

Evaluación de un sistema de medio fijo como soporte para una película microbiana capaz de reducir Cr (VI) de lodos residuales de curtiembres

Yenni Mirella Vásquez Perea¹, Jean Carlos Villamil Poveda¹,
Ligia Consuelo Sánchez Leal², Ana Graciela Lancheros Diaz²

1. Bacteriólogos y Laboratoristas Clínicos con énfasis en Microbiología Ambiental.
Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. Colombia.

2. Docente-investigador grupo CEPARIUM. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. Colombia.

Correspondencia: agld2001@yahoo.es

Recibido: 10/02/2014 Aceptado: 3/06/2014

Resumen

El objetivo de esta investigación fue implementar un método microbiológico que permita reducir las concentraciones de cromo (VI) de lodos residuales provenientes de curtiembres mediante la combinación de procesos de ingeniería ambiental y microbiología. Se empleó un sistema de medio fijo que contenía un soporte de plástico al cual se adhiere la lama de microorganismos que realiza el proceso de purificación bajo condiciones físicas controladas, esto es demostrado *in vivo* con mediciones de cromo VI por absorción atómica del efluente tratado e *in vitro* mediante aislamiento e identificación de los microorganismos en medios de cultivo selectivos con K_2CrO_4 . Los resultados demuestran una reducción de Cr (VI) del 58% por parte de los microorganismos: *Bacillus cereus*, *Acinetobacter iwoffi*, *Lactobacillus agilis*, *Penicillium sp.* y *Cladosporium sp.* capaces de tolerar concentraciones de 300 ppm de Cr (VI).

Palabras clave: cromo, curtiembres, microorganismos biorremediadores, sistema de medio fijo.

Evaluation of a system of fixed media support for a film capable of reducing microbial Cr (VI) of tannery sewage sludge

Abstract

The goal of this research was to implement a microbiological method to reduce the concentrations of chromium (VI) of sewage sludge from tanneries through the combination of processes of environmental engineering and microbiology. A system of fixed medium was used, it contained a plastic support to which the lama of microorganisms adheres, performing the purification process under controlled physical conditions, this is demonstrated *in vivo* with measurements of chromium VI by atomic absorption of treated effluent and *in vitro* by isolation and identification of microorganisms in selective culture media with K_2CrO_4 . The results show a 58% Cr (VI) reduction of the microorganisms: *Bacillus cereus*, *Acinetobacter iwoffi*, *Lactobacillus agilis*, *Penicillium sp.* and *Cladosporium sp.* Which are able to tolerate Cr (VI) concentrations of 300 ppm.

Key Words: chrome, microorganism bioremediation, system of fixed media, tanneries.

Introducción

El sector de curtiembres en Colombia está dedicado a la producción de cuero como materia prima para calzado y marroquinería. En Bogotá existe aproximadamente el 60% de estas pequeñas y medianas empresas, siendo este sector productivo uno de los mayores contaminantes de cromo a la biosfera debido a la generación de residuos líquidos que son potencialmente dañinos para el medio ambiente y la salud humana. Este tipo de vertimientos contienen grandes cantidades de sulfato de cromo, el cual es utilizado en el proceso de curtido para obtener un cuero duradero, suave y flexible pero que bajo condiciones ambientales y en contacto con la materia orgánica sufre procesos de oxidación a Cr (VI), su forma más tóxica.

Así mismo, el acelerado crecimiento de la población humana ha generado una gran demanda del recurso hídrico y como consecuencia un incremento en los niveles de contaminación de éste. Las aguas residuales son productos derivados de la actividad industrial, doméstica y la explotación agropecuaria, los cuales no deben ser vertidos directamente a los cuerpos de agua debido a los problemas sanitarios que puedan generar. Pese a las recomendaciones y legislaciones en el ámbito mundial los cursos de agua han sufrido un gran deterioro hasta el punto de ser incompatibles con la vida, debido a las descargas de origen orgánico e inorgánico a los efluentes, razón por la cual el hombre se ha preocupado por diseñar técnicas que contribuyan a la descontaminación del agua (1-21).

En Colombia, el primer asentamiento del sector de curtiembres data de los años 20, principalmente en el departamento de Antioquía y 30 años después en Cundinamarca. En la actualidad, Colombia cuenta con 677 curtiembres ubicadas en los departamentos de Nariño, Quindío, Risaralda, Valle del Cauca, Cundinamarca, Antioquia, Atlántico, Tolima, Bolívar, Santander y Huila. Sin embargo, 350 se encuentran ubicadas en la ciudad

de Bogotá, especialmente en San Benito a orillas del río Tunjuelo. Del total, 298 son microempresas, 42 pequeñas y 10 medianas empresas. Son las principales generadoras de residuos líquidos contaminantes al río Tunjuelo (2).

Las curtiembres representan un serio problema ambiental debido al impacto que genera el vertimiento de sulfato de cromo utilizado en el proceso de curtido, además de otros residuos como pelo, grasa y resto de la piel del animal, sin embargo, el mayor problema es representado por el sulfato de cromo ya que en presencia de materia orgánica sufre un proceso de oxidación a Cr (VI) la forma más tóxica, lo que es un impedimento para la utilización del agua y los lodos residuales en otros procesos productivos como la agricultura. Debido a su acumulación en el suelo y en plantas (tallos y hojas), a las alteraciones en la fotosíntesis y germinación (3) y los consecuentes problemas para la salud humana como el efecto carcinógeno comprobado, es necesaria su reducción o eliminación por métodos químicos o microbiológicos.

El objetivo principal de esta investigación fue evaluar un sistema de medio fijo conformado por empaques de plástico que sirvan como soporte para una película microbiana con capacidad de reducir Cr (VI) de lodos residuales en condiciones físicas controladas. Esto se demostró *in vivo* con mediciones semanales de Cr (VI) por absorción atómica del efluente tratado, e *in vitro* mediante el aislamiento e identificación de los microorganismos en medios selectivos con K_2CrO_4 . Los resultados demuestran que el consorcio de microorganismos es efectivo en la reducción de Cr (VI) ya que existe un porcentaje de remoción de 58% en un mes de tratamiento continuo y la capacidad de crecimiento de microorganismos como *Bacillus cereus*, *Acinetobacter iwoffii*, *Lactobacillus agilis*, *Penicillium sp* y *Cladosporium sp*, los cuales toleran concentraciones de Cr (VI) de 330 ppm.

Materiales y métodos

El proyecto se realizó en 2 fases; en la primera se diseñó y construyó un sistema de medio fijo, junto con la medición semanal de cromo VI del efluente por medio de absorción atómica en el laboratorio de Ingeniería Ambiental y Sanitaria de la Universidad de la Salle. La segunda fase consistió en aislar la película microbiana que se formó en el empaque y la posterior identificación de los microorganismos con capacidad de tolerar o degradar cromo VI a diferentes concentraciones.

Se obtuvieron 2 Kg de lodo residual de curtiembre de consistencia pastosa, color grisáceo oscuro, olor fétido y con material particulado como restos de cuero, piel y pelo entre otros, debido a esto se

realizó una dilución 1/3 (3500 ml de agua y 1500 g de lodo) y un posterior tamizaje para eliminar partículas que taponaran el sistema.

El sistema de medio fijo, Tabla 1, se montó en la planta piloto del laboratorio de Ingeniería Ambiental y Sanitaria de la Universidad de la Salle, Figura 1, se utilizó un cilindro de acrílico de 1.20 m de altura y diámetro de 0.25 m con una base rectangular en acrílico, para el empaque se utilizaron grapas plásticas colocadas una sobre otra a lo largo del cilindro el área específica del empaque de $85\text{m}^2/\text{m}^3$ con una fracción vacía de 94%, este empaque formó una columna de 0.80 m de altura.

Tabla 1. Condiciones de diseño del sistema de medio fijo.

Parámetro	Montaje
Temperatura	18-20 °C
Recirculación	Continua
Profundidad	1.20 m
Fracción vacía del empaque	94 %
Área superficial del empaque	$85\text{ m}^2/\text{m}^3$



Figura 1. Planta Piloto, Universidad de la Salle

Antes de poner en funcionamiento el sistema se realizó la prueba hidráulica con agua desionizada para descartar la presencia de escapes en el cilindro y verificar el comportamiento general del sistema, de acuerdo a las condiciones previamente establecidas.

El lodo diluido se colocó en el recipiente alimentador para iniciar la recirculación con la bomba; inicialmente se dejó el sistema 10 días en funcionamiento para permitir la estabilización, es decir que la cantidad de Cr (VI) removida diariamente fuera constante (10). Para evaluar la efectividad

del sistema se realizaron mediciones semanales de Cr (VI) por medio de absorción atómica. La recolección de las muestras fue realizada en frascos ámbar con un volumen de 50 ml del efluente una vez a la semana durante un mes.

La medición de la concentración de cromo VI en el efluente del sistema se realizó en el laboratorio de Ingeniería Ambiental y Sanitaria de la Universidad de la Salle, se utilizó un espectrofotómetro de absorción atómica Perkim Elmer. El pre tratamiento de las muestras consistió en una digestión ácida con HNO_3 para la eliminación de materia orgánica presente en la muestra y así evitar una

posible interferencia, proceso que se repitió dos veces con cada muestra. Posteriormente, se filtraron para eliminar partículas de menor tamaño. Para la realización de la medición se hizo una curva de calibración con 6 patrones a diferentes concentraciones de cromo (ppm).

Una vez determinada la reducción de la concentración de Cr (VI) y la formación de la película microbiana adherida al empaque se procedió a tomar las muestras para la identificación de los microorganismos presentes en el consorcio. Se tuvieron en cuenta 4 puntos del filtro para muestrear el empaque, Figura 2.

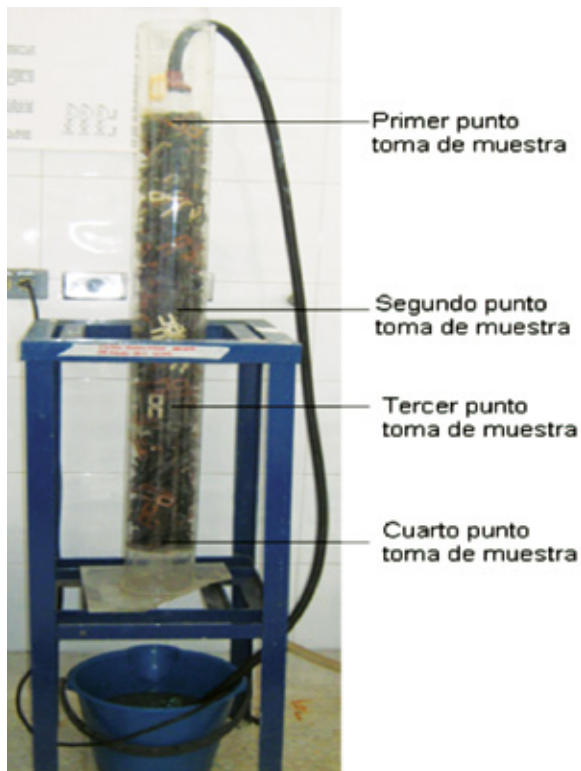


Figura A. sitio de muestreo.

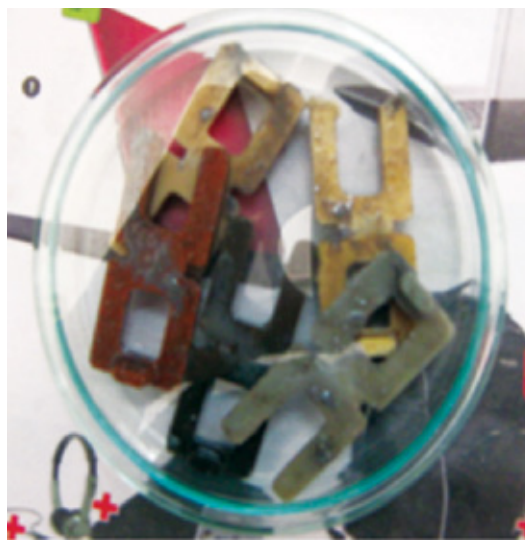


Figura B. Empaque con película microbiana.

Se utilizaron medios de cultivo selectivos; agar nutritivo, Mac conkey y PDA con adición de cromato de potasio K_2CrO_4 en tres diferentes concentraciones:

60 ppm, 182.7 ppm y 330.3 ppm, el metal pesado fue adicionado después de la esterilización para evitar la desnaturalización.

Las muestras obtenidas del empaque del sistema una vez en el laboratorio fueron depositadas en 4 frascos con agua destilada estéril para retirar la película microbiana del empaque y de la suspensión se realizó la posterior siembra en los medios de cultivo.

Se tomaron 20 µl del material en suspensión y se inocularon en las placas de agar nutritivo, Mac Conkey y PDA con las diferentes concentraciones de K_2CrO_4 en forma masiva, por triplicado. Una de las repeticiones de las muestras fue incubada en cámara de anaerobiosis por 72 horas a 37° para identificación de posibles

microorganismos anaerobios, las otras tres muestras restantes a 37° por 72 horas y PDA a 22 ° por una semana.

Resultados

El sistema de medio fijo no presentó ningún inconveniente durante su funcionamiento. La temperatura ambiental, del efluente y la retención hidráulica fueron constantes, además de la ausencia de taponamiento del sistema, Tabla 2. La presencia de la película microbiana se evidenció rápidamente, a la segunda semana se observó una delgada capa a lo largo del empaque del sistema.

Tabla 2. Parámetros de evaluación del sistema.

Parámetro	Condición
Temperatura ambiental	15-20°C
Temperatura del efluente	8-12 °C
Retención hidráulica	60 segundos (constante)
Moscas	Ausentes en todo el proceso
Olor	Fétido, desaparece en la segunda semana
Material particulado	Presente todo el proceso

La medición de Cr (VI) por absorción atómica permitió evaluar la efectividad de la película microbiana para reducir Cr (VI) del lodo residual, se resalta la medición inicial del lodo antes de poner en funcionamiento el sistema 330.3 ppm. Durante las cuatro semanas de tratamiento se obtuvo un porcentaje de remoción de Cr (VI) del 55 % por

parte de la película microbiana adherida al empaque ya que el efluente no fue tratado con ningún proceso químico, lo anterior evidencia la efectividad del sistema de medio fijo para la reducción de Cr (VI) del lodo residual, el cual tuvo mayor porcentaje de remoción en la tercera semana de tratamiento, Figura 3.

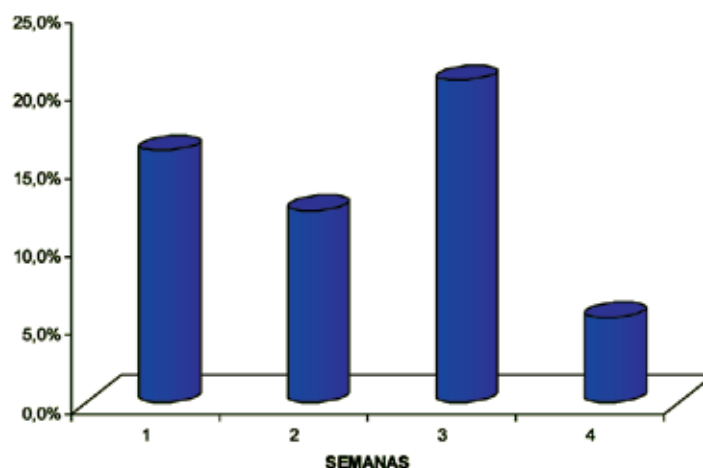


Figura 3. Porcentaje de remoción semanal de Cr (VI).

Aislamiento e identificación de microorganismos aerobios

En la lectura de los medios de cultivo selectivos; nutritivo y Mac Conkey con K_2CrO_4 después de las 72 horas de incubación en aerobiosis todas las muestras mostraron un crecimiento positivo, principalmente

en las dos primeras concentraciones (60 ppm y 182.7ppm) donde el crecimiento bacteriano fue abundante y en la tercera concentración (330 ppm) se observó un crecimiento moderado. Las colonias aisladas se identificaron mediante pruebas bioquímicas y se obtuvo la relación de aislamientos por concentración de Cr (VI), Tabla 3.

Tabla 3. Relación de aislamientos por concentración de Cr (VI).

Bacteria	Crecimiento Cr (VI) ppm
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	60 ppm 182.7 ppm
<i>Klebsiella oxytoca</i>	60 ppm
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	60 ppm 182.7 ppm
<i>Bacillus cereus</i>	60 ppm 182.7 ppm 330 ppm
<i>Pseudomonas sp.</i>	60 ppm 182.7 ppm
<i>Citrobacter freundii</i>	60 ppm 182.7 ppm
<i>Pseudomonas alcaligenes</i>	60 ppm 182.7 ppm
<i>Acinetobacter iwoffii</i>	60 ppm 182.7 ppm 330 ppm

Fuente: autores

Aislamiento e identificación de microorganismos anaerobios

La muestra tomada de la suspensión de las grapas plásticas del sistema fue incubada en cámara de anaerobiosis a 37°C por 72 horas, se obtuvo un crecimiento moderado 10-15 UFC en las cajas de agar nutritivo de la primera concentración (60 ppm) y nulo en agar Mac Conkey. La identificación bioquímica se realizó por medio de BD BBL crystal™ y la lectura por medio de fluorescencia. El microorganismo identificado fue *Lactobacillus agilis*.

Aislamiento e identificación de hongos

Después de la incubación a 22°C por una semana se observó moderado crecimiento fúngico en las cuatro muestras 30 UFC en agar PDA con la primera concentración (60 ppm), 25 UFC en la segunda concentración (182.7 ppm) y 12 UFC en la tercera concentración (330 ppm), la identificación se realizó por medio de montaje con azul de lactofenol y se identificó: *Penicillium sp.* y *Cladosporium sp.*

La distribución, según el crecimiento de los microorganismos, fue variable; con predominio del género bacteriano, principalmente microorganismos Gram negativos 63.6%, Gram positivos 18.1% y hongos 18.1%, Figura 4. La tolerancia frente a las concentraciones de

K_2CrO_4 en los diferentes medios de cultivo el 100% tolera y tiene crecimiento abundante en concentraciones iguales o inferiores a 60 ppm, 80% concentraciones menores o iguales a 182.7 ppm y solo 20% tiene crecimiento a concentraciones de 330 ppm.

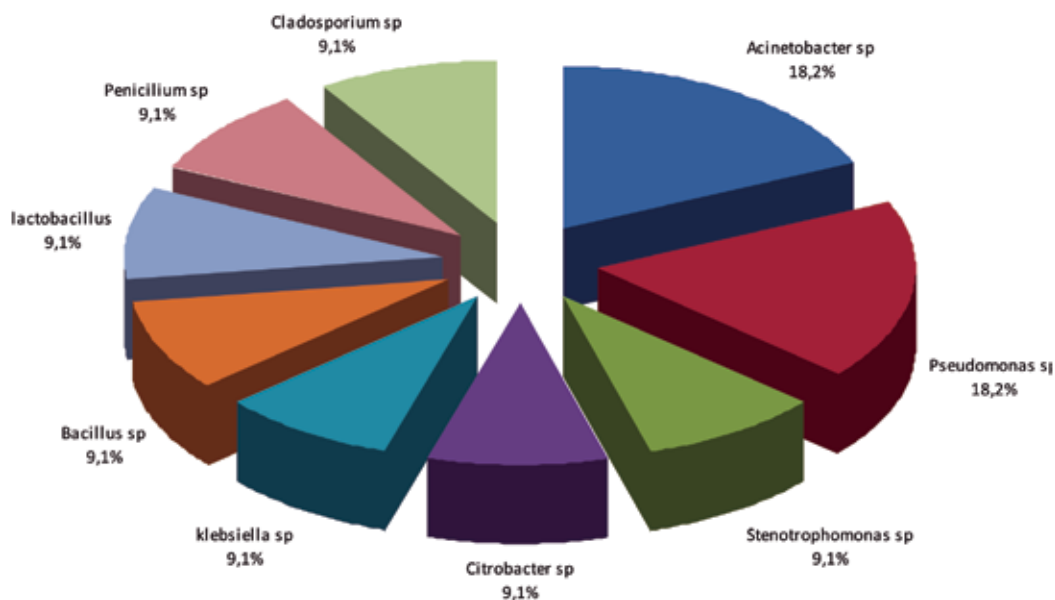


Figura 4. Porcentaje de microorganismos aislados.

Discusión

El sector de curtiembres es catalogado como el principal generador de cromo en la biosfera que en contacto con materia orgánica sufre procesos de oxidación a su forma más tóxica Cr (VI) (9,3). Los resultados lo confirman debido a que se obtuvieron concentraciones de 330.3 ppm de Cr (VI), que es superior a la concentración mínima permisible <0.05 ppm y Cr (VI) < 1 ppm para Cr total por absorción atómica en vertimientos (Decreto 1594 de 1984). Aunque para lodos post tratamiento, destinados a uso agrícola, se permiten concentraciones de cromo total superiores 1.500 mg/kg (Acuerdo 008 de 2004), esto puede estar influenciado por el poco desarrollo industrial del sector lo que impide el uso de nuevos procesos y tecnologías que disminuyan el impacto ambiental (3). Este resultado indica que concentraciones mayores de Cr (VI) se encuentran en el lodo debido

a procesos de sedimentación ya que este tipo de metales tienden a ser transportados por los sólidos suspendidos y acumulados por la materia orgánica del sedimento.

Los métodos de tratamiento biológico son eficientes para la reducción de metales pesados con porcentajes de remoción entre el 80% y 90%, (4-8), lo cual es confirmado por los resultados en donde se obtuvo un porcentaje de remoción del 58% en un mes de tratamiento. Estudios han demostrado que en el primer mes la remoción es alta debido a las altas concentraciones de cromo haciendo que la película microbiana sea activa metabólicamente, sin embargo a bajas concentraciones la remoción puede disminuir (11) como se observó en el porcentaje de remoción semanal donde la máxima remoción fue alcanzada en la tercera semana y decae

en la cuarta semana. Es conveniente determinar un tiempo fijo de tratamiento para obtener mejores resultados, así mismo, la utilización de lodos residuales evita la inserción de nutrientes dentro del sistema lo que aumenta el aprovechamiento de la materia orgánica proveniente del residuo.

Los resultados demostraron que un empaque plástico es un excelente soporte para la adhesión de la película microbiana debido a la fracción vacía, al área superficial y a las ventajas económicas que esto conlleva. Adicionalmente, la flora nativa proveniente del lodo es eficiente en la reducción de Cr (VI) debido a su actividad metabólica y la constante presencia dentro del material contaminado, aunque se ha demostrado que la inserción de microorganismos con características de tolerancia y buen crecimiento en concentraciones de Cr (VI) es una alternativa de tratamiento (6).

El aislamiento de los microorganismos adheridos al empaque permite observar la variedad de especies en los consorcios microbianos y su composición por hongos, bacterias Gram positivas y Gram negativas aerobias y anaerobias, que gracias a sus características metabólicas permiten la reducción de cromo VI *in vivo* bajo condiciones controladas. El crecimiento positivo en todas las concentraciones de los medios de cultivo con adición de K_2CrO_4 muestra el amplio rango de tolerancia de los microorganismos aislados especialmente *Penicillium sp*, *Cladosporium sp*, *Acinetobacter iwoffi*, *Lactobacillus agilis* y *Bacillus cereus* los cuales soportaron concentraciones de 330 ppm.

El aislamiento de *Bacillus cereus* en todos los medios de cultivo y en cada una de las concentraciones estudiadas confirma el potencial reductor de metales pesados de este microorganismo, su capacidad reductora con metales como Au y Mn forma aminoácidos mediante reacciones redox, lo cual facilita su posterior recuperación (12). Además, algunos estudios han demostrado que en cepas de *B. cereus*, aisladas de ambientes contaminados como

aguas residuales de metalurgias, producen cromato reductasas y aumento de la expresión de genes *chrA1* y *chrA2*, lo que genera que no se afecte su tasa de crecimiento frente a concentraciones elevadas de cromo VI en el medio en que reside (13).

La variedad de bacterias Gram negativas hace que su frecuencia sea alta y sean más utilizadas en procesos de biorremediación ya que algunas tienen la capacidad de producir exopolímeros o capsulas, sin embargo las bacterias que demostraron mejor tolerancia y crecimiento en concentraciones más altas poseen otro tipo de mecanismo que les permiten la capacidad de resistir concentraciones de cromo VI altas, esto puede suceder con bacterias como *Pseudomonas sp*, *Acinetobacter sp* y *Stenotrophomonas sp* las cuales poseen características de reducción de Cr (VI) a Cr (III) por enzimas solubles en el citoplasma conocidas como cromo reductasas. Al igual que *Citrobacter sp* que permite una bioprecipitación de fosfato del metal a través de cationes liberados (14), esto explica la utilización continua de este tipo de bacterias en los nuevos procesos de biorremediación que se están llevando a cabo con efluentes industriales y el estudio de nuevos géneros que posean características moleculares similares.

El aislamiento e identificación de bacterias anaerobias como *Lactobacillus agilis* permitió confirmar que existen condiciones de anaerobiosis dentro del sistema y esto puede ser originado por el gran espesor de la película microbiana ya que no permite la difusión de oxígeno a través de la película (filtro), no obstante se han identificado características metabólicas que permiten la tolerancia y reducción del metal en este tipo de condiciones.

La frecuencia de hongos aislados en la película adherida fue baja *Penicillium sp* y *Cladosporium sp* a pesar de provenir de desechos industriales, sin embargo su capacidad de bioadsorción de cromo VI es alta debido a la acumulación en los micelios ya que toleran concentraciones superiores a 100 ppm (15),

aunque se ha comprobado la capacidad de transformar metales pesados como Mn, Au, Ni, Ag y Co a ácidos orgánicos como citrato y gluconato lo que facilita su extracción (12), esto puede indicar que las cepas de hongos aisladas pueden tener un potencial biorremediador ya que son de fácil crecimiento y no necesitan exigencias nutricionales.

Todos los resultados obtenidos demuestran que la película adherida al empaque del sistema realizado están compuestas por gran variedad de microorganismos que incluyen hongos y bacterias que en conjunto permiten la reducción de cromo VI de lodos, gracias a la capacidad metabólica que estas poseen lo que confirma que se pueden utilizar procesos microbiológicos como parte de la solución a una problemática ambiental que lleva años en discusión en nuestro país, gracias a que este tipo de metodologías son más económicas y accesibles y no generan la gran cantidad de residuos químicos de otros procesos utilizados en la actualidad.

El Cr VI es un elemento tóxico y con potencial carcinógeno el cual debe ser removido de todo tipo de desecho industrial antes de su disposición final en ríos y rellenos sanitarios por lo que la implementación de métodos microbiológicos puede darle un nuevo enfoque a los métodos de reducción utilizados actualmente. El sistema de medio fijo utilizado obtuvo una remoción del 58% de Cr (VI) del lodo residual de curtiembre lo que lo convierte en una técnica adecuada, económica y eficiente para realizar procesos de biorremediación. La utilización de grapas plásticas como soporte facilita la formación de la película microbiana ya que su composición de polietileno proporciona mejor adhesión y su estructura permite una fluidez y depuración del lodo durante la recirculación continua.

El uso de poblaciones de microorganismos nativos proporciona una ventaja ya que están adaptados a las condiciones del microambiente, lo que permite la formación de una película microbiana más

resistente y estable que garantiza su eficiencia en el proceso. De los microorganismos aislados, el 81.7% fueron bacterias especialmente Gram negativas y el 18.3 % hongos, de lo cual se puede concluir que el sistema de medio fijo proporciona un ambiente favorable para el desarrollo bacteriano.

El aislamiento de microorganismos como *Bacillus cereus*, *Acinetobacter Iwoffi*, *Lactobacillus agilis*, *Penicillium sp* y *Cladosporium sp* permiten una mayor eficiencia en la remoción de Cr (VI) ya que toleran concentraciones hasta 330 ppm. El sistema de medio fijo se convierte en una técnica que puede ser estandarizada y aplicada en grupos de curtiembres para tratar lodos contaminados con Cr (VI) lo que reduce el impacto ambiental generado por este sector.

Referencias

1. Guerrero L, Sandoval Felkin. Colombia: Recursos hídricos y el marco legal. Rev Virt Via inveniendi et iudicandi; 2006 [citado 2010 Oct 22] Disponible en: http://www.usta.edu.co/programas/derecho/revista_inveniendi/revista/imgs/HTML/revistavirtual.
2. Alzate A, Arango C, Aragón M, Tobón O. Proyecto de Gestión Ambiental en la Industria de Curtiembre en Colombia, Diagnóstico y Estrategias. Centro Nacional de Producción más limpia; 2004.
3. Arun K, Cervantes C, Loza-Tavera H, Avudainayagam S. Chromium Toxicity in plants. Rev Environmental International. 2005; 25(31):739-753.
4. Dermou E, Velissariou A, Xenos D, Vayenas D. Biological removal of hexavalent chromium in trickling filters operating with different filter media types. Received. Journal of Hazardous Materials.2006;130: 70-76
5. Córdoba A, Vargas P, Dussan J, Chromate reduction by *Arthrobacter CR47* in biofilm packed bed reactors. Journal of hazardous materials. 2007;151: 274-279.
6. Phillip L, Elangovan R. Performance evaluation of various bioreactors for the removal of Cr (VI) and organic matter from industrial effluent. Biochemical Engineering Journal. 2009; 44: 174-186.
7. Guterres M, Pirete M, Andrade D, Ribeiro E, Cardoso V, De Resende M. Evaluation of hexavalent chromium removal in a continuous biological filter with the use of central composite desing (CCD). Journal of environmental magnament. 2011; 92: 1165-1173.
8. Departamento Nacional de Planeación. Cuero, Calzado e industria de marroquinería. 2002;155-169.
9. Centro panamericano de Ingeniería sanitaria y ciencias del ambiente. Guía Técnica para la minimización de los residuos en curtiembres.1993;1-117.

10. Acosta V, Lodeiro C, Senior W, Martínez G. Niveles de metales pesados en sedimentos superficiales en tres zonas litorales de Venezuela. *Interciencia*. 2002; 27 (12): 686-690.
11. Castells X. Reciclaje de residuos industriales, Aplicaciones para la fabricación. Díaz de Santos S.A. España. 2000; p 99.
12. Minyan H, Xiangyang L, Liang G, Susan J, Christopher R, Gejiao W. Characterization and genomic analysis of chromate resistant and reducing *Bacillus Cereus* Strain SJ1. *BMC Microbiology*. 2010; Vol 10: 221-231.
13. Srinath T, Verma T, Ramteke P, Garg S. Chromium (VI) bio-sorption and bioaccumulation by chromate resistant bacteria. *Chemosphere*. 2002; 48: 427-435.
14. Zahor A, Rehman A. Isolation of Cr (VI) reducing bacteria from industrial effluents and their potential using in bioremediation of chromium containing wastewater. *Journal of environmental science*. 2009; 21: 814-820.
15. Atlas R, Bartha R. *Ecología microbiana y Microbiología ambiental*. Ed Pearson. Madrid (España). 2002. 4 Edición; p: 677.
16. Campos C, Cárdenas M, Guerrero A. Comportamiento de los indicadores de contaminación fecal en diferentes tipos de aguas de la sabana de Bogotá (Colombia). *Universitas Scientiarum*. 2008; 13(2): 103-108.
17. Ley 1252 del 27 de noviembre de 2008. Normas prohibitivas en materia ambiental referente a los residuos y desechos peligrosos. (*Diario Oficial* 47.186 de 27 de noviembre de 2008).
18. Decreto 1594 de 1984. Usos del agua y residuos líquidos, (*Diario Oficial* 36700 de julio 26 de 1984).
19. Decreto 4741 de 2005. Prevención y manejo de los residuos o desechos peligrosos generados en el desarrollo del marco de gestión ambiental. (*Diario Oficial* No. 46.137 de 30 de diciembre de 2005).
20. Acuerdo 008 del 19 de marzo de 2004, Vertimientos de la industria del curtido de pieles y se adoptan otras determinaciones, (*Diario Oficial* 45574 de junio 9 de 2004).
21. Resolución 1402 del 17 de julio de 2006, desarrolla parcialmente el Decreto 4741 de 2005 en materia de residuos o desechos peligrosos, (*Diario Oficial* 46333 de julio 18 de 2006).

