma, se estableció un descenso de los mismos, en el siguiente orden: agua no tratada > agua filtrada ( $A_f$ ) > agua esterilizada ( $A_a$ ). Sin embargo, en el agua residual esterilizada se retuvo un 42% de la DQO en relación al agua residual no tratada.

TABLA 1. Contenido de fosfato, nitrógeno amoniacal y de DQO ( $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) en el agua residual cruda, esterilizada y filtrada no esterilizada.

Parámetro	Agua Residual		
	Cruda	Esterilizada	Filtrada
Fosfato	$7,84\pm 0,53$	$5,45\pm 0,18$	$7,19\pm 0,03$
Nitrógeno Amoniacal	$30,10\pm 0,99$	$9,10\pm 0,99$	$25,90\pm 0,99$
DQO	$431,0\pm 15,0$	$248,9\pm 32,5$	$167,4\pm 11,9$

Agua residual cruda: sin tratamiento.

Se evidenció un mayor crecimiento relativo de *Chlorella* sp. y *Scenedesmus* sp. ( $p < 0,05$ ) en los tratamientos de agua residual filtrada y esterilizada, en relación al medio ALGAL (Figs. 2 y 3). Además se destacó que *Chlorella* sp. alcanzó mayor densidad celular en el agua residual esterilizada (3,7 veces la obtenida con respecto al control); mientras que *Scenedesmus* sp. creció mejor con el agua residual filtrada, con un valor 2 veces superior al obtenido en el medio ALGAL. También se obtuvo una producción significativamente mayor ( $p < 0,05$ ) de pigmentos y proteínas en los cultivos con agua residual filtrada, seguida del bioensayo con agua esterilizada y por último el tratamiento control en ambas microalgas (Tabla 2).

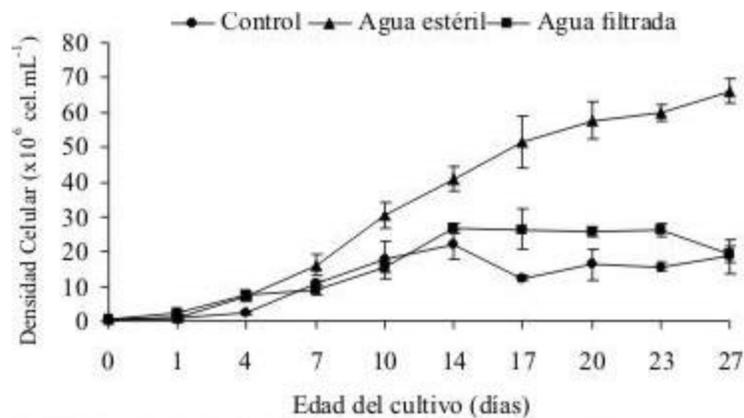


FIGURA 2. Crecimiento de *Chlorella* sp. ( $\times 10^6 \text{ cel. mL}^{-1}$ ) en agua residual urbana.

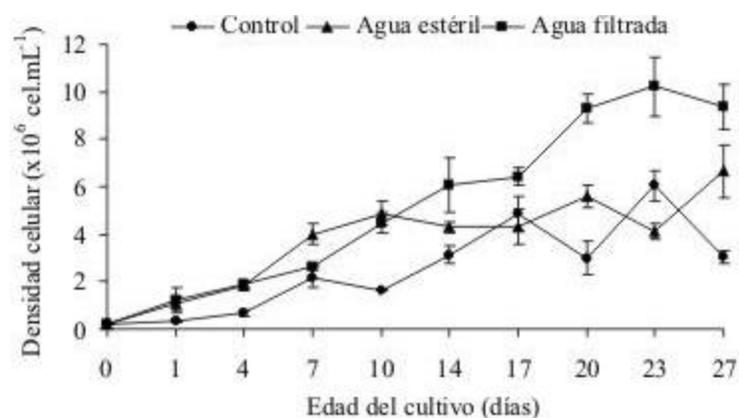


FIGURA 3. Crecimiento de *Scenedesmus* sp. ( $\times 10^6$  cel.mL<sup>-1</sup>) en agua residual urbana

TABLA 2. Densidad celular ( $\times 10^6$  cel.mL<sup>-1</sup>), contenido de clorofila, carotenoides y proteínas totales ( $\mu$ g.mL<sup>-1</sup>) en fase estacionaria en cultivos de *Chlorella* sp. y *Scenedesmus* sp. Af: agua filtrada, Aa: agua esterilizada.

Parámetro	<i>Chlorella</i> sp.			<i>Scenedesmus</i> sp.		
	Af	Aa	Control	Af	Aa	Control
Densidad Celular	22,89 $\pm$ 4,64	66,20 $\pm$ 4,61	18,04 $\pm$ 4,93	9,35 $\pm$ 1,32	5,09 $\pm$ 1,13	4,69 $\pm$ 1,72
Clorofila Total	8,32 $\pm$ 1,09	7,99 $\pm$ 0,69	3,63 $\pm$ 1,14	9,52 $\pm$ 3,27	7,31 $\pm$ 1,45	2,19 $\pm$ 0,75
Carotenoides Totales	4,95 $\pm$ 0,54	4,92 $\pm$ 0,31	2,08 $\pm$ 0,60	5,40 $\pm$ 1,89	4,13 $\pm$ 0,98	1,40 $\pm$ 0,47
Proteínas Totales	461,5 $\pm$ 48,0	401,9 $\pm$ 14,5	346,0 $\pm$ 16,2	522,9 $\pm$ 36,7	461,5 $\pm$ 7,5	337,3 $\pm$ 17,6

El primer día del cultivo se obtuvieron valores de remoción de nitrógeno amoniacal de 15,33% y 9,95% en los tratamientos de A<sub>f</sub> y A<sub>a</sub> de *Chlorella* sp.; mientras que para *Scenedesmus* sp. se alcanzó 14,99% y 10,22% respectivamente. Estos hallazgos coinciden con la mayor densidad celular en los cultivos de A<sub>f</sub>, para *Chlorella* sp. y *Scenedesmus* sp. en este día. El contenido de nitrógeno amoniacal (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), en los diferentes medios de cultivo, se consumió completamente al final del experimento, mientras que en los cultivos control no se detectó su presencia (Fig. 4).

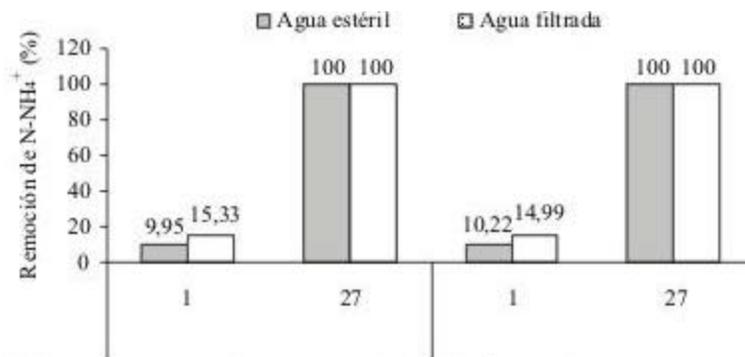


FIGURA 4. Eficiencia de remoción de  $N-NH_4^+$  (%) de *Chlorella* sp. y *Scenedesmus* sp.

Los porcentajes de remoción de fosfato, para ambas microalgas, fueron menores a los obtenidos para el  $N-NH_4^+$  (Fig. 5). El consumo de este nutriente por *Chlorella* sp. y *Scenedesmus* sp. fue bajo, obteniendo las más altas eficiencias de remoción (4,10 y 3,33% respectivamente) en el cultivo con agua residual estéril durante las primeras 24 h de iniciado el ensayo.

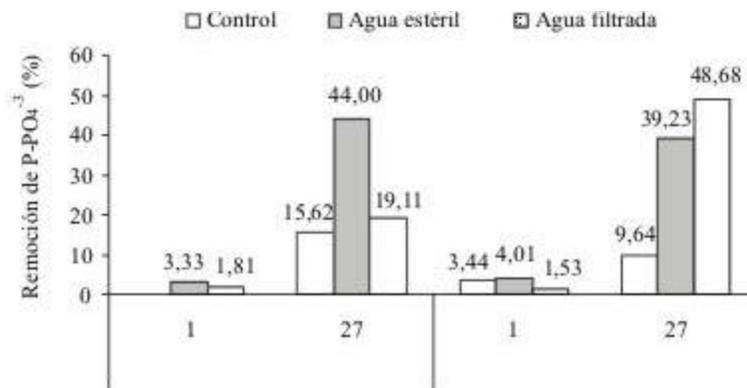


FIGURA 5. Eficiencia de remoción de  $P-PO_4^{-3}$  (%) de *Chlorella* sp. y *Scenedesmus* sp.

*Scenedesmus* sp. logró la mayor eficiencia de remoción final de fosfato con valores de 48,7% en el cultivo de  $A_f$ , aunque su crecimiento fue relativamente menor que el alcanzado por *Chlorella* sp. Esta microalga produjo una eficiencia de 44,0% para los cultivos en  $A_a$ .

Los porcentajes de remoción obtenidos, por ambas microalgas, fueron directamente proporcionales al crecimiento celular en fase estacionaria; las eficiencias menores al 50% indican la presencia de cantidades apreciables de  $PO_4^{-3}$  al finalizar el tratamiento.

La máxima remoción de materia orgánica se obtuvo en los cultivos de *Scenedesmus* sp. en  $A_a$  (55,8%) mientras que en *Chlorella* sp., su elevado crecimiento interfirió en la cuantificación de la misma. Sin embargo, a las 24 horas de iniciado el experimento debido

al bajo crecimiento, fue posible detectar la remoción de materia orgánica; la cual alcanzó un máximo de 54,8% para los cultivos en  $A_a$  (Fig. 6).

## DISCUSIÓN

El mayor crecimiento celular relativo en los cultivos con agua residual, indica que estos medios contienen alta disponibilidad de nutrientes, y por lo tanto constituyen sustratos alternativos para el desarrollo de *Chlorella* sp. y *Scenedesmus* sp.

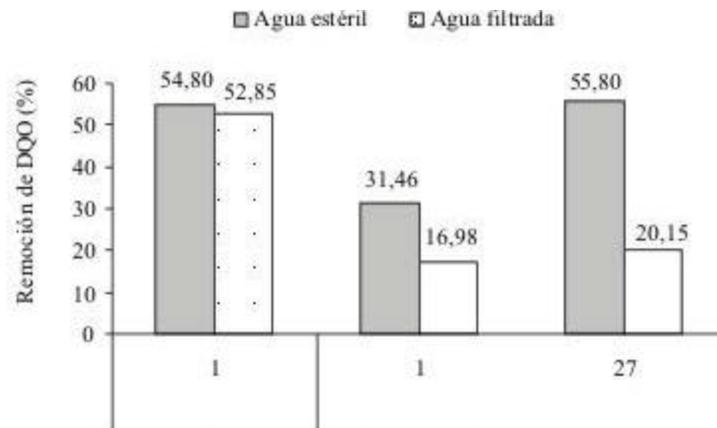


FIGURA 6. Eficiencia de remoción de DQO (%) de *Chlorella* sp. y *Scenedesmus* sp.

El crecimiento diferencial obtenido para ambas microalgas, en el agua residual filtrada ( $A_f$ ) y el agua residual esterilizada ( $A_a$ ), sugieren que la presencia de bacterias y de otras especies de microalgas, asociadas al agua residual y no descartadas en el proceso de filtración, podrían disminuir la disponibilidad de nutrientes por el efecto de competencia, al menos para *Chlorella* sp. Sin embargo, este efecto tampoco fue inhibitorio puesto que el crecimiento alcanzado por esta microalga fue superior que el correspondiente al control. Cabe resaltar, que la esterilización y la posterior decantación del agua residual obtenida contribuyen a la disminución de nutrientes y de la carga bacteriana asociada, en relación al filtrado que sólo retiene sólidos totales de mayor tamaño en suspensión (Glynn y Heinke 1998).

Por otra parte, el mayor crecimiento obtenido por *Scenedesmus* sp. con el agua residual filtrada sugiere la expresión de una estrategia fisiológica, aun en presencia de otros microorganismos asociados. Esto significa que en el tratamiento de las aguas residuales crudas, a cielo abierto, se puede utilizar esta microalga con alta eficiencia para la remoción de nutrientes (Bich et al. 1999).

El mayor contenido de nutrientes esenciales, en el agua filtrada, sugiere una relación

directa con la acumulación de clorofila y de proteínas para ambas microalgas con respecto al agua esterilizada y el control.

La alta productividad exhibida por ambas microalgas, en el agua residual, sugiere una relación directa entre el crecimiento algal y el consumo de nutrientes, en lo que respecta a la remoción completa del nitrógeno amoniacal y al remanente contenido de fosfato obtenido al final del experimento. Esto permite deducir la utilización preferencial del nitrógeno amoniacal; aspecto que lo convierte en nutriente limitante para el crecimiento de las microalgas ( Marti 1982).

Las eficiencias de remoción de nitrógeno amoniacal, obtenidas al final de este estudio, son similares a las reportadas para *Chlorella pyrenoidosa* y *Scenedesmus* sp. en agua residual doméstica proveniente de un proceso de tratamientos primario y secundario (Tam y Wong 1989). De igual forma se presentó para *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus dimorphus* en agua residual agroindustrial (González et al. 1997).

La comparación entre la eficiencia de remoción total de fosfato, en este ensayo, con la reportada en los estudios antes mencionados, se encontró que es menor a la obtenida para *Chlorella pyrenoidosa* (eficiencia del 70-80%) en un período de 14 días (Tam y Wong 1989), y aproximadamente similar a la registrada en cultivos de *Scenedesmus dimorphus* (eficiencia de 55,0%) en un período de 9 días (González et al. 1997).

En cuanto a los valores de DQO, no se pudo establecer una relación entre la remoción de la misma y el crecimiento de estas microalgas. Se han reportado resultados similares por Lau et al. (1995), quienes obtuvieron eficiencias de remoción de materia orgánica de hasta un 75% de la DQO en agua residual municipal proveniente de un proceso de tratamiento primario en un período de 8 días, sin lograr vincular esta remoción con el número de células algales o el contenido de clorofila. Esta baja remoción de materia orgánica posiblemente se podría asociar a la utilización de volúmenes menores de cultivo, en los cuales las elevadas densidades celulares alcanzadas introducen también la producción de exoproductos orgánicos, los cuales no permiten diferenciar entre la materia orgánica existente en el agua residual y la generada como producto del metabolismo microalgal. Esto último requiere de investigaciones enfocadas a la utilización de las microalgas en la degradación de materia orgánica.

## **CONCLUSIÓN**

La remoción del nitrógeno y el fosfato, entre 44,0% y 48,7%; y la DQO entre 54,8% y 55,8%, favorecen el uso potencial de *Chlorella* sp. y *Scenedesmus* sp. para el tratamiento

de aguas residuales urbanas. Estas microalgas podrían ser utilizadas a cielo abierto para el tratamiento de estos afluentes.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al personal técnico del laboratorio de Química Ambiental del Centro de Investigación del Agua, de la Universidad del Zulia, Venezuela. Así como también al FONACIT por el apoyo financiero concedido a través del Proyecto S1-2000000786 y al Centro de Investigación del Agua por el cofinanciamiento ejecutado para la realización del presente trabajo.

---

\* Autor para la correspondencia

## **LITERATURA CITADA**

1. ABALDE J., A. CID, P. FIDALGO, E. TORRES y C. HERRERO. 1995. Microalgas: Cultivos y Aplicaciones. Monografía N° 26. Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Coruña. 210 pp.
2. APHA, AWWA y WPCF. 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20<sup>th</sup> Edition. American Public Health Association 1015 Fifteenth Street, N.W. Washington, D.C.USA. 981 pp.
3. BAUMGARTEN E., M. NAGEL y R. TISCHNEL. 1999. Reduction of the Nitrogen and Carbon Content in a Swine Waste with Algae and Bacteria. Environmental Geology 52 (2):281-284.
4. BERMÚDEZ J. y E. MORALES. 2002. Fracción Soluble de Gallinaza como fuente de Nutrientes para el Cultivo de la Microalga Marina Chroomonas sp. Libro de Resúmenes de la LII Convención Anual de la AsoVAC. Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado, Barquisimeto. Venezuela.
5. BICH N. N., YAZIZ M. I. y KADIR N. A. 1999. Combination of Chlorella vulgaris and Eichhornia crassipes for wastewater nitrogen removal. Water Research 33: 2357-2362.
6. BOROWITZKA M.A. y L.J. BOROWITZKA. 1988. Vitamins and Fine Chemical from Microalgae. In: Borowitzka M.A. & Borowitzka L.J. Microalgal Biotechnology. Cambridge University Press, Cambridge 153-196.

7. FábREGAS J., J. ABALDE y C. HERRERO. 1989. Biochemical Composition and Growth of the Marine Microalgae *Dunaliella tertiolecta* (Butcher) with different Ammonium Nitrogen Concentration as Chloride, Sulphate, Nitrate and Carbonate. *Acuaculture* 83: 289-304.
8. GLYNN H. y G. HEINKE. 1998. *Ingeniería Ambiental*. Segunda edición. Prentice-Hall. Hispanoamericana. México. 401 pp.
9. GONZÁLEZ L. E., R. O. CAÑIZARES y S. BAENA. 1997. Efficiency of ammonia and phosphorus removal from a Colombian Agroindustrial Wastewater by the Microalgae *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus dimorphus*. *Bioresource Technology* 60: 259-262.
10. HERBERT D., P. PHIPPS y R. STRAONE. 1971. Chemical Analysis of Microbial cells. In: Norris, J. y Ribbons, D. (Eds.). *Methods in Microbiology*. Academic Press. London 5: 209-344.
11. JONTE L., L. GAUBECA, C. CÁRDENAS, I. ARAUJO, J. ORTEGA y E. MORALES. 2002. Agua Residual Urbana de un Sistema de Lagunas de Estabilización para el Cultivo de la Cianobacteria *Synechocystis* sp. Libro de Resúmenes de la LII Convención Anual de la AsoVAC. Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado, Barquisimeto. Venezuela.
12. LAU P.S., N.F. TAM y Y.S. WONG. 1995. Effect of Algal Density on Nutrient Removal from Primary Settled Wastewater. *Environmental Pollution* 89: 59-66.
13. LAVOIE A. y J. DE LA NOÛE. 1985. Hyperconcentrated Cultures of *Scenedesmus obliquus*: A New Approach for Wastewater Biological Tertiary Treatment. *Wat. Res.* 19: 1437-1442.
14. MARTI M. 1982. Estudio de los factores que afectan la asimilación y la excreción de *Phaeodactylum tricornutum* en cultivos de volumen limitado. *Inv. Pesqueras* 46: 91-119.
15. TAM N.F.Y., J.P.K. WONG y Y.S. WONG. 2001. Repeated use of two *Chlorella* species, *C. vulgaris* and WW1 for cyclic nickel biosorption. *Environmental Pollution* 114: 85-92.
16. TAM N.F.Y. y Y.S. WONG. 1989. Wastewater Nutrient Removal by *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus* sp. *Environmental Pollution* 58: 19-34.
17. WELLBURN A. R. 1994. The Spectral Determination of Chlorophylls a and b, as Well as Total Carotenoids, Using Various Solvents with Spectrophotometers of Different

Resolution. *J. Plant. Physiol.* 144: 307-313.