

# Remoción de nitrógeno y fósforo de aguas residuales urbanas por la microalga *Chlorella* sp. en condiciones de laboratorio

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

<sup>1</sup>Laboratorio de Microorganismos Fotosintéticos, Departamento de Biología, Facultad Experimental de Ciencias. <sup>2</sup>Centro de Investigación del Agua (CIA), Facultad de Ingeniería. Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela

Recibido: 11-04-05 Aceptado: 22-03-06

## Resumen

Se emplearon cultivos unialgales de la microalga *Chlorella* sp., para evaluar su capacidad de remoción de nutrientes de aguas residuales urbanas colectadas del Sistema de Lagunas de Estabilización de la Universidad del Zulia, Venezuela. Los cultivos discontinuos se iniciaron con un inoculo de  $2 \times 10^6$  cel/mL, en un volumen de 1200 mL de agua residual esterilizada y obtenida de las lagunas: facultativa (B<sub>1</sub>), de maduración primaria (B<sub>2</sub>) y de maduración secundaria (B<sub>3</sub>), frente a un control con medio de cultivo comercial. Los bioensayos se mantuvieron con una intensidad luminosa de  $156 \mu\text{mol} \cdot \text{q} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , ciclo de luz:oscuridad 12:12h,  $28 \pm 2^\circ\text{C}$  y con aireación constante. Las muestras de agua tomadas de los cultivos a 0, 24, 48, 96 h y a los 22 días, se sometieron a análisis de  $\text{N-NH}_4^+$  y  $\text{P-PO}_4^{-3}$ . Los cultivos con aguas residuales produjeron los mayores crecimiento de la microalga respecto al control, alcanzándose la densidad celular más alta en B<sub>1</sub> con  $19.24 \pm 0.93 \times 10^6$  cel/mL ( $p > 0.05$ ). La mayor producción de clorofila y carotenoides se alcanzó en B<sub>1</sub> con  $2.292 \pm 0.516$  y  $1.805 \pm 0.211 \mu\text{g/mL}$ , respectivamente. Se obtuvo la remoción total de  $\text{N-NH}_4^+$  entre los días 2 y 4 para los cultivos con agua residual. Mientras que la máxima remoción de  $\text{P-PO}_4^{-3}$  al final del experimento se produjo en B<sub>1</sub> con 73.5%. La microalga *Chlorella* sp., constituye una alternativa para reducir la carga de nitrógeno y fósforo de aguas residuales urbanas, además de que estas pueden ser utilizadas para la producción mixotrófica de microalgas.

**Palabras clave:** Aguas residuales; *Chlorella*; fósforo; microalga; nitrógeno; remoción.

## Nitrogen and phosphorus removal from urban wastewater for the microalgae *Chlorella* sp. in conditions laboratory

### Abstract

Unialgal cultures of the microalga *Chlorella* sp. were used to evaluate its ability for nutrient removal from urban wastewater, collected from Stabilization Ponds System from the Universidad del Zulia, Venezuela. The batch culture were initiated at a cell density of  $2 \times 10^6$  cell/mL in 1200 mL of sterilized wastewater from ponds: facultative (B<sub>1</sub>), primary maturation

\* Autor para la correspondencia. E-mail: everm@iamnet.com

(B<sub>2</sub>) and secondary maturation (B<sub>3</sub>), in relation to a control culture with commercial culture medium. The bioassays were maintained at a light intensity of  $156 \mu\text{mol}\cdot\text{q}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , light-dark cycle of 12:12h,  $27 \pm 2^\circ\text{C}$  y constant aeration. The water samples were taken from the cultures at times 0, 24, 48, 96 h and 22 days, were submit to  $\text{N-NH}_4^+$  and  $\text{P-PO}_4^{-3}$  analyses. In wastewater cultures were obtained best growth of the microalga that in the control culture, reaching the highest cell density in B<sub>1</sub> with  $19.24 \pm 0.93 \times 10^6$  cell/mL ( $p < 0.05$ ). Highest chlorophyll and carotenoids production was reached in B<sub>1</sub> with  $2.292 \pm 0.516$  and  $1.805 \pm 0.211 \mu\text{g}/\text{mL}$ , respectively. The total  $\text{N-NH}_4^+$  removal was obtained between the days 2 and 4 for the wastewater cultures, meanwhile the  $\text{P-PO}_4^{-3}$  maximum removal at the end of the experiment, was reached in B1 with 73.5%. The microalga *Chlorella* sp., is a good alternative to reduce nitrogen and phosphorus loads from urban wastewater. Also, wastewaters can be used for mixotrophic production of microalgae.

**Key words:** *Chlorella*; microalga; nitrogen; phosphorus; removal; wastewater.

## Introducción

Las microalgas presentan unas altas tasas de crecimiento y adaptabilidad a distintas condiciones ambientales y están presentes en cualquier medio acuático donde exista una fuente de carbono, nutrientes, luz suficiente y ausencia de compuestos tóxicos, junto con el rango apropiado de temperaturas (1). Comúnmente las aguas residuales urbanas contienen los nutrientes requeridos para el crecimiento microalgal, por lo que constituyen un medio apropiado para su desarrollo. En este medio, las microalgas crecen rápidamente, haciendo uso de la energía solar para incorporar el  $\text{CO}_2$  y otros componentes inorgánicos a la producción de material celular, durante la fotosíntesis (2). La actividad fotosintética proporciona oxígeno para la oxidación microbiológica de los residuos (realizada principalmente por bacterias), y la incorporación fotosintética del  $\text{CO}_2$  provoca un incremento en el pH del agua residual hasta un valor letal para muchas bacterias y virus patógenos; por lo que estos resultaron promovieron la utilización de microalgas en el tratamiento de aguas residuales (3).

La producción de microalgas usando como medio de cultivo aguas residuales, presenta una gran cobertura, ya que se pueden alcanzar diferentes objetivos dentro del

mismo proceso como los son: el tratamiento de aguas residuales y la producción de biomasa microalgal, la cual es de gran interés comercial en la biomedicina, farmacología, agricultura y en la industria (4-6).

## Materiales y Métodos

### Microorganismo

Se utilizaron cultivos unialgales de la microalga *Chlorella* sp., aislada del Sistema de Lagunas de Estabilización del Centro de Investigación del Agua de la Universidad del Zulia y mantenida en cultivos de colección en el Departamento de Biología de la Facultad experimental de Ciencias de la Universidad del Zulia. El uso de esta especie se debe a que es una de las que se encuentra presentes en las aguas residuales utilizadas en el estudio, a su facilidad para realizar cultivos masivos tanto autotróficamente como heterotróficamente (7), y a su gran interés económico (3).

### Medio de cultivo

Se colectaron muestras de aguas residuales provenientes del Sistema B de Lagunas de Estabilización del Centro de Investigación del Agua que consta de una laguna facultativa y dos lagunas de maduración dispuestas en serie (8). Las muestras colectadas corresponden al afluente a las lagu-

nas: facultativa (B<sub>1</sub>), de maduración primaria (B<sub>2</sub>) y de maduración secundaria (B<sub>3</sub>), cuya composición se muestra en la Tabla 1.

El agua residual colectada se esterilizó a 121°C y 15 psi de presión mediante autoclave durante 20 minutos, para la eliminación de bacterias, protozoarios y todas las microalgas que se encuentran presentes en las aguas residuales, con la finalidad de determinar la respuesta exclusiva de la microalga *Chlorella* al agua residual, en ausencia de otros organismos. El agua se mantuvo en reposo durante 24 horas para permitir la sedimentación de sólidos, luego fue decantada y esterilizada de nuevo a las mismas condiciones. Como control se empleó agua destilada estéril enriquecida con medio ALGAL a una concentración equivalente a 6 mM de NaNO<sub>3</sub> (9).

### Sistema de cultivo

Los cultivos por tres réplicas se iniciaron con un inóculo de  $2 \times 10^6$  cel/mL de *Chlorella* sp., obtenido previo lavado con agua destilada estéril a partir de cultivos discontinuos en fase exponencial mantenidos en condiciones autotróficas con agua destilada y medio ALGAL a una concentración equivalente a 6 mM de NaNO<sub>3</sub>. Para ello, se utilizaron frascos cilíndricos de vidrio con capacidad para 4L y empleando un volumen de 1,2L de agua residual correspondiente a cada laguna (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> y B<sub>3</sub>). Las

unidades de cultivos se mantuvieron con aireación constante con un volumen de 6,78 cm<sup>3</sup>.s<sup>-1</sup>, intensidad luminosa de 156 μmol.q.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>, fotoperíodo de 12:12 h y a 28 ± 2°C durante 22 días.

### Análisis biológicos

El crecimiento de los cultivos se realizó mediante recuento celular a las 24, 48 y 96 horas de iniciados los experimentos, y luego cada tres días hasta alcanzar el final de la fase estacionaria, empleando para ello un microscopio óptico y cámara de Neubauer.

La clorofila *a*, clorofila *b* y carotenoides se determinaron a las 96 horas de iniciados los cultivos y luego cada tres días hasta culminar el experimento. El contenido de pigmentos de la biomasa algal fresca se determinó por extracción con metanol cuantificándose por espectrofotometría (10).

### Análisis químicos

Se realizaron análisis de nitrógeno total Kjeldahl, nitrógeno amoniacal (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), nitrógeno orgánico y fosfato (P-PO<sub>4</sub><sup>-3</sup>), siguiendo la metodología especificada en los métodos estándar (11). Para las determinaciones químicas se tomaron muestras de 90 mL de cada réplica de cada tratamiento, a las 24, 48, 96 horas y luego a los 22 días de iniciado el experimento. Cada muestra se centrifugó a 100 r.p.m. durante 25 minutos y se filtró usando un papel de filtro de

Tabla 1  
Contenido de nitrógeno y fósforo (mg/L) en el medio de cultivo (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub> y control) de la microalga *Chlorella* sp. al inicio del experimento

Parámetro (mg/L)	Medio de Cultivo			
	Control	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>
N <sub>TK</sub>	0,00	17,24 ± 1,61	11,38 ± 0,25	7,47 ± 1,23
N-NH <sub>3</sub>	0,00	12,25 ± 0,35	8,98 ± 0,40	5,25 ± 0,35
N <sub>org</sub>	0,00	4,99	2,40	2,22
P-PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup>	2,88	17,21 ± 0,51	18,92 ± 0,84	16,66 ± 0,27

N<sub>TK</sub>: nitrógeno total Kjeldahl (nitrógeno amoniacal + nitrógeno orgánico). N-NH<sub>3</sub>: nitrógeno amoniacal.

N<sub>org</sub>: nitrógeno orgánico.

0,45  $\mu\text{m}$  de diámetro de poro para eliminar bacterias y microalgas.

### Análisis estadístico

Se aplicó un análisis de una vía ANOVA con  $p \leq 0,05$  para la prueba de Scheffe's, utilizando el programa estadístico STAT MOST for Windows versión 3,0 (Stat Most Corporation, 1995), para la determinación de los grupos significativamente diferentes.

## Resultados y Discusión

### Crecimiento de la microalga *Chlorella* sp. en agua residual

La microalga *Chlorella* exhibió un crecimiento satisfactorio tanto en condiciones autotróficas (control) como en condiciones mixotróficas (agua residual). Sin embargo, las mayores densidades celulares se obtuvieron en agua residual ( $p < 0,05$ ) y cuyos valores 3,32; 2,41 y de 1,92 veces en B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> y B<sub>3</sub>, al obtenido en el control.

La procedencia del agua residual también influyó en el crecimiento de la microalga. Es decir, en los cultivos B<sub>1</sub> se produjo una densidad celular en fase estacionaria de  $19,24 \pm 0,93 \times 10^6$  cel/mL con diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) respecto a B<sub>2</sub> y B<sub>3</sub>; los cuales produjeron valores de  $13,98 \pm 1,18$  y  $11,14 \pm 0,97 \times 10^6$  cel/mL respectivamente (Tabla 2). Esta variación del crecimiento en función del tipo de agua residual se debe probablemente a la cantidad, disponibilidad y diversidad de nutrientes contenidos en las

tres lagunas del sistema de estabilización con diferentes etapas de tratamiento (Tabla 1, Figura 1).

Estos resultados también sugieren que la composición química de las aguas residuales estimula el crecimiento de la microalga *Chlorella*, por lo que constituyen un medio aprovechable para la producción de biomasa microalgal. La viabilidad de usar este tipo de agua residual como medio de cultivo para otras especies de microalgas como *Scenedesmus* y *Synechocystis*, se comprobó en estudios anteriores (8, 12). Así mismo, se ha señalado la conveniencia del uso de diferentes tipos de aguas residuales como medio de cultivo para el crecimiento algal y se han puesto en práctica lagunas de algas de grandes proporciones con bastante éxito (13, 14).

Por su parte, el posible uso futuro de la biomasa algal producida como alimento o pienso animal, esta determinado por diversos factores relacionados con la calidad nutritiva y la seguridad toxicológica, por lo cual sería necesario realizar controles sanitarios de la misma como prerrequisito para su utilización. Sin embargo, numerosos experimentos han demostrado claramente el valor de muchas microalgas (*Chlorella*, *Scenedesmus*, *Spirulina*, *Euglena*) como suplemento proteico para peces, rumiantes, cerdos y pollos (15 y 16).

### Producción de pigmentos

El contenido de pigmentos estuvo en el siguiente orden B<sub>1</sub> > B<sub>2</sub> > B<sub>3</sub> > control, con

Tabla 2.

Densidad celular ( $\times 10^6$  cel/mL) y contenido de pigmentos ( $\mu\text{g/mL}$ ) en cultivos B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> y B<sub>3</sub> de la microalga *Chlorella* sp.

Tratamiento	Densidad celular ( $\times 10^6$ cel/mL)	Clorofila ( $\mu\text{g/mL}$ )	Carotenoides ( $\mu\text{g/mL}$ )
Control	$5,80 \pm 1,05$	$0,785 \pm 0,246$	$0,475 \pm 0,112$
B <sub>1</sub>	$19,24 \pm 0,93$	$2,292 \pm 0,516$	$1,805 \pm 0,211$
B <sub>2</sub>	$13,98 \pm 1,18$	$1,796 \pm 0,366$	$1,669 \pm 0,132$
B <sub>3</sub>	$11,14 \pm 0,97$	$1,210 \pm 0,405$	$1,260 \pm 0,205$

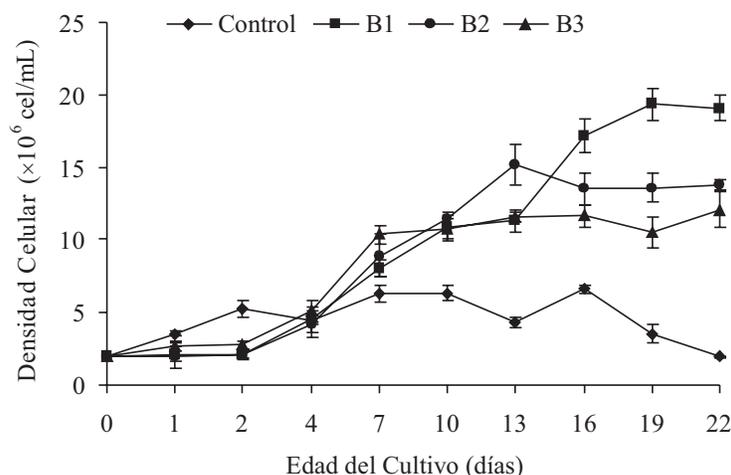


Figura 1. Crecimiento de la microalga *Chlorella* sp. ( $\times 10^6$  cel/mL) con agua residual procedente de las lagunas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> y B<sub>3</sub> del Sistema de Estabilización de la Universidad del Zulia, Venezuela.

valores de clorofila de  $2,292 \pm 0,516$ ;  $1,796 \pm 0,366$ ;  $1,210 \pm 0,405$  y  $0,785 \pm 0,246$   $\mu\text{g/mL}$  respectivamente y con diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) entre todos los tratamientos. De igual manera, se presentaron diferencias significativas para los carotenoides, con valores de  $1,805 \pm 0,211$ ;  $1,669 \pm 0,132$ ;  $1,260 \pm 0,205$  y de  $0,475 \pm 0,112$   $\mu\text{g/mL}$  para B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub> y el control, respectivamente (Tabla 2).

De acuerdo a estos resultados se sugiere que la producción de clorofila y carotenoides estuvo relacionada con la densidad celular alcanzada en los diferentes tratamientos. Es decir, el incremento de los pigmentos estuvo en función de la densidad celular; de tal manera que los valores más elevados, se produjeron en el siguiente orden: B<sub>1</sub> > B<sub>2</sub> > B<sub>3</sub> > control. Este comportamiento también ha sido descrito en cultivos de *Chlorella vulgaris* con aguas residuales y en los cuales encontraron que los cambios en el contenido de clorofila total coincidieron con el incremento de la población de la microalga (17).

### Remoción de Nitrógeno

En los tratamientos con agua residual se obtuvo una remoción del 100% del N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> en B<sub>3</sub> en el segundo día de iniciado el experimento. Mientras que, para los trata-

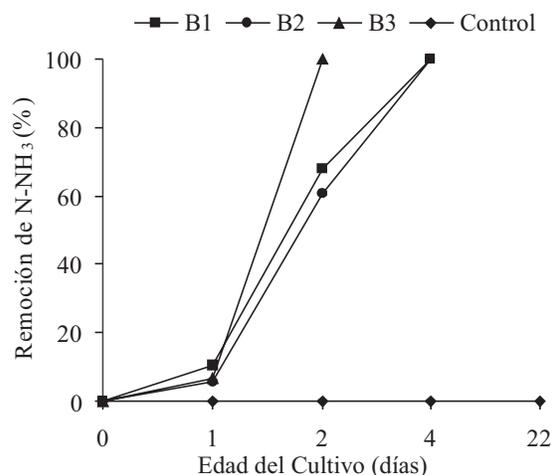


Figura 2. Porcentaje de remoción (%) de nitrógeno (N-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>) en cultivos B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> y B<sub>3</sub> de la microalga *Chlorella* sp.

mientos B<sub>1</sub> y B<sub>2</sub>, la remoción alcanzada fue de 67,9 y 60,8%, respectivamente (Figura 2). Esta variación en las eficiencias de remoción, pudo estar relacionada con la densidad celular producida en cada cultivo. Es decir, un mayor número de células ocasionó una mayor asimilación de nitrógeno. Es así como, en el tratamiento B<sub>3</sub>, la densidad celular alcanzada fue ligeramente superior con  $2,78 \pm 0,27 \times 10^6$  cel/mL que en B<sub>1</sub> con

$2,14 \pm 0,24 \times 10^6$  cel/mL y en éste a su vez ligeramente mayor al alcanzado en B<sub>2</sub> con  $2,09 \pm 0,39 \times 10^6$  cel/mL; con lo cual la eficiencia de remoción estuvo en el siguiente orden B<sub>3</sub> > B<sub>1</sub> > B<sub>2</sub>. Sin embargo, en el tratamiento B<sub>3</sub>, el contenido inicial de nutrientes era menor en comparación al encontrado para B<sub>1</sub> y B<sub>2</sub>, donde el agotamiento del N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> se logró para el cuarto día de cultivo. Es de indicar que, el cultivo control solo presentaba N-NO<sub>3</sub> y por lo tanto no se detectó ni N-NH<sub>3</sub> ni nitrógeno orgánico (Tabla 1).

En investigaciones anteriores, se comprobó que cultivos densos de *Chlorella vulgaris* se adaptaron a altas concentraciones de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> y fueron capaces de remover N de aguas residuales industriales con alta carga nitrogenada (18 y 19). Así mismo se ha indicado que la remoción de N-NH<sub>3</sub> involucrando su incorporación a la biomasa microalgal es más favorable que su transformación en formas oxidadas en los métodos de nitrificación; puesto que, la eficiencia de los procesos de nitrificación es baja debido al largo período de generación de las bacterias nitrificantes y a la rápida acidificación del medio que acompaña este proceso (20). Además, las microalgas como *Chlorella* son mucho más resistentes que estas bacterias a condiciones adversas, especialmente a diferentes compuestos químicos y metales pesados (20).

### Remoción de fosfato

Los tratamientos estuvieron caracterizados por una rápida disminución de P-PO<sub>4</sub><sup>-3</sup> en el medio de cultivo durante los primeros 4 días de iniciado el bioensayo, con una remoción del 62,0; 50,5; 42,1 y 46,2% en B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub> y en el control respectivamente. En cambio, al final del período experimental solamente se incrementó la remoción en B<sub>1</sub> y en el control hasta alcanzar valores del 73,5 y 50% respectivamente. Por otra parte, en B<sub>2</sub> y B<sub>3</sub> se alcanzó el máximo de la remoción hasta el 4<sup>to</sup> día y con una ligera disminución de la misma al final del experimento (Figura 3). Esto refleja un aumento

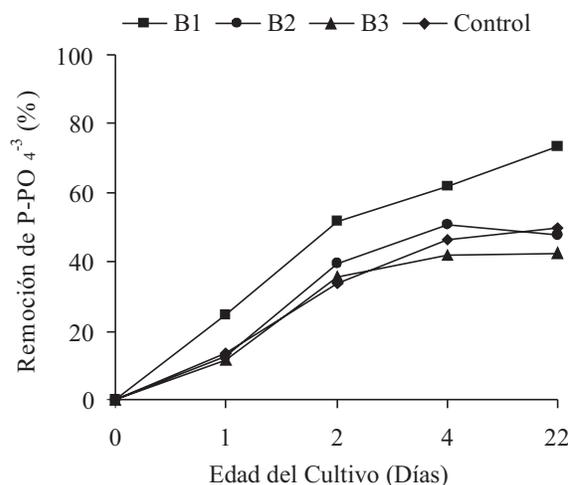


Figura 3. Porcentaje de remoción de fosfato (P-PO<sub>4</sub><sup>-3</sup>) en cultivos B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> y B<sub>3</sub> de la microalga *Chlorella* sp.

en el contenido de P-PO<sub>4</sub><sup>-3</sup> con respecto al cuarto día, quizás causado como producto de la lisis de células de la microalga y de bacterias asociadas a los cultivos B<sub>2</sub> y B<sub>3</sub>.

Resultados similares han sido descritos en cultivos de *Chlorella pyrenoidosa* con aguas residuales, los cuales removieron en un período de 4 días más del 60% del fósforo total en el medio, alcanzando una remoción de 70-80% al final del experimento (14).

En los diferentes tratamientos se observaron variaciones en las eficiencias de remoción de P-PO<sub>4</sub><sup>-3</sup>, a lo largo del período experimental. Así, las mayores remociones parecen estar asociadas al período de mayor tasa de crecimiento de la microalga y a la densidad celular obtenida en fase estacionaria, con el siguiente orden: B<sub>1</sub> > B<sub>2</sub> > B<sub>3</sub> > control. No obstante, es importante destacar la presencia de bacterias asociadas a los cultivos, a pesar de que el agua residual colectada fue previamente filtrada y autoclavada. Sin embargo, en el transcurso del experimento se produjo un crecimiento de la población bacteriana ( $\times 10^6$  UFC/mL) hasta alcanzar la mayor densidad en B<sub>1</sub> con diferencia significativa (resultados no muestra-

dos); con lo cual se infiere que la remoción de fósforo estuvo asociada también a la presencia de la flora bacteriana asociada.

Por otra parte, en el cultivo control con las menores densidades celulares, se obtuvieron también eficiencias de remoción de  $P-PO_4^{-3}$  comparables a las obtenidas en los tratamientos con aguas residuales, aunque la concentración inicial de fósforo en el medio de cultivo control fue de unas 6; 6,6 y 5,8 veces menor a la determinada en el agua residual B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> y B<sub>3</sub> (Tabla 1).

### Conclusiones

La relación existente entre la remoción de  $N-NH_4^+$  y  $P-PO_4^{-3}$  y la densidad celular de la microalga, comprueba que gran parte de los nutrientes presentes en el agua residual, se redujeron del medio debido a la utilización directa para el crecimiento celular de *Chlorella*. Estos resultados indican que la microalga puede ser utilizada para el pulimento de agua residual y esta a su vez ser utilizada con el propósito adicional de producir biomasa microalgal para fines de acuicultura.

### Agradecimientos

Al FONACIT por el cofinanciamiento en el marco del Proyecto S-1 2000000786 y al personal técnico del Centro de Investigación del Agua de LUZ por su cooperación en los análisis químicos de aguas residuales.

### Referencias Bibliográficas

1. SCHELEF G., SOEDER C.J. **Algal Biomass: Production and Use**, Elsevier, Amsterdam (Holanda), pp. 150, 1980.
2. SEOANEZ M. Aguas Residuales Urbanas. **Tratamientos Naturales de Bajo Costo y Aprovechamiento**, 2<sup>da</sup> Edición, Ediciones Mundi-Prensa, Barcelona (España), pp. 114-118, 1999.
3. ABALDE J., CID A., FIDALGO P., TORRES E., HERRERO C. **Microalgas: Cultivos y Aplicaciones**, Monografía N° 26, Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Coruña, La Coruña (España), pp. 209, 1995.
4. BOROWITZKA M.A. BOROWITZKA L.J. **Microalgal Biotechnology** (Eds. Borowitzka M.A. y Borowitzka L.J.), Cambridge University Press, Cambridge (United Kingdom), pp. 153-196, 1988a.
5. BOROWITZKA M.A., BOROWITZKA L.J. **Microalgal Biotechnology** (Eds. Borowitzka M.A. y Borowitzka L.J.), Cambridge University Press, Cambridge (United Kingdom), pp. 257-87, 1988b.
6. ABELIOVICH A. Algae in Wastewater Oxidation Ponds. **Handbook of Microalgae Mass Culture** (Ed. Richmond, A.), CRC Press Inc., Boca Ratón, Florida (USA), pp. 331-338, 1986.
7. OH-HAMA T., MYACHI S. Chlorella. **Microalgal Biotechnology** (Eds. Borowitzka M.A. y Borowitzka L.J.), Cambridge (United Kingdom), pp. 3-26, 1988.
8. CHACÓN C., ANDRADE C., CÁRDENAS C., ARAUJO I., MORALES E. **Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas** 38(2):94-108, 2004.
9. FÁBREGAS J., ABALDE J., HERRERO C. **Acuaculture** 83:289-304, 1989.
10. WELLBURN A.R. **J Plant Physiol** 144:307-13, 1994.
11. APHA, AWWA, WPCF. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, 20<sup>th</sup> Edition, American Public Health Association, N. W. Washington D.C. (USA), pp. 981, 1998.
12. JONTE L., GAUBECA L., CÁRDENAS C., ARAUJO I., ORTEGA J., MORALES E. Agua Residual Urbana de un Sistema de Lagunas de Estabilización para el cultivo de Cianobacteria *Synechocystis* sp. LII Convención Anual de La Asociación Venezolana para el Avance de la Ciencia (AsoVAC), Barquisimeto (República Bolivariana de Venezuela), 2002.
13. OSWALD W.J., LEE E.W., ADAM B., YAO K.H. **WHO Chronicle** 32(9): 348-50, 1978.

- 
14. TAM N. F.Y., WONG Y.S. ***Environmental Pollution*** 58:19-34, 1989.
  15. HINTZ H., HEITMANN H. ***Animal prod*** 0: 135-141, 1966.
  16. LIPSTEIN B., HURWITZ S. ***Poultry Sci*** 21: 9-21, 1980.
  17. LAU P.S., TAM N.F.Y., WONG Y.S. ***Environmental Pollution*** 89: 59-66, 1995.
  18. MATUSIAK K., PRZYTOCKA-JUSIAK M., LESZCZYNSKA-GERULA K., HOROCH M. ***Acta Microbiol Pol*** 25:361-74, 1976.
  19. PRZYTOCKA-JUSIAK M., DUSZOTA M., MATUSIAK K., MYCIELSKI R. ***Wat Res*** 18:1-7, 1984.
  20. SKOWRONSKI T., RZECZYZKA M. ***Acta Microbiol Pol*** 29:389-97, 1980.