

Diminution of the COD in formation waters using bacterial stocks

**Fernando Luis Castro Echavez¹, Nola María Fernández Acosta²
y Magaly Jackelin Chávez Delgado²**

¹Centro de Investigaciones, Universidad de la Guajira. km 5 vía Maicao, Fax 7285306.

fernandocastroechavez@gmail.com

²Departamento de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, Universidad del Zulia.

Maracaibo, Venezuela. nfernan@cantv.net / mjchavezd@hotmail.com

Abstract

Five groups bacteria were isolated and identified from liofilized samples of contaminated soil. The identification of these bacteria included: Gram stain, oxygen tension and, biochemical tests. Individually and in consortium, the microorganisms isolated were used to conduct a treatability study on a laboratory scale as well as in a mesofilic aerobic reactors with load of 3 L, that have a useful volume of 1 L. The reactor contained 0,3 L of bacterial suspension and 0,7 L of water supplemented with a formation of mediated petroleum. Before and during the 6 days of experimentation were measured the pH, COD, total alkalinity, VSS and TSS of formation water were. The results considered were those collected from the second day of treatment, since it is then when the conditions in the reactors are more stable and the microorganisms are more adapted to medium provided. Those results indicated an efficient reduction of the COD, (between 62,4 and 89,8%), while using the different bacterial stocks properly characterized and the consortium., this finding showed the efficiency of the individual microorganisms and in groups to biodegrade complex organic matter present in the water formation used. We found that the bacterial consortium was more efficient in the reduction of the COD (89,8%), followed by Xanthomonas (84%) and Aeromonas (80,6%) genus.

Key words: Consortium of bacteria, biodegradability, water from medium petroleum formation, aerobic treatment.

Disminución de la DQO en aguas de formación utilizando cepas bacterianas

Resumen

En la presente investigación se aislaron e identificaron 5 grupos bacterianos de 3 muestras liofilizadas de suelos contaminados. La identificación de las bacterias incluyó la tinción de Gram, tensión de oxígeno y pruebas bioquímicas. Los microorganismos, individuales y en consorcio, fueron utilizados para realizar pruebas de tratabilidad a escala de laboratorio en reactores aerobios mesofílicos por carga de 3 L, con un volumen útil de 1 L, conteniendo 0.3 L de suspensión bacteriana y 0.7 L de agua de formación de petróleo mediano. Antes y durante los 6 días de experimentación se realizaron mediciones de pH, DQO, alcalinidad total, SSV y SST del agua de formación. Los resultados considerados a partir del segundo día de tratamiento, cuando las condiciones en los reactores son más estables y los microorganismos están más adaptados al medio proporcionado, indican una eficiente disminución de la DQO, entre 62.4 y 89.8%, utilizando las diferentes cepas bacterianas, debidamente caracterizadas, y el consorcio, demostrando la eficiencia de los microorganismos, individuales y en conjunto, de biodegradar la materia orgánica compleja

presente en el agua de formación utilizada, correspondiendo las mayores eficiencias en la disminución de la DQO al consorcio bacteriano (89,8%) seguido por los géneros *Xanthomonas* (84%) y *Aeromonas* (80,6%).

Palabras clave: Consorcio de bacterias, biodegradabilidad, aguas de formación de petróleo mediano, tratamiento aerobio.

Introducción

Las aguas de formación son denominadas por algunos investigadores como aguas de producción (AP), debido a que las muestras son tomadas en el cabezal de los pozos [1]. Estas aguas presentan una composición compleja ya que contienen crudo libre y emulsionado, hidrocarburos, sólidos suspendidos, gases, sales, mercaptanos y otros compuestos [2]. En Venezuela, el campo de Ulé representa el 32.31% del AP de la región Occidental del país [305000 barriles diarios (305 MBD)]. La capacidad instalada de tratamiento y reinyección en la región para el año 2001, fue de 330 MBD y 370 MBD respectivamente, estimándose para el año 2010 un déficit de 115 MBD tanto para el tratamiento como para la reinyección [3]. Estos datos muestran la urgencia de seguir métodos alternos de tratamiento y disposición de las AP [1]. El tratamiento que la Industria Petrolera Venezolana ha dado a las aguas de formación se ha basado generalmente en métodos físicos o químicos; sin embargo, los efluentes líquidos generados luego de estos tipos de tratamientos no cumplen con la normativa legal vigente para su vertimiento en cuanto al contenido de 350 mg/L de materia orgánica (DQO) [4]. Además, en la región, la generación e inadecuada disposición de diferentes tipos de efluentes industriales, contribuyen al deterioro del Lago de Maracaibo [5].

Debido a que gran parte de las sustancias que transportan las aguas de formación es materia orgánica, de la cual una fracción importante es biodegradable, el tratamiento biológico surge como una alternativa viable para la disminución de las concentraciones de las descargas contaminantes que son introducidas al ambiente y de esta forma evitar daños de magnitudes considerables, no sólo al ambiente sino también a la biota, ya que mediante este tipo de tratamiento se aprovecha el potencial de los microorganismos para mineralizar o transformar contaminantes orgánicos en compuestos químicamente más sencillos [6].

El objetivo de la presente investigación fue la evaluación de grupos bacterianos, individuales y en consorcio, provenientes de suelos liofilizados del oriente venezolano, para la remoción de la materia orgánica presente en los efluentes petroleros.

Metodología

Las tres muestras de liofilizados utilizadas en este estudio, identificadas como B₁, B₂ y B₃, provienen de suelos contaminados con aguas de formación. Para la activación de las cepas microbianas presentes en las mismas se utilizó caldo nutriente, en una proporción de 1 g de liofilizado/500 mL de caldo nutriente y llevados a incubación durante 48 h ± 2, a una temperatura de 37°C ± 1. Posteriormente, los cultivos microbianos en suspensión obtenidos fueron inoculados, mediante diluciones seriadas desde 10⁻² hasta 10⁻⁹, en placas con agar nutriente, medio de cultivo complejo para todo tipo de bacterias según Madigan y col. [7] y llevadas a incubación a una temperatura de 37°C ± 1 durante períodos de 24 h ± 2 y 72 h ± 2. Luego, la descripción morfológica de las colonias aisladas se realizó utilizando el contador de campo oscuro Québec (American Optical), detallando sus espesores, bordes, siguiendo el protocolo de Reynolds [8]. El conteo de viables se realizó contando las unidades formadoras de colonias (UFC) expresadas en la superficie de la placa [9] con el contador antes mencionado.

Las cepas aisladas fueron caracterizadas e identificadas mediante las pruebas de: tinción de Gram [10], tinción de esporas, alcohol-ácido resistente, tensión de oxígeno [8] y una serie bioquímica dada por fermentación de carbohidratos e IMVIC entre otras [11]. Posteriormente fueron sembradas en placas con agar nutriente y después de verificar el crecimiento de las UFC, sin contaminación, estas fueron inoculadas en caldo nutriente e incubadas a una temperatura de 37°C ± 1 durante 48 h ± 2.

Las cepas seleccionadas para el estudio fueron cinco debidamente evaluadas y un consorcio proporcional de todas en conjunto, inoculándose activas al reactor. Los ensayos se realizaron en reactores numerados de 1-6 para los grupos funcionales (G1, G2, G3, G4, G5) y el consorcio (G0) respectivamente. Las cepas utilizadas corresponden a las que experimentaron mejores patrones de crecimiento no sólo en los medios antes mencionados sino también en un medio mínimo mineral que contenía agua de formación de petróleo mediano como fuente de carbono.

Se realizaron a escala de laboratorio, las pruebas de biodegradabilidad o tratabilidad [12], en reactores aerobios por carga (Flujo discontinuo) bajo condiciones mesofílicas (27°C), la cual se considera apropiada para el desarrollo de este tipo de bacterias según lo expresado por Prescott y col. [13], y un tiempo de retención hidráulico (TRH) de 144 h. El reactor se implementó usando un recipiente graduado de plexiglás de 3 L, provisto de una piedra porosa circular y una manguera (Tygon, No. 16) conectada a la tubería de suministro de aire comprimido, lo cual es necesario para mantener las condiciones aeróbicas en el licor-mezcla y lograr una rápida degradación. Como volumen efectivo se usó 0.3 L de suspensión bacteriana y 0.7 L de agua de formación de petróleo mediano. Las características del agua utilizada en el estudio se reportan en la Tabla 1.

Para tener un conocimiento adecuado acerca de la composición del crudo presente en el agua de formación utilizada en la presente investigación, se procedió al análisis de SARA, pues este proporciona la información pertinente acerca de la complejidad estructural de la materia orgánica que hace parte del efluente y que va a estar disponible para ser aprovechada por los mi-

Tabla 1
Parámetros físico-químicos iniciales para las aguas de formación de petróleo mediano

Parámetros físico-químicos	Concentración
pH	8.04
Alcalinidad total (mg CaCO ₃ /L)	2906
SST (mg/L)	82.57
SSV (mg/L)	69.71
DQO (mg/L)	880

croorganismos. A partir de 0.240 L de agua de formación de petróleo mediano utilizados, se hizo la extracción de 0.2604 g de crudo, siendo las fracciones del análisis las indicadas en la Tabla 2.

Los reactores aerobios mesofílicos por carga para los diferentes grupos funcionales y el consorcio bacteriano se alimentaron sólo una vez con agua de formación de petróleo mediano cuya DQO típica era de 880 mg/L y luego se hizo un seguimiento de la DQO de salida durante seis días de experimentación y se determinaron los correspondientes porcentajes de remoción.

Los parámetros evaluados a la salida de cada reactor fueron pH, DQO, alcalinidad total, SSV y SST, los cuales se analizaron según el Standard Methods [14] y los resultados obtenidos se procesaron estadísticamente utilizando el software SPSS, versión 12.0 para Windows, aplicando ANOVA y diferencia de medias de Tukey

Tabla 2
Composición del crudo de las aguas de formación de petróleo mediano de acuerdo con el análisis SARA

Compuestos	Fracción (%)	Concentración (mg/L)
Saturados	0.2	0.24
Aromáticos	41.37	50.34
Resinas	27.3	33.22
Asfáltenos	13.20	16.10
Compuestos volátiles (No determinados)	17.93	21.82

($P < 0.05$). Para la toma de muestras del sobrenadante, el periodo de mezclado de los reactores fue detenido cada 24 h durante 30 min.

Resultados y Discusión

La activación de los microorganismos presentes en las tres muestras de liofilizados de suelo permitió aislar, identificar y caracterizar los géneros microbianos reportados en la Tabla 3. El aislamiento de estos microorganismos resulta particularmente importante debido a que cuando estos provienen de suelos, poseen actividades de peroxidases y oxigenasas, que permiten la oxidación de algunas fracciones del petróleo [15], lo cual contribuye al biotratamiento de las aguas de formación utilizadas en la presente investigación.

La morfología colonial para cada grupo microbiano se mantuvo invariable tanto para crecimientos en consorcio como para crecimientos individuales, ya que los microorganismos que crecen en superficies sólidas tienden a formar colonias con una morfología característica [13].

Debido a que entre 70 y 97% de los hidrocarburos del petróleo es degradable (la fracción de hidrocarburos saturados y aromáticos) [16] y algunos investigadores han informado que los géneros bacterianos *Acinetobacter* [17], *Bacteroides* [18], *Aeromonas* [16], *Xanthomonas* [19] y *Klebsiella* [21] participan en la biodegradación, bajo condiciones óptimas de funcionamiento de los reactores, se espera obtener eficiencias adecuadas de remoción de DQO y que el reactor del consorcio bacteriano arroje los mejores resultados debido a que los grupos bacterianos pueden combinar y complementar sus funciones metabólicas para biodegradar la materia orgánica presente en el agua de formación utilizada.

En términos generales, durante la prueba de tratabilidad, el intervalo de pH se encontró dentro del rango óptimo para el crecimiento de los microorganismos aerobios (5-9 unidades) (Figura 1), obteniéndose como consecuencia una buena actuación del reactor por carga [21], lo que garantiza que las cepas bacterianas utilizadas intervienen en la disminución de la materia orgánica [22], lo que va de acuerdo a su metabolismo quimioorganotrofo.

El hecho de que el pH se encuentre en el rango óptimo es importante, debido a que este in-

fluye sobre el crecimiento y reproducción de los microorganismos. Además, indica que no existen dificultades para el tratamiento de las aguas utilizadas, problema que se presenta cuando las aguas son muy ácidas o muy alcalinas [23]. Los valores de pH a la salida de los reactores, se encontraron dentro de los límites de descarga establecidos en la normativa vigente [3].

De acuerdo a la prueba de Tukey se observó que no hay diferencias significativas en los valores promedios de pH entre los grupos 1, 3, 4 y 5 (bloque I con un promedio de 7.4 unidades) y entre el grupo 2 y el consorcio (bloque II con un promedio de 6.6 unidades). Entre ambos bloques se destaca una diferencia significativa ($P < 0.05$). Así, el comportamiento fisiológico de los microorganismos que forman parte del bloque I es similar, en las condiciones de operación de los reactores aerobios mientras que es diferente de los microorganismos del bloque II, cuyos miembros también tienen comportamiento fisiológico similar entre ellos.

La alcalinidad total resultó variable para los diferentes reactores, manteniéndose la tendencia general a aumentar a medida que avanzaba la experimentación, lo cual es útil en el tratamiento de las aguas residuales porque proporciona un amortiguamiento para resistir los cambios drásticos de pH [23]. Sin embargo cada reactor muestra un comportamiento particular (Figura 2).

En términos generales, la dinámica de los reactores hizo que el comportamiento de la alcalinidad resultase suficiente para mantener el pH estable (sin modificaciones drásticas), impidiendo su disminución, ya que sólo cuando toda la alcalinidad del medio no es suficiente para la neutralización de los ácidos volátiles, ocurrirá dicho fenómeno. Esta capacidad de amortiguación se refiere a la habilidad del reactor para resistir cambios en el pH [24]. Se observó un consumo de alcalinidad al comienzo de la prueba de tratabilidad, debido posiblemente a la producción de ácidos orgánicos derivados del metabolismo. Posteriormente, la alcalinidad mayor indica la estabilidad en cuanto a la liberación de los metabolitos secundarios para mantener un pH estable. La posible fuente de alcalinidad es la producción de sales de ácidos débiles-bases fuertes, formados durante el tratamiento, proporcionando un efectivo sistema amortiguador [5].

Tabla 3
Resumen de tinciones diferenciales y pruebas bioquímicas realizadas con fines de identificación rápida

Grupo Funcional	Gram	Esporas	Alc-Ac. Resistente	IMVIC										Otras Pruebas	Catalogo						
				Fermentación de carbohidratos					Citrito							Reducción de NO ₃ ⁻					
1	-	-	-	+AG	+	+ret	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	Alc/Alc	+	Aeromonas
2	-	-	-	+AG	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	A/A,G	+	Klebsiella
3	-	-	-	+AG	+ret	+ret	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	A/A	+	Xanthomonas
4	-	-	-	+ArG	-	+ret	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	Alc/Alc	+	Bacteroides
5	-	-	-	+AG	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	A/A	-	Acinetobacter

A = Acido, G = Gas, r y ret = retardada, Alc = alcalino.

De acuerdo con la prueba de Tukey se infiere que todas las medias de alcalinidad son significativamente diferentes pero suficientes para mantener los rangos de pH óptimos para el desarrollo de los microorganismos y lograr la remoción de la materia orgánica del efluente tratado.

Los análisis de los SST y SSV mostraron que existió una relación directa entre estos, ya que su comportamiento fue similar. El comportamiento de los SST fue relativamente estable para todos los grupos funcionales evaluados con res-

pecto al tiempo. Sin embargo, considerando que la normativa establece un valor máximo permisible para los sólidos de 80 mg/L, el reactor del G0 no cumple con los criterios de vertimiento a cuerpos de agua receptores, puesto que presenta un valor promedio de 94.10 mg/L, mientras que en el resto de los reactores para los distintos grupos funcionales los SST se mantienen por debajo del valor establecido en la norma (Figura 3).

Lo anterior indica un buen funcionamiento operacional de los reactores, con lo cual la canti-

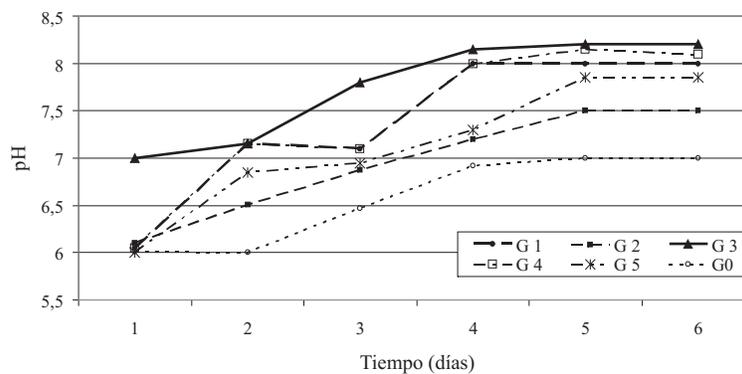


Figura 1. Variación del pH en los diferentes biorreactores.

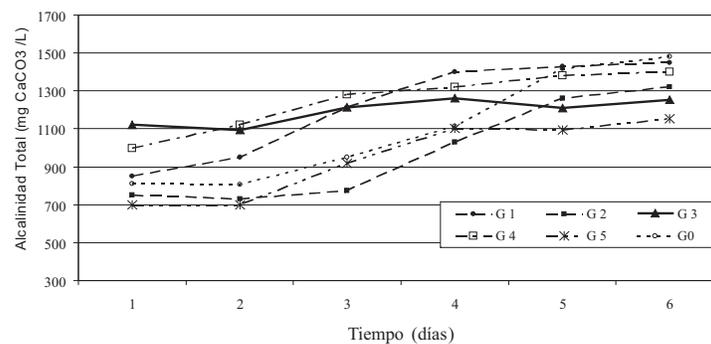


Figura 2. Variaciones de la alcalinidad para los diferentes reactores.

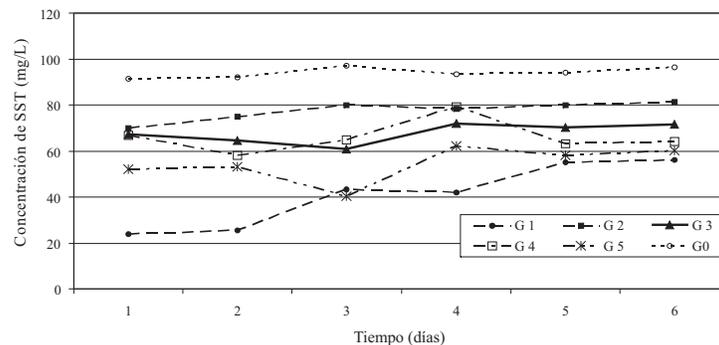


Figura 3. Concentraciones de SST para los diferentes reactores durante los 6 días de experimentación.

dad de sólidos suspendidos es aceptable. La prueba pareada de Tukey muestra que todas las medias de SST son significativamente diferentes ($P < 0.05$), excepto la de los grupos funcionales 3 y 4.

En cuanto a los SSV, para todos los grupos funcionales se encontraron valores promedios comprendidos entre 25.61 mg/L y 63.06 mg/L, los cuales se ajustan a los requerimientos expresados en la normativa de 80 mg/L, indicando un buen desempeño operacional, lo cual significa que los reactores retienen una buena cantidad de lodo con respecto al tiempo (Figura 4).

Al igual que para los SST, la prueba pareada de Tukey muestra que todas las medias de SSV son significativamente diferentes ($P < 0.05$), excepto la de los grupos funcionales 3 y 4.

La relación ($SSV/SST \cdot 100$) es importante debido a que a partir de ella se puede establecer el comportamiento potencial de bacterias activas útiles para la degradación efectiva de la materia orgánica compleja presente en el agua de formación sujeta a estudio, ya que estos porcentajes se asocian a la biomasa formada [25]. El valor típico de esta relación para un tratamiento biológico es de un 70% de biomasa viable [26], la cual es entendida como la cantidad de biomasa presente en el reactor aerobio referida al contenido celular. En esta investigación, las relaciones alcanzaron proporciones promedios de 67.17%, 65%, 64.83%, 63.17%, 59.33% y 58.33% para G0, G5, G3, G1, G2 y G4 respectivamente, lo que sugiere una aceptable retención de biomasa dentro del reactor y una aceptable sedimentación de la biomasa o agregados bacterianos que garantiza un desempeño eficiente de los reactores aerobios utilizados en esta investigación.

Los valores de DQO obtenidos en cada uno de los biorreactores, permiten calcular los porcentajes de materia orgánica en los mismos, utilizando un valor inicial de 880 mg/L, el cual es característico del efluente evaluado. La DQO de salida para los diferentes reactores fue variable, con la tendencia a disminuir con respecto al tiempo de experimentación. La Figura 5 representa los porcentajes de remoción de la DQO, en el transcurso de los 6 días de evaluación, para cada uno de los reactores. La tendencia general fue el incremento sustancial de los porcentajes de remoción en la medida en que se avanzaba en los días de experimentación.

Los valores porcentuales, intervalos y promedios de remoción de DQO, de los grupos bacterianos evaluados y el consorcio se presentan en la Tabla 4. Estos valores se consideraron a partir del segundo día de tratamiento, cuando las condiciones en los reactores son más estables y los microorganismos están mejor adaptados al medio proporcionado.

Los porcentajes de remoción alcanzados indican una elevada remoción de la materia orgánica presente en el agua de formación, debido al adecuado funcionamiento de los reactores y a la buena adaptación de los microorganismos al sustrato, lo cual es importante ya que de acuerdo a lo expresado por Tebbutt [23] cerca de 1/3 de la DQO de un desecho se usa para energía y los 2/3 restantes se utilizan para la síntesis de nuevas células, disminuyendo el potencial contaminante del efluente petrolero, esto contribuye a la formación de lodo, el cual debe ser retirado posteriormente por sedimentación, para someterlo a tratamientos que permitan su disminución.

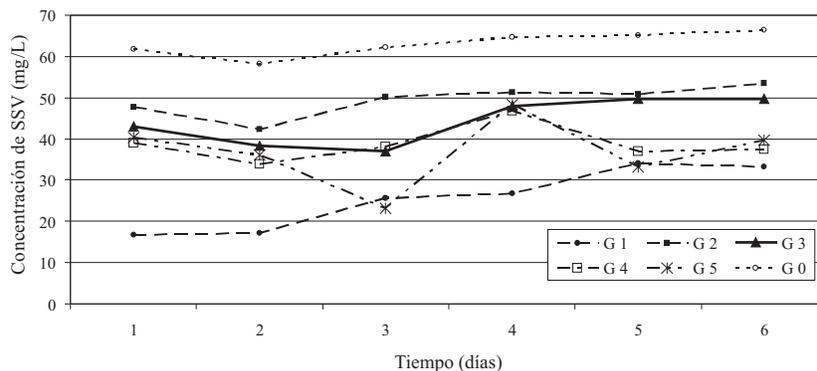


Figura 4. Concentraciones de SSV para los diferentes reactores durante los 6 días de experimentación.

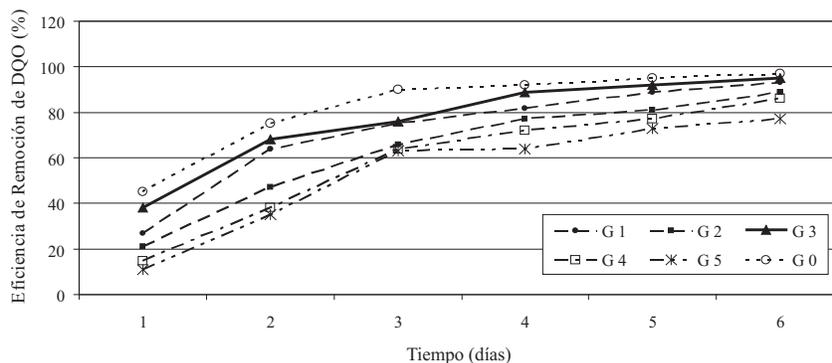


Figura 5. Disminución de la DQO en agua de formación en biorreactores.

Tabla 4
Intervalos y promedios de eficiencia de remoción de DQO para microorganismos individuales y en consorcio

Reactor	Microorganismo utilizado	Grupo Funcional	Intervalo de remoción de DQO (%)	Promedio de remoción de DQO (%)
1	<i>Aeromonas</i>	G1	64-93	80.6
2	<i>Klebsiella</i>	G2	47-89	72.0
3	<i>Xanthomonas</i>	G3	68-95	84.0
4	<i>Bacteroides</i>	G4	38-86	67.4
5	<i>Acinetobacter</i>	G5	35-77	62.4
6	Consorcio	G0	75-97	89.8

El análisis estadístico muestra que el grupo funcional 3 (*Xanthomonas*) y el consorcio microbiano (6) tienen diferencias significativas ($P < 0.05$) en comparación con los demás grupos funcionales. Esto sugiere que cada reactor tiene un funcionamiento fisiológico particular y específico de acuerdo con las condiciones de operación establecidas, resaltando que los microorganismos presentes en los reactores 3 (reactor de las *Xanthomonas*) y 6 (reactor del consorcio bacteriano) alcanzaron las mejores eficiencias en la remoción de la materia orgánica presente en el efluente.

El análisis de los diferentes parámetros fisicoquímicos resaltó que el tratamiento biológico es una alternativa viable para la recuperación del agua, tal como también lo habían demostrado Adams y col. [27]. Además, esto corrobora lo que Pozzo y col. [28] expresan sobre la actividad microbiológica degradadora de petróleo, señalándola de responsable de la biorremediación de áreas contaminadas por derrame o volcado de

efluentes, sean éstos suelos, ríos o mares, lo que contribuye a la recuperación de zonas contaminadas con hidrocarburos y evitar problemas de pasivos ambientales y de contaminación debido al vertido de efluentes sin tratamiento previo.

Conclusiones

Los géneros *Aeromonas* (1), *Klebsiella* (2), *Xanthomonas* (3), *Bacteroides* (4), *Acinetobacter* (5), debidamente aislados e identificados y un consorcio de los mismos, resultaron efectivas en la disminución de DQO, lo que favorece el uso de biorreactores en los estudios de biotratamiento de aguas de formación como una alternativa a los tratamientos fisicoquímicos.

Las eficiencias medias de remoción de DQO, medidas luego de las condiciones de estabilidad de los reactores, fueron 62.4, 67.4, 72.0, 80.6, 84.0 y 89.8% para los géneros 5, 4, 2, 1, 3 y el consorcio de estos géneros respectivamente.

Lo que sugiere que estos grupos funcionales podrían ser utilizados para acelerar la degradación de los componentes del agua de formación de petróleo mediano en las plantas de tratamiento de los líquidos industriales o en procesos de biorremediación. Sin embargo, luego del reactor, se debe ubicar un tanque de sedimentación para la acumulación de los lodos generados y poder realizar a estos un tratamiento que permita disminuirlos, ya que estos acumulan gran parte de la contaminación retirada del material líquido.

Los géneros *Aeromonas*, *Xanthomonas* y el consorcio utilizado en éste estudio; son los más acordes para promover la degradación de la materia orgánica presente en el agua de formación, de forma más efectiva como proceso de biorremediación.

En condiciones de flujo discontinuo se lograron eficiencias adecuadas en la disminución de la DQO por parte de los microorganismos utilizados de forma individual y en consorcio en el reactor aerobio por carga utilizado. Sin embargo, se recomienda realizar estudios en flujo continuo para verificar esta factibilidad de tratamiento.

Referencias Bibliográficas

- Gutiérrez E., Caldera Y., Fernández N., Blanco E., Paz N. & Mármol Z. Anaerobic biodegradability of water from crude oil production in batch reactors Rev. Téc. Ing. Univ. Zulia. Vol. 30, N° 2, 111-117, 2007.
- Gutiérrez E., Fernández N., Herrera L., Sepúlveda Y. y Mármol Z. Efecto de la aplicación de ozono sobre la biodegradabilidad de aguas de formación. Multiciencias, Vol. 2, No. 1, 50-54, 2002.
- Petróleo de Venezuela (PDVSA). "PDVSA Occidente, Exploración y Producción", (2001).
- Rincón N. "Traitement Anaerobic des Aux de Production des Champú Petroliers". Thèse de Doctorant. INSA, Toulouse. Francia, 2002.
- Behling E., Marín J., Gutiérrez E. y Fernández N. Tratamiento aeróbico de dos efluentes industriales utilizando reactores biológicos rotativos de contacto. Departamento de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, Escuela de Ingeniería Civil, Facultad de Ingeniería, La Universidad del Zulia. 16 p, 2006.
- Saval S. La Biorremediación como Alternativa para la Limpieza de Suelos y Acuíferos Contaminados con Hidrocarburos. Revista Interamericana Ambiente y Saneamiento, AIDIS Argentina, 1 (2): 24-29, 1998.
- Madigan M., Martinko J. y Parker J. Brock. Biología de los Microorganismos. Octava Edición revisada. Prentice Hall. Madrid, España, 1998.
- Reynolds J. Lab Procedures Manual. Richland College. USA, 2002.
- Rivera M., Ferrera R., Volke V., Rodríguez R. y Fernández L. Adaptación y Selección de Microorganismos Autóctonos en Medios de Cultivo Enriquecidos con Petróleo Crudo. Terra 20: 423-434, 2002.
- Carmona O. Hans C. J. Gram. Aplicaciones Prácticas. Laboratorios Bristol. Venezuela, 1987.
- MacFaddin J. Pruebas Bioquímicas para la Identificación de Bacterias de Importancia Clínica. Editorial Médica Panamericana S.A. Buenos Aires, Argentina, 2003.
- Carvalho M., Alves C., Ferreira M., de Marco P. and Castro P. Isolation and Initial Characterization of a Bacterial Consortium Able to Mineralize Fluorobenzene. Portugal. Journal of Applied and Environmental Microbiology. 68 (1): 102-105, 2002.
- Prescott L., Harley J. y Klein D. Microbiología. Cuarta Edición. Editorial Mc Graw-Hill Interamericana. Madrid, España, 1999.
- APHA, AWWA & WEF. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th Ed. Edition. American Public Health Association 1015 Fifteenth Street, N.W. Washington, D.C. U.S.A. 1207 p, 1998.
- Rich J., Heichen R., Bottomley P., Cromack J & Myrold D. Community composition and functioning of denitrifying bacteria from adjacent meadow and forest soil. Applied and Environmental Microbiology 69(10): 5974-5982, 2000.
- Prince, R.; Varadaraj, R.; Fiocco, R.; Lessard, R. Bioremediation as an oil spill response

- tool. *Environmental Technology*. 20:891-896, 1999.
17. Díaz M, Grigson S, Burgess J. Uso de un consorcio bacteriano extremo-halotolerante para la biodegradación de crudo en ambientes salinos. *Revista Colombiana de Biotecnología* 4(1): 36-42, 2002.
 18. Nannipieri P., Ascher J., Ceccherini M., Landi L., Pietramellara M & Renella G. Microbial diversity and soil functions. *European Journal Soil Science* 54(4): 655-670, 2001.
 19. Viñas Marc. Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos: caracterización microbiológica, química y ecotoxicológica. Barcelona. 352 pp, 2005.
 20. Chong-Suk Chang, Hyoun-Young Kim, Yang-Mi Kang, Kyung Sook Bae, & Hong-Gyu Song. Transformations of 2,4,6-Trinitrotoluene in Various Conditions by *Klebsiella* sp. Strain C1 Isolated from Activated Sludge. *The Journal of Microbiology*, Vol. 40, No. 3 p.193-198, The Microbiological Society of Korea, 2002.
 21. Guinea, A., Martín, M. y Serrano, S. Biofilm communities and operational monitoring of a rotating biological contactor system. *Wat. Sci. Tech.* 43: 247-253. 2000.
 22. Benefield L. and Randall C. *Biological Process Design for Wastewater Treatment*. Prentice-Hall, Inc; Englewood Cliffs. USA, 1980.
 23. Tebbutt T. *Fundamentos de Control de la Calidad del Agua*. Editorial Limusa, S. A. de C. V.-Grupo Noriega Editores. México D.F., México, 2001.
 24. Cajigas A., Pérez A. y Torres P. Importancia del pH y la alcalinidad en el tratamiento anaerobio de las aguas residuales del proceso de extracción de almidón de yuca. *Scientia et Technica* Año XI, No 27. UTP. ISSN 0122-1701. Pág 243-248, 2005.
 25. Behling E., Caldera Y., Marín J., Gutiérrez E. y Fernández N. Comportamiento de un reactor biológico rotativo de contacto (rbc) en el tratamiento de efluentes de una industria cárnica. *Boletín del centro de investigaciones biológicas Volumen 37. No. 1, pp. 56-69.* Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela, 2003.
 26. Vielma K. *Estudio de Factibilidad de Tratamiento Biológico de las Aguas de Producción de la Formación Bachaquero*. Trabajo de Grado. División de Postgrado. Facultad de Ingeniería. Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela, 1993.
 27. Adams R., Rodríguez V. y García L. Potencial de Biorremediación de Suelo y Agua Impactados por Petróleo en el trópico Mexicano. *México. Terra* 17 (2): 159-174, 1999.
 28. Pozzo A., Manacorda A., Altamirano M., Barbieri L., Sánchez A., Cuadros D., Sánchez N., Díaz G., Arias C. y Fredes M. Rehabilitación por Biorremediación de Áreas Destinadas a la Disposición de Aguas de Producción Provenientes de la Actividad Petrolera. *Ingeniería Sanitaria y Ambiental*. 38: 52-61, 1998.

Recibido el 09 de Julio de 2007

En forma revisada el 05 de Noviembre de 2008