

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE CONSORCIOS BACTERIANOS REMEDIADORES DE AGUAS RESIDUALES CONTAMINADAS CON DETERGENTES.

POR:

FANNY VALENCIA LEGARDA¹

NATALY ANDREA SALCEDO ZAMBRANO²

CAMILO ANDRÉS PÁRAMO VELÁSQUEZ³

| RESUMEN

La contaminación del agua constituye una gran problemática en la actualidad debido al crecimiento poblacional, la industrialización y la urbanización, además la mayoría de los vertidos de aguas residuales son realizados a los ecosistemas acuáticos sin tratar o con tratamientos deficientes, lo que ocasiona la eutrofización de los cuerpos de aguas receptores y las consecuentes problemáticas ambientales, tales como el crecimiento desmesurado de algas, descensos abruptos del oxígeno disuelto y la muerte de fauna por asfixia. El principal objetivo de este proyecto es evaluar la actividad biológica de consorcios bacterianos como remediadores de aguas residuales contaminadas con detergentes, lo cual se realizó muestreando en diferentes puntos de la ciudad de Cartagena que cumplieran con características físicas de eutrofización, luego se realizó el análisis de las características fisicoquímicas y microbiológicas del agua muestreada, se realizaron pruebas bioquímicas para determinar principalmente la solubilización de fosfatos y la reducción de nitratos, y se conservaron las cepas con mayor capacidad para degradar nitratos

y solubilizar fosfatos, las cuales fueron 2 de las 6 cepas encontradas, y una de estas se presume de acuerdo a sus características que corresponde al género *Klebsiella* sp. Todo esto con el propósito de emplear estos microorganismos a través de un prototipo a bajo costo, en el que las aguas residuales contaminadas con detergentes puedan ser reutilizadas o en su defecto para que al realizarse los vertidos, vayan con menor carga de contaminantes a los cuerpos de agua.

Palabras claves: USE Aguas residuales, TR Contaminación, TR Biorremediación.

Keywords: Wastewater, Pollution, Bioremediation.

SENA-Centro Agroempresarial y Minero, Semillero SICAMS, soescobar@misena.edu.co

SENA-Centro Agroempresarial y Minero, Semillero SICAMS, spvasquez3@misena.edu.co

SENA- Centro Agroempresarial y Minero, yromeroh@misena.edu.co

I. INTRODUCCIÓN

La contaminación del agua es una modificación generada directa o indirectamente por el ser humano, y que a su vez ocasiona que esta se vuelva peligrosa tanto para el mismo como para el resto de seres vivos que dependen de ella (EcologíaHoy, 2013), que son las plantas y los animales. La contaminación hídrica puede afectar desde el lago más pequeño hasta el ecosistema acuático más grande ya que la contaminación está dada en su mayoría tanto por la mala disposición de desechos sólidos como por vertimientos de cualquier tipo de sustancia (López. 2009).

La mayoría de los vertidos de aguas residuales no son tratados, simplemente se descargan en los ríos, el mar, y/o humedales, lo que provoca una gran problemática, conocida como eutrofización, la cual consiste en el enriquecimiento de las aguas con nutrientes, en especial con los fosfatos (José Frias, 2012), produciéndose de esta manera un crecimiento excesivo de algas, que al morir se depositan en el fondo de los ríos o lagos, generando residuos orgánicos que, al descomponerse, consumen gran parte del oxígeno disuelto y de esta manera pueden afectar a la vida acuática y producir la muerte por asfixia de la fauna y flora. (Romero., 2010)

Las aguas residuales municipales están compuestas de materia orgánica, nutrientes (fundamentalmente nitrógeno y fósforo), cantidades traza de compuestos orgánicos recalcitrantes y metales. (Salgado-Bernal I., 2012). De la gran cantidad de nutrientes vertidos a los cuerpos de agua, los que mayor predominancia tienen en estos son los nitratos y fosfatos, que son sustancias solubles en agua que las plantas necesitan para su desarrollo, pero si se encuentran en cantidad excesiva inducen el crecimiento desmesurado de algas y otros organismos provocando la eutrofización de las aguas. Cuando estas algas y otros vegetales mueren, al ser descompuestos por los microorganismos, se agota el oxígeno y se hace imposible la vida

de otros seres vivos. El resultado es un agua maloliente e inutilizable. (García., 2002)

En este proceso de asimilación de nutrientes en las plantas, participan muchos microorganismos. Los microorganismos son organismos normalmente formados por una sola célula. Debido a esto, a veces se les denomina “organismos unicelulares”.

Los microorganismos se clasifican según sus características celulares, en dos tipos (LENNTECH. 2017):

- Eucariota (protistas).
- Procariota (mónera).

En la ciudad de Cartagena aunque hay numerosos avances en materia estructural, en cuanto a la planificación y correcta ejecución del sistema de limpieza y alcantarillado se encuentran muchas fallas, la principal de ellas es que muchos barrios y corregimientos de la misma no cuentan con el sistema de alcantarillado y servicio de acueducto (Arcieri. 2004) lo que obliga a las comunidades a verter sus desechos de manera directa a los cuerpos de agua aledaños, mismos que utilizan a su vez para abastecerse, lo que puede generar numerosas enfermedades de tipo entéricas y virales.

Teniendo en cuenta que en la ciudad de Cartagena de Indias se presenta el vertimiento excesivo de aguas domésticas contaminadas con sustancias orgánicas (detergentes) a canales, debido a que no existe una adecuada conexión con el alcantarillado, se considera de importancia aplicar estrategias biotecnológicas para el tratamiento de dichas aguas, con el fin de brindar soluciones que sean eficientes y económicas. Debido a esta creciente contaminación de los cuerpos de agua en la actualidad muchas investigaciones están focalizadas en la implementación de sistemas biológicos que permitan la limpieza y recuperación de las áreas impactadas por estos contaminantes orgánicos y algunos de ellos inorgánicos. (Ronald Ferrera-Cerrato, 2006).

La problemática mencionada anteriormente, en muchas ocasiones se minimiza con el empleo de

tratamientos físico- químicos, que parcialmente hacen remoción de materia orgánica pero el costo de los reactivos puede ser alto, la remoción de la demanda química de oxígeno es pobre e incluso podría producir residuos (Vidal. 2000), por eso el propósito de este proyecto fue la implementación de técnicas sostenibles y que no generen consecuencias en los ecosistemas haciendo uso de procesos como los biológicos considerados por la biotecnología ambiental como una excelente estrategia para la remediación de aguas contaminadas por compuestos orgánicos, a través de la evaluación del efecto biorremediador que ejercen consorcios microbianos en la degradación de estos compuestos. Por esto, surge el interrogante:

¿Cuál es el efecto biorremediador que ejercen consorcios microbianos en la degradación de contaminantes como el detergente, en aguas residuales?

Partiendo de esta pregunta se planteó en primera instancia un objetivo general que enmarque el enfoque del proyecto el cual es evaluar la actividad biológica de consorcios bacterianos remediadores de aguas residuales contaminadas con detergentes. Luego de plantear el objetivo general se marcaron 4 objetivos específicos que corresponden a:

1. Realizar la caracterización físico – química de las muestras de aguas residuales obtenidas de diferentes puntos ubicados en la ciudad de Cartagena de Indias.
2. Aislar consorcios microbianos biodegradadores a partir de las muestras de agua
3. Evaluar el efecto biorremediador de consorcios microbianos nativos en aguas residuales
4. Diseñar un sistema piloto para el tratamiento biológico de las aguas residuales.

De los objetivos antes mencionados cabe resaltar que en este artículo se presentarán los avances

obtenidos en cuanto a los 2 primeros objetivos, los cuales mostraron resultados claves para esta investigación; debido a la escasez de materiales en nuestro laboratorio, lo cual por el momento ha retrasado el avance de este proyecto para concretar los objetivos restantes y mostrar resultados contundentes.

II. METODOLOGÍA

Investigación analítica- experimental con metodología cuantitativa.

1. Localización de la investigación: Los ensayos de biorremediación se realizarán en el laboratorio de biotecnología del centro Agroempresarial y Minero.

2. Población de estudio: Se evaluará la actividad biológica de consorcios microbianos obtenidos de muestras de aguas residuales en distintos sectores de la ciudad de Cartagena.

3. Puntos de muestreo: Se organizó un muestreo de acuerdo a lo planteado en la NTC- ISO 5667-1995 en la que se habla de técnicas generales de muestreo. Primeramente, para seleccionar los puntos de muestreo (Figura 1) se tuvo en cuenta que fueran lugares donde hubiera gran cantidad de asentamientos urbanos y, en su defecto, comerciales, para



Figura 1. Ubicación de puntos de muestreo.
Fuente: Google Earth.

contrastar las cantidades de vertidos de aguas contaminadas con detergentes a los cuerpos de agua en el estudio de nitratos y fosfatos presentes en esta.

Otro de los aspectos tenidos en cuenta para localizar los puntos de muestreo fueron comunidades que no contaran con el óptimo servicio del alcantarillado, lo cual da como resultado una desembocadura directa de los desechos a los canales o en su defecto al cuerpo de agua colindante (Figura 2); partiendo de esto se tomó como primer punto los alrededores de la Laguna el Cabrero (Barrio Marbella) con coordenadas $10^{\circ}26'3.17''\text{N}$ - $75^{\circ}32'5.49''\text{O}$, Caño Ricaurte (Olaya Herrera) con coordenadas $10^{\circ}24'56.55''\text{N}$ - $75^{\circ}30'41.48''\text{O}$, y la Ciénaga de la virgen (Vía perimetral) con coordenadas $10^{\circ}24'23.97''\text{N}$ - $75^{\circ}29'20.04''\text{O}$.



Figura 2. Observación de desechos sólidos en la laguna el Cabrero.
Fuente: Propia.

4. Métodos.

A. Análisis de parámetros físico-químicos.

Los métodos aplicados se realizaron con el fin de obtener datos que permitieran hacer una comparación del comportamiento que se desea de los microorganismos a aislar con las condiciones de crecimiento de cada uno de ellos en este medio, puesto

que será determinante a la hora de realizar bioensayos para probar la capacidad de degradación de cada uno en el medio al cual serán adaptados.

Se aplicaron distintos procedimientos (Figura 3) para realizar el análisis físico-químico y microbiológico de las muestras de agua residual. Primeramente se tomaron parámetros en sitio respecto a pH, Temperatura y Oxígeno disuelto, con el multiparámetros. Para medir la concentración de nitratos y fosfatos, se tomaron cantidades significativas de agua y se transportaron hasta el laboratorio de Biotecnología del Centro Agroempresarial y Minero. Se realizó primeramente el análisis de Nitratos por espectrofotometría UV de acuerdo a la metodología de (Herrera., 2009.), en el cual se midió la concentración de nitratos presentes en las muestras de agua residual obtenidas en cada punto muestreado, mediante la realización de una curva de calibración a partir de la preparación de una solución madre y una solución patrón de nitrato de potasio (KNO_3) y la medición de la absorbancia a 220 y 273 nm en el espectrofotómetro UV.

Luego el procedimiento realizado fue el de análisis de Fosfatos por colorimetría, en el cual se midió la concentración de fosfatos presentes en las muestras de agua residual obtenidas en cada punto muestreado tomando una muestra de agua, añadiendo un sobre de reactivo para fosfatos y midiendo la concentración colorimétricamente, de acuerdo a lo que plantea el manual de procedimientos del equipo (Colorímetro ORBECO HELIGE MC-500).

B. Análisis de parámetros microbiológicos.

Para la medición de parámetros microbiológicos de las muestras de agua residual, se aplicaron las técnicas utilizadas en el Laboratorio de Biotecnología del Centro Agroempresarial y Minero donde primeramente se aplicó la técnica de las diluciones seriadas para bajar la concentración de cada una de las muestras y luego se realizó la siembra en los medios



Figura 3. Muestreo y Análisis de muestras.

Fuente: Propia

de cultivo selectivo y diferencial de Agar nitrato y Agar SRSM. Se incubaron por 24 horas a 35°C y se realizó caracterización macroscópica de acuerdo a las características morfológicas de las colonias y microscópica utilizando la técnica de tinción según Gram que según la coloración determina si las bacterias son Gram negativas (Fucsia) o Gram positivas (Violeta), lo que nos permitió identificarlas en los objetivos 4x, 10x y 100x.

Para la determinación de la reducción de nitrato de las cepas aisladas se aplicó en tubos de ensayo con el inóculo de cada una de las cepas obtenidas, el reactivo A y B de Griess- Ilosvay, el cual proporcionaría información de las cepas reductoras mediante un cambio de color en el medio o la ausencia de este, igualmente se procedió a analizar la capacidad de solubilizar fosfatos por parte de estas cepas en un medio solido de Agar SRSM (Sundara- Rao & Sinha.

1963) con púrpura de Bromocresol, en el que se determina esta capacidad por la acidificación del medio, la aparición de halos y cambio de color del mismo.

También se realizó el análisis para determinar la patogenicidad de las cepas aisladas, mediante la técnica del número más probable (NMP), esto se realizó aplicando 2 fases, una presuntiva y una confirmativa. Para la prueba presuntiva se inocularon tubos con cada una de las cepas y se incubaron por 24 horas a 35°C. Luego de implementar la metodología para determinar Coliformes en las muestras de agua residual se realizó el conteo de los tubos positivos. Igualmente se procedió para la fase confirmativa haciendo réplicas de los tubos positivos que resultaron en la fase presuntiva.

Finalmente se realizaron repiques de las cepas en medio con Agar nutritivo y se procedió a hacer la conservación de las mismas en donde se utilizó el

método de Crio-preservación por ultracongelación a -87°C con el crio-preservante dimetil sulfoxido (DMSO) al 50%. Se prepararon medios con caldo BHI como suspensión celular, dimetil sulfoxido (DMSO) para la conservación de las cepas y agua peptonada. Se realizó purificación con la técnica de la siembra masiva para luego hacer raspado de cajas e inocular en la suspensión. Se prepararon 10 viales por cada una de las cepas aisladas y se Crio- preservaron en ultracongelación. (Figura 4).

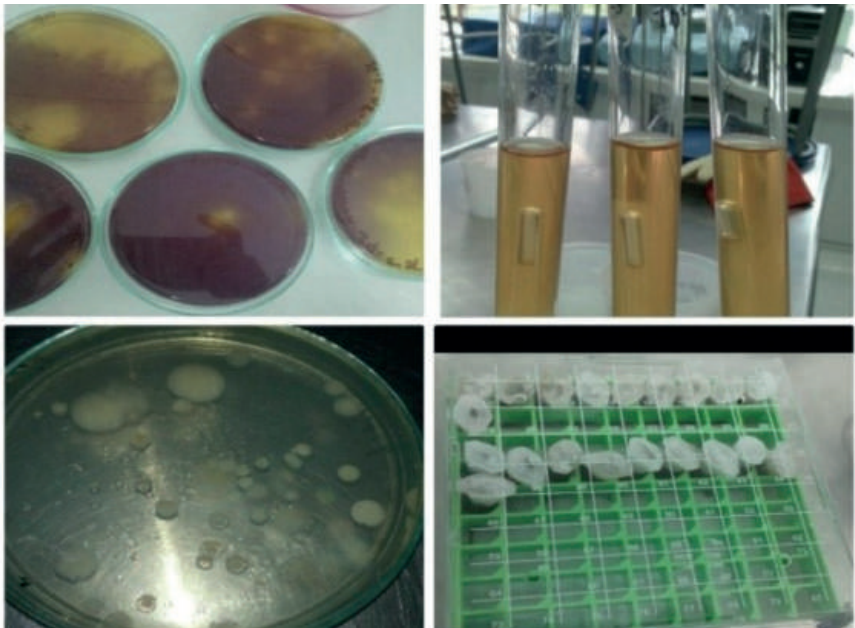


Figura 4. Procedimientos microbiológicos y conservación de cepas.
Fuente: Propia.

III. RESULTADOS

1. Análisis de parámetros físico-químicos

Al medir con el Multiparámetros los parámetros fisicoquímicos en cada punto y en el laboratorio, se encontraron los resultados presentados en la tabla 1.

En esta tabla se muestra la relación que guarda cada parámetro, en tanto que algunos llegan a depender de otros. Se puede observar que los niveles de pH, se mantienen cerca del valor neutro, lo cual es muy importante a la hora de realizar la evaluación biológica, dado que esta se desarrolla bajo intervalos estrictos de pH, pero para otras especies los valores entre 5-9 unidades de pH, no son significativos para afectar esta actividad, solo aplica para especies mucho más estrictas (GARCÍA & LÓPEZ, 1985). También se puede observar la relación inversamente proporcional entre la temperatura y el oxígeno disuelto dado que entre más cálida es el agua menores son las concentraciones de oxígeno disuelto en esta;

Tabla 1. Resultado de la medición de parámetros fisicoquímicos en sitio y en el laboratorio.			
Punto Parámetro	P1	P2	P3
pH	7.3	8,0	7.5
Temperatura	7.5	37,2°C	37°C
O2 Disuelto	1,21 mg/L	1,77 mg/L	1,70 mg/L
Fosfato	2,0 mg/L	7,2 mg/L	3,4 mg/L
Nitrato	18,54 mg/L	32,4 mg/L	29,12 mg/L

Tabla 1. Resultado de la medición de parámetros fisicoquímicos en sitio y en el laboratorio.

también se muestran niveles extremadamente bajos, dado que los niveles normales de oxígeno disuelto en el agua son de 5-12 mg/L (Goyenola, 2007); además se muestran niveles elevados de nitratos y fosfatos dado que en Colombia el nivel máximo permitido de nitratos en agua es de 10 mg/L y de Fosfatos 5mg/L (Res 2115., 2007), cantidad que se vio excedida en la medición de este parámetro en los 3 puntos analizados y para fosfatos en el punto 2.

2. Análisis de parámetros microbiológicos.

Luego de realizar el procedimiento de diluciones seriadas se caracterizaron macro y microscópicamente las colonias bacterianas, en los medios con Agar nitrato y SRSM con púrpura de Bromocresol.

Se realizó el conteo en placa de las UFC (unidades formadoras de colonias) presentes en medio con Agar Nitrato, mediante la fórmula:

N° de colonias X inverso de dilución X Factor de corrección $60 \times 10.000 \times 10 = 6 \times 10^7$ UFC/mL

Y luego las UFC que crecieron en Agar SRSM, que mediante el colorante púrpura de Bromocresol, mostraron las cepas que fueron capaces de degradar el fosfato presente en el medio, mediante el desarrollo de un halo de color amarillo.

N° de colonias X inverso de dilución X Factor de corrección $72 \times 10.000 \times 10 = 7.2 \times 10^7$ UFC/mL

A. Caracterización macroscópica.

Generalmente en el medio de Agar nitrato, crecieron 2 tipos de bacterias y en el medio de Agar SRSM crecieron 4 tipos de bacterias, como lo muestra la tabla 2, donde se observa la variedad en formas, borde, elevación y textura; también se muestra, que todos los aislados corresponden al tipo de microorganismo bacilo Gram Negativos.

Tabla 2. Cepas en Agar Nitrato	
Cepas en Agar Nitrato	
Cepa	Características
CAM2-N	<i>Borde entero, textura cremosa, elevadas, forma circular, Bacilos cortos Gram-.</i>
CAM2-N2	<i>Borde Dentado, textura Cremosa Planas, forma Rizoide, Bacilos cortos</i>
Cepas en Agar SRSM	
	Medida
Cepa CAM2-F3	<i>Borde entero, textura cremosa, convexa, forma circular, Bacilos cortos Gram-.</i>
CAM2-F4	<i>Borde ondulado, textura cremosa, planas, forma irregular, Bacilos cortos Gram -.</i>
CAM3-F3	<i>Borde entero, textura cremosa, planas, puntiformes, Bacilos cortos Gram -.</i>
CAM3-F4	<i>Borde entero, textura cremosa, pulvinada, forma circular, Bacilos cortos Gram -.</i>

Tabla 2. Características morfológicas de las cepas aisladas.

B. Caracterización Microscópica

En la caracterización microscópica se obtuvieron los siguientes datos: Bacilos Gram negativos, cortos. Estas características fueron determinadas mediante tinción de Gram que a bacilos Gram negativos les da un color fucsia, lo que permitió identificarlos bajo la luz del microscopio óptico, como lo muestra la Figura 5.

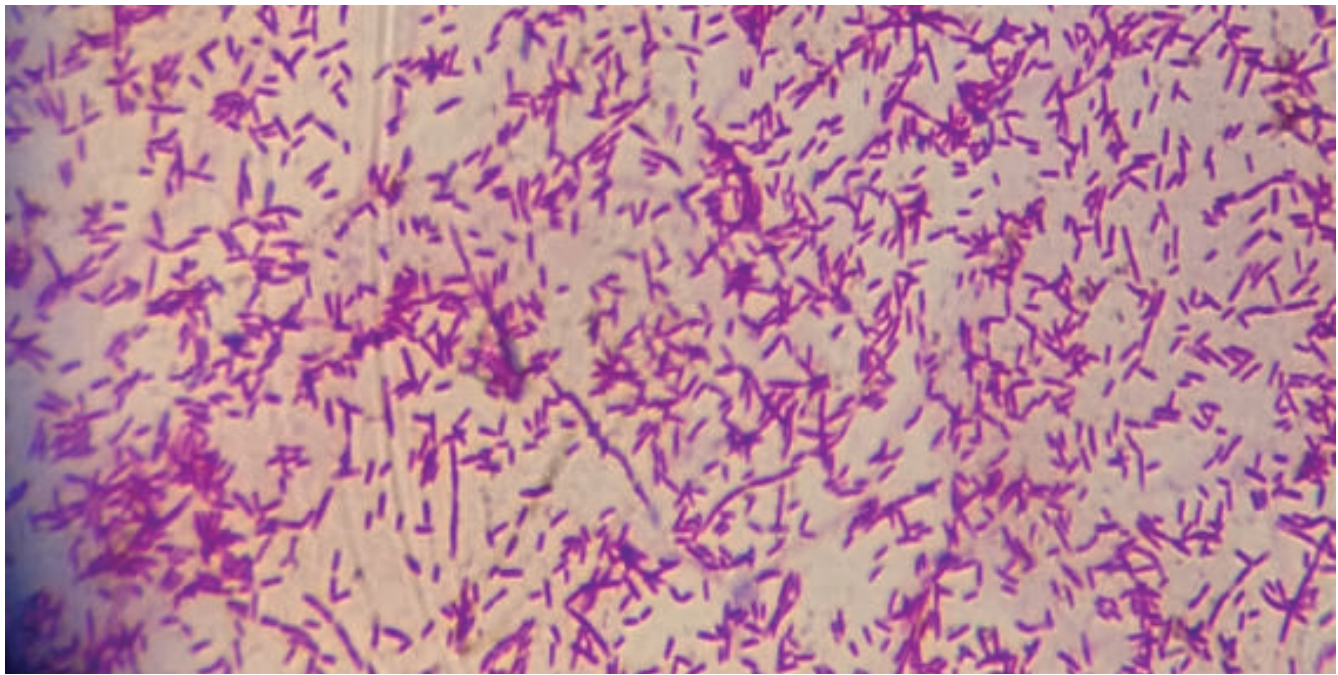


Figura 5. Bacilos Gram- vistos al microscopio en el objetivo de 100x.
Fuente: Propia.

C. Prueba de reducción de nitrato.

En tubos inoculados por 24H a 35°C en caldo Nitrato, se aplicó 1 mL de reactivo A y B de Griess-Ilosvay en cada tubo del cual se obtuvo que la cepa CAM2-N es positiva, es decir que si son reductoras de Nitrato y la cepa CAM2-N2 resultó negativa, estas no son reductoras de Nitrato, esto fue determinado mediante un cambio de color en el medio de transparente a Rojo (Figura 6), cambio que no fue notado con la otra cepa en estudio.

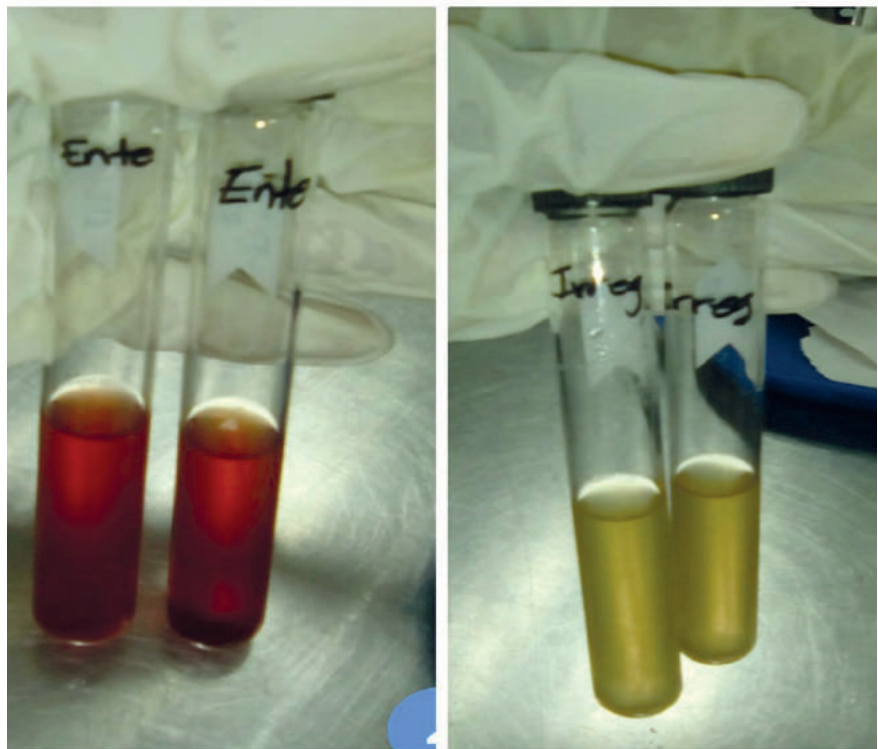


Figura 6. Cambio de color en prueba de reducción de nitratos.
Fuente: Propia.

D. Determinación de coliformes por el método del número más probable (NMP)

Luego de implementar la metodología para determinar coliformes en las muestras de agua residual, se obtuvieron los siguientes resultados en la prueba presuntiva:

Punto 1-Marbella: 1100 NMP/mL

Punto 2- Vía perimetral: 42 NMP/mL

Punto 3- Caño Ricaurte: >1100 NMP/mL

Luego se realizó la réplica de los tubos positivos (Figura 7) y se incubaron a 45 °C por 48 H para determinar coliformes fecales en la prueba confirmativa, de la cual se obtuvieron los siguientes resultados:

Punto 1-Marbella: 1100 NMP/mL

Punto 2- Vía perimetral: 42 NMP/mL

Punto 3- Caño Ricaurte: >1100 NMP/mL

Después de realizar pruebas bioquímicas a las 6 cepas obtenidas en el aislamiento, se eligieron 3 cepas, 1 fue capaz de reducir nitratos a nitritos, aislado que fue contaminado y 2 que fueron capaces de solubilizar fosfatos, a las cuales para reducir el gasto de reactivos se realizaron pruebas para determinar si las cepas resultantes eran capaces de realizar el mismo trabajo, por esto se evaluó la capacidad reductora de las cepas solubilizadoras de fosfato y se determinó que poseen la capacidad de reducir nitratos y solubilizar fosfatos. Luego se realizó siembra en medios de cultivo selectivo y diferencial de Agar EMB y Agar McConkey que son medios para crecimiento de enterobacterias en los cuales, de acuerdo a las características macro y microscópicas de las colonias, se presume pertenecen al género *Klebsiella* sp.

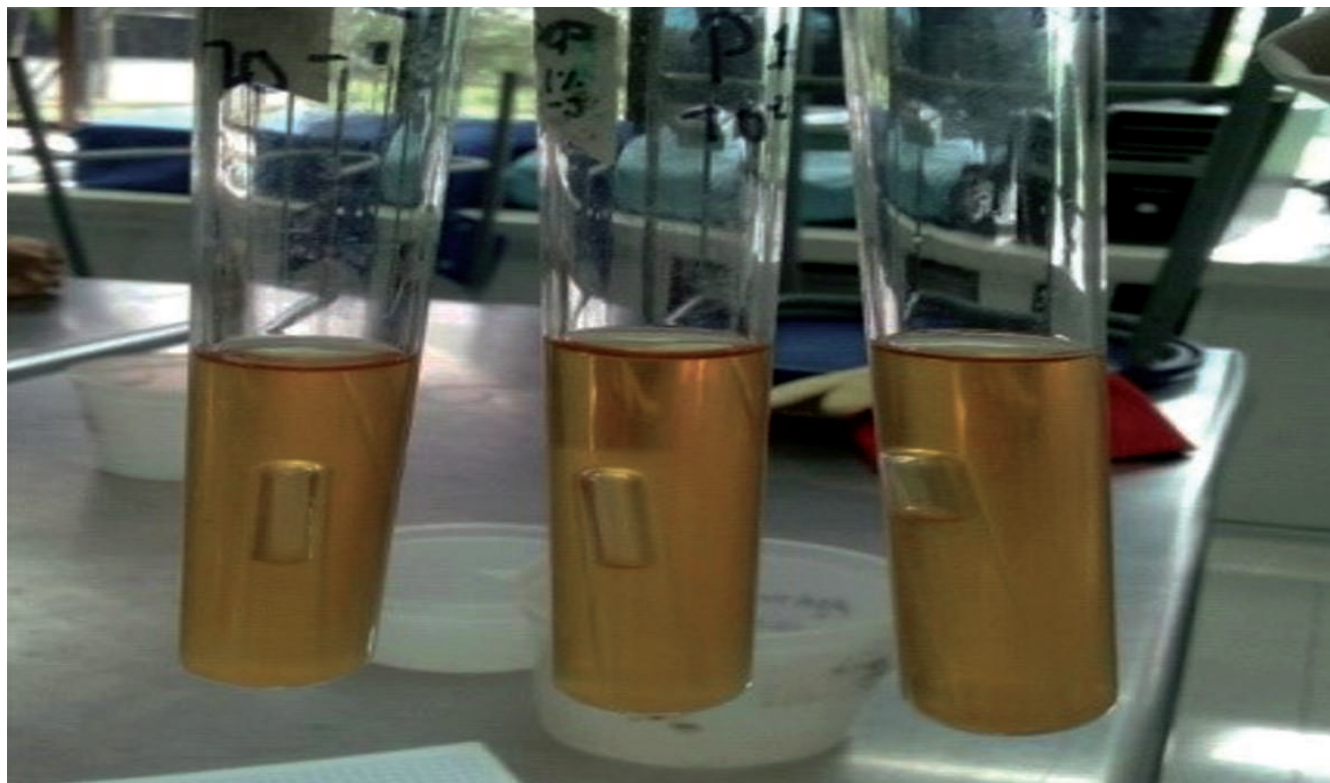


Figura 7. Tubos positivos en prueba presuntiva.
Fuente: Propia.

IV. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Si bien es cierto que hay una alta influencia de las condiciones fisicoquímicas sobre el crecimiento de los microorganismos que estas deben favorecer, para demostrarlo se realizó la medición de los parámetros fisicoquímicos en distintos puntos de la ciudad de Cartagena, receptores de aguas residuales domésticas y comerciales, los cuales mostraron una degradación de la calidad ambiental de estos puntos con las condiciones de contaminación a la que están sometidos, puesto que las condiciones del oxígeno disuelto eran significativamente bajas como para mantener las condiciones óptimas para albergar la vida de muchos microorganismos y mantener la calidad del agua. Caso similar a lo que plantea (Leal., 2015), en su trabajo de grado realizado para determinar la capacidad biodegradadora de bacterias aisladas de rizósfera de plantas de la ribera del río Combeima, y al tomar los parámetros fisicoquímicos determinaron que estaba siendo afectado por la contaminación, dado que al igual que en la toma de nuestros parámetros notaron descensos en los niveles de oxígeno disuelto. Por esta razón se ha decidido tomar medidas en cuanto al tratamiento de este importante recurso, planteando en nuestro proyecto una solución desde la remediación con microorganismos nativos de las aguas residuales mientras que Leal, atacaría la problemática con microorganismos aislados de rizósfera de plantas que están alrededor del río Combeima.

*Por otro lado se tuvo el crecimiento de una cepa presuntiva de *Klebsiella* sp, microorganismo con la capacidad de crecer y/o adaptarse a ambientes con condiciones ambientales precarias, lo cual sustenta la presencia de esta en las muestras de agua tomadas. Al realizarle pruebas bioquímicas se pudo determinar que es reductora de nitrato y solubilizadora de fosfato, capacidad natural conferida a los microorganismos pertenecientes a la familia de las Enterobacterias, de acuerdo a lo planteado por (Beltrán., 2014) en el*

artículo “La solubilización de fosfatos como estrategia microbiana para promover el crecimiento vegetal” y (Pachón., 2004) en su tesis “Aislamiento, Identificación y Serotipificación de enterobacterias” donde determina la alta capacidad reductora de nitratos que posee este género bacteriano, lo cual está sustentado en el proyecto “Remoción biológica simultánea de fósforo y nitrógeno de agua residual”, liderado por (Morales., 2006), donde evidencia en la presentación de sus resultados que si es posible la remoción simultánea de fosfato y nitrato en agua residual a partir de bacterias que son capaces de acumular fosfatos a partir del oxígeno de los nitratos.

V. CONCLUSIÓN

Dado que nuestro proyecto aún se encuentra en curso, se concluye acerca de la caracterización fisicoquímica y microbiológica de las muestras de agua tomadas.

La medida cuantitativa de cada parámetro permitió determinar que las condiciones en las que se encuentran los cuerpos de agua en los que se realizaron los muestreos están en estado crítico debido a la gran cantidad de residuales vertidos, donde se notó la escasa cantidad de oxígeno disuelto presente en ellas y la alta concentración de nutrientes como el nitrato y el fosfato, lo cuales fueron características importantes a la hora de hallar los microorganismos nativos que se requieren para este estudio.

*Aun en estas precarias condiciones se notó la permanencia de algunos microorganismos cuyas condiciones de vida poco exigentes les permitieron crecer en medios con alta concentración de nutrientes, como en el caso de la presunta cepa del genero *Klebsiella* sp, a la cual se le realizarán las evaluaciones pertinentes del potencial para la degradación del contaminante objeto de este estudio (Detergente).*

VI. REFERENCIAS

- Arcieri G, V. (25 de junio de 2004). LA CONTAMINACIÓN AMENAZA DOS BALNEARIOS DE CARTAGENA. El tiempo. Recuperado de <http://www.eltiempo.com/archivo/documento/MAM-1500437>
- Beltrán Pineda, M.E. (2014). La solubilización de fosfatos como estrategia microbiana para promover el crecimiento vegetal. Corpoica Cienc. Tecnol. Agropecu. Volumen 15 (1). 101-113. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/ccta/v15n1/v15n1a09.pdf>
- EcologíaHoy. 04 de Octubre de 2013. Contaminación del agua. [Entrada de Blog]. Recuperado de <http://www.ecologiahoy.com/contaminacion-del-agua>.
- García., G. (2002). Enfermería Comunitaria I. Obtenido de Salud Pública.: <http://ocw.unican.es/ciencias-de-la-salud/salud-publica-y-atencion-primaria-de-salud/otros-recursos-1/lecturas/bloque-iii/Contaminacion%20del%20agua.pdf>
- GARCÍA, M. E., & LÓPEZ, J. A. (1985). CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO TECNOLÓGICO DEL AGUA (CIDTA). Obtenido de AGUAS RESIDUALES. COMPOSICIÓN.: http://cidta.usal.es/cursos/EDAR/modulos/Edar/unidades/LIBROS/logo/pdf/Aguas_Residuales_composicion.pdf
- Goyenola, G. (Junio de 2007). Asociación Civil: Investigación y Desarrollo. Obtenido de Oxígeno Disuelto.: http://imasd.fcien.edu.uy/difusion/educamb/propuestas/red/curso_2007/cartillas/tematicas/OD.pdf
- Herrera, R. B. (2009). ESPECTROFOTOMETRÍA- ULTRAVIOLETA. ANÁLISIS DE NITRATOS DE AGUAS.
- José Frías, N. G. (2012). BIORREMEDIACIÓN DE AGUAS CONTAMINADAS CON DETERGENTES POR MEDIO DE BACTERIAS QUIMIOSINTETIZADORAS. La Serena, Chile: CONCURSO XIII JUNIOR DEL AGUA 2013.
- Leal, Juan., (2015). EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD BIODEGRADADORA DE MATERIA ORGÁNICA DE BACTERIAS AISLADAS DE LA RIZÓSFERA DE DOS PLANTAS DE LA RIBERA DEL RIO COMBEIMA- TRAMO UT. (Trabajo de grado). Universidad del Tolima, Tolima, Colombia.
- LENNTECH. (s.f.). LENNTECH. Obtenido de LENNTECH: <http://www.lenntech.es/faq-microbiologia-del-agua.htm>
- López Rivera, N. C. (23 de Julio de 2009). PROPUESTA DE PROGRAMA PARA EL MANEJO DE LOS RESIDUOS SÓLIDOS EN LA PLAZA DE MERCADO DE CERETE, CEREABASTOS – CORDOBA. Bogota.
- Ministerio de Ambiente y Desarrollo. (22 de Junio de 2007). Características, instrumentos básicos y frecuencias del sistema de control y vigilancia para la calidad del agua para consumo humano. [Resolución 2115].
- Morales Mejía, J. C. S. G. M. & O. G. B. (2006). Remoción biológica

simultánea de fósforo y nitrógeno de agua residual. Ingeniería Ambiental.

NTC ISO 5667 de 1996.

Pachón Cubillo, D. A. (2004). AISLAMIENTO, IDENTIFICACIÓN Y SEROTIPIFICACIÓN DE ENTEROBACTERIAS DEL GÉNERO Salmonella EN UNA POBLACIÓN DE Crocodylus Intermedius Y TESTUDINOS MANTENIDOS EN CAUTIVERIO EN LA ESTACIÓN DE BIOLOGÍA TROPICAL ROBERTO FRANCO E.B.T.R.B DE LA FACULTAD DE CIENCIAS – UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA EN VILLAVICENCIO – META. (Trabajo de grado). Recuperado de file:///E:/Proyecto%20Semilleros/tesis198%20discusion%20nitrato.pdf

Romero., M. (2010). PROCESO DE EUTROFIZACIÓN DE AFLUENTES Y SU PREVENCIÓN POR MEDIO DE TRATAMIENTO DE EFLUENTES. Ingeniería primero., 64-74.

Ronald Ferrera-Cerrato, N. G.-A.-V.-V. (2006). Procesos de biorremediación de suelo y agua contaminados por hidrocarburos del petróleo y otros compuestos orgánicos. Revista Latinoamericana de Microbiología., pp 179-187.

Salgado-Bernal I., D.-D. C.-A.-V.-S. (2012). Bacterias rizosféricas con potencialidades fisiológicas para eliminar materia orgánica de aguas residuales. Revista Internacional Contaminación Ambiental. , 17-26.

Vidal G., Carvalho A., Mendez R., Lema J.M. Influence of the content in fats and proteins on the anaerobic biodegradability of dairy wastewaters. Bioresource Technology. 2000; 74: 231-9.