



**UNIVERSIDAD CENTROCCIDENTAL LISANDRO ALVARADO
DECANATO DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍA
INGENIERÍA DE PRODUCCIÓN**



**DETERMINACIÓN DE CONSORCIOS BACTERIANOS CON CAPACIDAD
DE TOLERAR LA CARGA DE ARSÉNICO PRESENTE EN SUELO**

Trabajo de Grado para optar a la categoría de Agregado

Autor: Ediviges Y. Montilla M.
Tutor: Lúe M. Marco P.

Barquisimeto, Noviembre 2010

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Quien suscribe, Eduviges Yelitza Montilla Morles, C.I. N° 9.624.834, hace constar que es el autor del Trabajo de Grado, titulado: “**DETERMINACIÓN DE CONSORCIOS BACTERIANOS CON CAPACIDAD DE MINIMIZAR LA CARGA DE ARSÉNICO PRESENTE EN SUELO**”, el cual constituye una elaboración personal realizada únicamente con la dirección del tutor de dicho trabajo, Lué Merú Marco C.I. N° 8.567.692, en tal sentido, manifiesto la originalidad de la conceptualización del trabajo, interpretación de los datos y la elaboración de las conclusiones, dejando establecido que aquellos aportes intelectuales de otros autores se han referenciado debidamente en el texto del trabajo.

En la Ciudad de Barquisimeto, a los nueve días del mes de noviembre del año dos mil diez.

Eduviges Yelitza Montilla Morles
C.I. N° 9.624.834



Acta de Veredicto de Trabajo de Grado

Nosotros Miembros del Jurado Examinador del Trabajo Especial de Grado,
Titulado:

Determinación de Consorcios Bacterianos con Capacidad de Tolerar la Carga de Arsénico Presente en Suelo

Presentado por la Participante:

Eduviges Yelitza Montilla Morles

Titular de la cédula de identidad N° 9.624.834, como requisito para optar al grado
académico de:

Especialista en Calidad Ambiental

Ofrecido por el Instituto Universitario Experimental de Tecnología "Andrés Eloy Blanco" de Barquisimeto, en convenio con el Instituto Universitario de Tecnología "Alonso Gamero" de Coro, hacemos constar que hoy 09/11/2010 a las 04:30 p.m., se realizó la exposición oral del Trabajo Especial de Grado, de acuerdo a lo establecido en la Normativa sobre Trabajo de Grado del Tecnológico.

Este jurado emite el siguiente veredicto: El Trabajo Especial de Grado fue:

Aprobado

Dando fe de ello, levantamos la presente acta en Barquisimeto a los nueve días
del mes de noviembre del año dos mil diez.



Dra. Lué Merú Marcó
C.I N°: 8.567.692
Coordinadora



Dra. Solange Van Hesteren
C.I N°: 4.087.074
Jurado



Lic. Migdalia Quevedo
C.I N°: 7.386.848
Jurado



CONTENIDO

	pp.
LISTA DE TABLAS.....	v
RESUMEN.....	vi
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO	
I EL PROBLEMA.....	3
Planteamiento del Problema.....	3
Objetivo	6
Justificación.....	7
II MARCO TEORICO.....	8
Antecedentes.....	8
Bases Teóricas.....	10
Bases Legales.....	16
III MARCO METODÓLOGICO.....	23
Naturaleza de la Investigación.....	23
Diseño de la Investigación	23
Fases de Estudio	24
IV DISCUSIÓN DE RESULTADOS	27
V CONCLUSIONES	33
RECOMENDACIONES	34
REFERENCIAS.....	35
ANEXOS	38

LISTA DE TABLAS

Tabla		pp.
1	Codificación de las muestras del suelo del Relleno Sanitario de Pavia.....	27
2	Codificación e identificación morfológica de los aislados bacterianos.....	28
3	Código de los aislados bacterianos de cada muestra de suelo	29
4	Identificación Bioquímico de los aislados bacterianos	31
5	Tolerancia de los Aislados Bacterianos al Arsénico	32

INSTITUTO UNIVERSITARIO EXPERIMENTAL DE TECNOLOGÍA
“ANDRES ELOY BLANCO”
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN Y POSTGRADO
ESPECIALIZACIÓN EN CALIDAD AMBIENTAL
LÍNEA DE INVESTIGACIÓN: TRATAMIENTO Y CONTROL DE
EFLUENTES LÍQUIDOS

**DETERMINACIÓN DE CONSORCIOS BACTERIANOS CON CAPACIDAD
DE TOLERAR LA CARGA DE ARSENICO PRESENTE EN SUELO**

Autor: Eduviges Y. Montilla M.

Tutor: Lué M. Marcó P.

Fecha: Noviembre, 2010

RESUMEN

La contaminación del aire, suelo y agua por la presencia de metales provenientes de fuentes naturales o antropogénicas, es un problema a nivel mundial. La toxicidad y alta persistencia de estos elementos representan riesgos para los organismos e incluso para la salud humana. Ejemplo de esto es el arsénico el cual debido a su movilidad puede encontrarse en suelo, y agua de consumo humano. Para este estudio ha sido considerado el vertedero de Pavía en la ciudad de Barquisimeto, puesto que se han reportado valores de arsénico en el suelo cercanos a 80 ppm, los cuales están muy por encima de la normativa vigente. El uso de tecnologías convencionales si bien aminora el problema no lo soluciona en su totalidad, es así como el empleo de biorremediación surge como una alternativa económica y eficiente para la descontaminación. En función de esto se planeó la determinación de consorcios bacterianos tolerantes a niveles de contaminación por arsénico con el objeto de contribuir a la búsqueda de tecnologías limpias en la remediación de contaminación por metales. Para esto se tomó como unidad de estudio el suelo de la zona residencial e industrial del vertedero de Pavia, pues es una de las fuentes principales de contaminación, las cepas fueron aisladas de las muestras de suelo en medio agar nutritivo e identificadas empleando las pruebas API® 20E, logrando identificar 4 géneros: *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Enterobacter* y *Serratia*. Asimismo se comprobó a través de un diseño experimental factorial que las cepas aisladas son altamente tolerantes a niveles del metal de 100 ppm.

Descriptores: Arsénico, residuos sólidos urbanos (RSU), Identificación Bioquímica..

INTRODUCCION

Durante décadas los humanos han consumido miles de productos y por ende generado toneladas de desechos que van a terminar en grandes zonas terrestres denominadas: “vertederos de basura”. Con el desarrollo industrial y tecnológico la generación de residuos se ha incrementado en un alto porcentaje(42%) en los últimos 20 años (Ambietun, 2003), lo que trajo como consecuencia la contaminación de suelo, rios y aire; tal es el caso de suelos contaminados con plaguicidas, ríos como el Danubio en el cual aún persiste la contaminación generada por los residuos químicos que fluyeron desde las fábricas serbias, sus aguas se han enturbiado debido al drenaje de aguas residuales, pesticidas y químicos sin tratamiento (Lareserva, 2009) y el hecho emblemático de la atmósfera contaminada de ciudad de México.

En este sentido, los residuos sólidos generados son generalmente vertidos sobre el suelo y cubiertos con una capa de éste, durante el proceso de descomposición del desecho se generan líquidos que por ejemplo promueven la corrosión de residuos eléctricos, electrónicos, como: lavadoras, neveras, hornos, de pilas, madera; promoviendo la liberación de metales pesados; los cuales permanecen en suspensión en el seno del líquido.

Entre los elementos contaminantes presente en los lixiviados se encuentra Hg, As, Pb, Cr, Cu entre otros, los cuales pueden persistir en el ambiente por largos periodos causando daños a los ecosistemas que circundan; (LaGrega, 2003); es así como en investigaciones a diferentes vertederos se reportan niveles de metales que en muchos casos superan los valores permisibles; en nuestro caso estudios realizados al suelo del vertedero controlado de Pavia reporta niveles de plomo, arsénico y mercurio por encima de lo establecido en la norma establecida (Gomez, 2007, Macchi 2006).

En este sentido, a estos líquidos se les conoce como lixiviados, que en la mayoría de los casos deben ser recolectados y tratados como agua residual; sin embargo muchas zonas carecen de un sistema de aislamiento y recolección de lixiviado provocando que estos filtren al subsuelo arrastrando con ellos los contaminantes, que al pasar al subsuelo corre el riesgo de contaminar las aguas subterráneas.

Se han propuesto diferentes mecanismos de tratamiento para estos desechos, entre los que destacan tratamientos físicos, químicos o biológicos; siendo estos últimos de mayor interés por su bajo costo de aplicación y menor impacto.

Los tratamientos biológicos se basan en el uso de organismos para la inmovilización, degradación o transformación de sustancias contaminantes del suelo o acuíferos, obteniéndose productos con menor toxicidad, en el caso de la remoción de metales pesados se han empleado ampliamente los microorganismos como *Pseudomona* o plantas *Lenna sp.* (Cervantes, 2006).

En función de lo anterior el presente trabajo se planteó como objetivo principal la determinación de un consorcio bacteriano con la capacidad de tolerar la carga de arsénico presente en el suelo, realizando el aislamiento de las bacterias, luego su identificación bioquímica empleando el Kit de identificación API® 20E para enterobacterias gram negativas y por último lugar se determinó la tolerancia de éstas a altas concentraciones de Arsénico

Este trabajo consta de seis capítulos: El capítulo número uno presenta el planteamiento del problema, los objetivos y la justificación de esta investigación. El capítulo dos contiene antecedentes y el marco teórico del trabajo. En el capítulo tres se indican los materiales y métodos realizados para alcanzar los objetivos propuestos. En el capítulo cuatro se muestran los resultados, el análisis y discusión de los mismos. El capítulo cinco se refieren a las conclusiones y recomendaciones.

CAPITULO I

El Problema

Planteamiento del Problema

Uno de los mayores problemas a los que se enfrentan las sociedades, desde hace tiempo, son las alteraciones ecológicas que sufre el planeta a consecuencia del desarrollo tecnológico, y el aumento de la densidad humana, lo que conlleva a una generación de desechos cada vez mayor creando la problemática de contaminación ambiental que hoy en día vivimos.

La contaminación del medio ha sido evitada en lo posible desde tiempos muy antiguos, sin embargo, la industrialización, el desarrollo demográfico y en general el desarrollo tecnológico, han convertido a este problema en el principal enemigo del ser humano. Los avances de la epidemiología han puesto de manifiesto los efectos perjudiciales que sobre la salud tiene la contaminación del medio por una mala gestión de desechos urbanos, lo que trae como consecuencia un deterioro en el nivel y calidad de vida de la población.

En función de lo anterior, toma vital importancia la correcta gestión de los residuos generados por una comunidad; el manejo, transporte, procesamiento y disposición final son etapas importantes de toda gestión de desechos que las autoridades competentes deben tomar en cuenta con el fin de garantizar un óptimo manejo de estos y así minimizar los efectos nocivos que para el ambiente produce una mala operación de los mismos, como son: contaminación del medio (suelo, aire, agua) dentro del cual se puede considerar, contaminación biótica del agua (patógenos), contaminación química del agua, contaminación de los suelos, producción de olores,

contaminación atmosférica por emisiones gaseosas, proliferación de vectores, entre otros.

En concordancia con lo anterior; es importante señalar que el cambio en la composición y el aumento en la producción de residuos sólidos que se ha venido registrando en el país en las últimas décadas, junto con la preocupación creciente por la protección del ambiente y la salud pública le confiere especial importancia al tratamiento final de los desechos generados. Entre las alternativas que existen, el método conocido como vertedero sanitariamente controlado o relleno sanitario, es hoy en día el método de tratamiento final más aplicado en el mundo.

En este orden de ideas en Venezuela, la Constitución Nacional del año 1.999 y la Ley Orgánica del Poder Público Municipal 2006, establecen que el manejo y la gestión de los residuos sólidos es competencia exclusiva de los municipios, quedando los entes nacionales con atribuciones rectoras en las materias de su competencia. Asimismo, el Decreto 2216 establece las normas para el manejo de desechos sólidos no peligrosos y establece los lineamientos para el control, seguimiento e instalación de rellenos sanitarios, donde se establece la importancia en el control y tratamiento de los lixiviados provenientes de los rellenos sanitarios; debido al riesgo de contaminación de acuíferos que éstos representan.

Una de las variables del proceso que se debe controlar con sumo interés en un relleno sanitario es el control de lixiviados, que no es más que el resultado de las reacciones químicas que ocurren dentro del mismo y abarcan la disolución – suspensión de materiales y productos de conversión biológica en los líquidos que percolan a través de los residuos sólidos, la adsorción de compuestos orgánicos volátiles y semivolátiles dentro de los materiales del relleno, la deshalogenación y descomposición de compuestos orgánicos y las reacciones de óxidoreducción que afectan la disolución de metales y sales metálicas.

La disolución de los productos de conversión biológica y otros compuestos, particularmente los compuestos orgánicos, es un punto muy importante, porque estos materiales pueden ser transportados fuera del relleno sanitario con los lixiviados y pueden ser posteriormente incorporados al ambiente a través del suelo.

Por lo tanto, los lixiviados de vertederos deben ser manejados y tratados de una forma adecuada, para evitar la contaminación de las aguas superficiales y/o subterráneas receptoras de este efluente, lo cual provocaría serios problemas en el medio ambiente y en la salud pública, además, se debe tener en cuenta que un vertedero puede continuar produciendo lixiviado hasta 50 años después de su clausura.

Por otra parte, el carácter eventual de la recolección en algunas zonas propicia la acumulación de desechos en terrenos baldíos y zonas periféricas; la mayoría de las Alcaldías no cuenta con el personal en la cantidad y con la calificación requerida, ni con la infraestructura y los equipos necesarios para prestar un buen servicio. Casi la totalidad de los sitios de disposición final registrados o no son vertederos a cielo abierto, sin tratamiento alguno, (Vitalis, 2009)

En el país, aún cuando existe un marco legal importante sobre los desechos peligrosos, no se ha logrado el control requerido para alcanzar un manejo adecuado de éstos, ello se debe en algunos casos al incumplimiento de la normativa vigente por parte de las instituciones encargadas para el manejo de éstos, tal como lo expone la Organización Panamericana para la Salud (OPS) en su Informe Analítico de Venezuela referido a la Evaluación Regional de los Servicios de Manejo de Residuos Sólidos Municipales. (OPS, 2003).

Sin embargo, el gobierno nacional a partir del 2006 declaró que la construcción de rellenos sanitarios es una política nacional que se ha venido implementando para solucionar el problema de los desechos sólidos.

Además la cartera ambiental se han invertido 580 millones de bolívares fuertes en la construcción de rellenos sanitarios y 66 vertederos han sido incluidos en los proyectos de conversión y saneamiento.

Asimismo, en el informe elaborado por la Organización Mundial de la Salud (OMS), (2002) respecto a los residuos sólidos en Venezuela establece que en los sitios de disposición final donde no se cumplen estrictamente los requerimientos de protección mediante la utilización de una capa impermeabilizada en su parte en contacto con el manto rocoso o con suelos, los lixiviados afectan el nivel freático llegando hasta los acuíferos, que muchas veces son utilizados para el consumo humano. Cuando estas aguas no son tratadas convenientemente producen una serie de enfermedades tales como intoxicaciones agudas y crónicas, infecciones intestinales, diarreas en general, enfermedades gastrointestinales, tifoideas y parasitarias. (OMS, 2000).

Como se expuso anteriormente uno de los principales impactos que producen los vertederos es la contaminación de las aguas subterráneas y superficiales causadas por los lixiviados, que se puede prolongar durante 20-30 años después de su clausura, (LaGrega, 1996), la Agencia Ambiental de Estados Unidos (USEPA) ha analizado hasta 200 compuestos tóxicos diferentes presentes en los lixiviados de los vertederos de residuos sólidos urbanos, algunos como cloruro de vinilo, cloruro de metilo, tetracloruro de carbono, clorobencenos (de los que destaca el hexaclorobenceno, por su toxicidad) y arsénico son sustancias cancerígenas al igual que el resto de las sustancias organocloradas, son persistentes y bioacumulativas en todos los eslabones de la cadena trófica.

Muchas de estas sustancias químicas son metales, que pueden filtrarse del suelo a las fuentes de agua subterráneas y de la superficie a los cultivos alimentarios. Las pilas, baterías, residuos electrónicos, poseen componentes que son altamente contaminantes y no se degradan, la

mayoría tiene mercurio, plomo, pero otros también pueden tener cinc, cromo, arsénico, cadmio, muchos de los cuales pueden permanecer como agentes nocivos en el ambiente.

Tal es el caso del arsénico el cual es empleado en la producción de pesticidas, como revestimiento protector para la madera y en industrias tales como la electrónica, la industria del vidrio, y manufactura de papel. Muchos compuestos comunes de arsénico pueden disolverse en agua, por lo tanto, el arsénico puede pasar a lagos, ríos o al agua subterránea disolviéndose en el agua de lluvia (ATSDR, 2007), ocasionando graves problemas de salud pública.

En este orden de ideas, investigaciones realizadas en el vertedero de Pavia determinaron que los niveles de metales superan lo valor permitidos según el Decreto 2635, tal como lo expone Gómez, (2007) quién estableció que la concentración de los metales estudiados varía en los diferentes puntos de muestreo, determinando niveles altos en cuanto a concentración de plomo, cadmio, cobre, cromo, níquel y manganeso; de igual forma Macchi (2006) encontró valores para arsénico de 78,58 ppm lo que supera en gran medida el valor máximo permisible establecido en la norma el cual es de 0,05 ppm.

En función de lo anterior, se hace necesario enfocar la investigación en la búsqueda de tecnologías económicas y que representen una solución al problema de contaminación por arsénico; tal como lo exponen diversos autores que afirman que la vía para lograrlo es el empleo de sistemas biológicos; en todo caso la Biorremediación.

En este sentido, algunos autores se atreven afirmar que la degradación de compuestos tóxicos es posible, como se interpreta de la afirmación que hace Alexander, (1999) quién asevera que para cualquier contaminante orgánico, existe al menos un microorganismo que puede degradarlo bajo las condiciones apropiadas, lo cual ha sido demostrado en los casos como se señala de compuestos orgánicos; pero que sucede con

los compuestos químicos tóxicos inorgánicos, otras investigaciones también han demostrado que es posible; Cervantes y otros (2006).

Es por esto que la presente investigación se planteo aislar e identificar bacterias con capacidad de tolerar el arsénico, como respuesta a un posible tratamiento de remediación de suelos contaminados con este metal.

Objetivo de la Investigación

Objetivo General

Determinación de consorcios bacterianos con capacidad de tolerar la carga de arsénico presente en suelo del Relleno Sanitario de Pavia ubicado en el Municipio Iribarren del Estado Lara.

Objetivo Específico

1. Aislar microorganismos del suelo del Relleno Sanitario de Pavia.
2. Identificar microorganismos del suelo del Relleno Sanitario de Pavia.
3. Determinar el nivel de tolerancia a arsénico de los microorganismos aislados del suelo del Relleno Sanitario de Pavia.
4. Obtener el consorcio bacteriano con capacidad de tolerar arsénico.

Justificación e Importancia

La presente investigación reviste gran importancia ya que desde el punto de vista científico se establecen protocolos de aislamiento de bacterias y se obtiene un banco de cepas con capacidad de tolerar o detoxificar metales con lo cual se podrán desarrollar nuevas investigaciones en el área. Por otra parte, desde el punto de vista de la educación estos aportes podrán

ser adecuados para complementar la enseñanza de la bioingeniería, microbiología, biotecnología y procesos, puesto que se podrá dar usos de estos avances bien sea creando nuevas prácticas o enriqueciendo el contenido de las asignaturas.

Con respecto al ámbito social; el beneficio radica en la mejora a futuro en la calidad de vida de aquellas poblaciones que han sido afectadas por descargas de sólidos contaminantes al proveer una alternativa para el saneamiento de las zonas contaminadas con arsénico.

Finalmente, el empleo de los aislados bacterianos (consorcio) capaces de tolerar concentraciones altas de arsénico traerá consigo una fuente de insumos para nuevas investigaciones en el área ambiental, y por último representa un aporte científico en el área de la microbiología, química y ambiente para el país.

Alcances y Limitaciones

Esta investigación basó su análisis en las muestras tomadas del Suelo de Relleno Sanitario de Pavia ubicado en el Municipio Iribarren del Estado Lara para lo cual se realizó la identificación bioquímica de los microorganismos empleando las pruebas API® 20E y se evaluó la tolerancia de éstas a concentraciones variadas de arsénico

Durante el desarrollo de esta investigación se presentaron dificultades de orden operativo debido al difícil acceso al Relleno Sanitario de Pavia para tomar las muestras ya que se debía seguir un protocolo complejo de permisos para acceder al lugar lo que llevo mucho tiempo, también fue importante esperar el clima óptimo para poder tomar las muestras. Con respecto a los recursos, estos no se encuentran disponibles totalmente, puesto que para realizar la identificación de los aislados bacterianos se requieren de reactivos que en su mayoría son de importación.

CAPITULO II

Marco teórico

Antecedentes

En Venezuela las investigaciones realizadas en el campo de los residuos sólidos indican en general la falta de control y monitoreo de los sitios de disposición final y la influencia negativa de estos en los ecosistemas cercanos.

Con respecto al Vertedero de Pavia Gómez, (2007), en su investigación determinó que éste presenta contaminación por metales, encontrando valores de concentración de 114,8 mg/Kg para el Plomo, la concentración de los metales estudiados varía en los diferentes puntos de muestreo, siendo restos de jardín el patio del vertedero que presenta los niveles más altos en cuanto a concentración de plomo, cadmio, cobre, cromo, níquel y manganeso. Asimismo recomienda realizar saneamiento y/o tratamientos especiales de los patios que presentan condiciones de riesgos con el objeto de prevenir la migración de los metales a cuerpos de agua, daños a la salud y al ambiente.

De manera similar Macchi (2006), en la evaluación realizada al suelo del vertedero de Pavia encontró que las concentraciones de arsénico oscilan entre 37,65 ppm y 78,58 ppm en muestras de suelos recolectados en diferentes zonas del Vertedero y las concentraciones de mercurio oscilan entre 128,08 ppm y 156,90 ppm, determinando que utilizando la lombriz roja californiana (*Eisenia Foétida*) como biorremediadora de los mismos se obtiene una remoción de 94% para el mercurio y de 42% para el arsénico.

De igual forma ,Venegas, (2006), realizo un estudio en el vertedero de Quibor el cual tuvo como objetivo la determinación de arsénico, mercurio y plomo en suelo del vertedero, los resultados obtenidos indican valores que varían entre 13.52 ppm - 31.09 ppm para el arsénico, 1.00 ppm - 5.06 ppm para el mercurio y 98 ppm – 558 ppm para el plomo, todos estos valores están por encima de los niveles permitidos, lo que representa un riesgo para los habitantes de las zonas cercanas al vertedero, el cual es un potencial riesgo para el medio ambiente.

Según el diagnóstico ambiental, realizado por Laguna y Luzardo (2005), al vertedero de Yaritagua; indica que éste carece de los requisitos necesarios para funcionar como sitio de disposición final entre los que se encuentran la carencia del control de gases y lixiviados; lo que indica una alta probabilidad de riesgo de contaminación si no se toman las medidas de saneamiento y control exigidos por la normativa sanitaria.

Asimismo, González y Rincones (2001), en la evaluación realizada al manejo de los desechos sólidos en la ciudad de Coro, concluyen que existen problemas ambientales en las instalaciones del sitio de disposición final, para ello utilizaron la metodología de evaluación ambiental propuesta por CONESA, identificando riesgos ambientales y de salud pública debido al manejo inadecuado de los desechos sólidos, específicamente en la etapa de disposición final. Una de las recomendaciones es la aplicación de auditorías ambientales a rellenos sanitarios o vertederos, como medio de control y vigilancia con el fin de verificar y asegurar la aplicación de medidas correctivas.

En este orden de ideas, Polo (2001) en su investigación sobre los efectos de los lixiviados del vertedero de desechos sólidos La Guásima sobre la calidad del agua subterránea del Municipio Libertador, destaca como las condiciones litológicas del sector donde se asienta el vertedero permite evidenciar que en el acuífero existe una alta permeabilidad en la zona siendo

necesario controlar cualquier actividad susceptible de contaminar el agua subterránea en esta cuenca. Asimismo indica que de acuerdo a los resultados de los análisis de las aguas subterráneas, los metales tales como el Manganeso y Aluminio se obtuvieron en valores que sobrepasan los rangos establecidos en las aguas tipo 1A y 2A del Decreto 883, así como también la presencia de gases como sulfuro de hidrógeno y dióxido de carbono contaminantes de las aguas subterráneas.

Igualmente, encontramos estudios realizados en otros países sobre los efectos del mal manejo de los sitios de disposición final de los desechos sólidos y los posibles tratamientos empleados para minimizarlos. Entre estos tenemos el realizado por Cruz, (2008) en el que se evalúa la eficiencia de remoción de contaminantes metálicos mediante el empleo de microorganismos, determinando altos porcentajes de remoción de contaminantes orgánicos y también en la remoción para los metales pesados.

Por su parte, Pérez, (2008), demuestra en su investigación como bacterias aisladas de suelos contaminados pueden ser empleadas en la biorremediación de suelos contaminados con petróleo logrando excelentes resultados.

Este mismo contexto, el estudio realizado en la Universidad de La Habana por Garza (2005), en la cual se aislaron microorganismos con alta capacidad de tolerar y remover metales. Obteniendo el aislamiento e identificación de 72 tipos de microorganismos con capacidad de tolerar y remover metales como Pb (ii), Cr(vi), Cd(ii), Cu(ii), Zn(ii) y Ni(ii). Entre los que se destacan aislados bacterianos identificados de los géneros *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Staphylococcus* y *Corynebacterium*.

Bases Teóricas

Gestión de Residuos Sólidos

Se entiende por gestión de residuos sólidos urbanos (RSU) al conjunto de operaciones encaminadas a dar a los RSU generados en una determinada zona el tratamiento global más adecuado. Estas operaciones están referidas a criterios ingenieriles, económicos, medioambientales y sanitarios, de acuerdo con las características de los residuos y los recursos disponibles.

La gestión de los RSU se puede considerar como un sistema es decir, un conjunto de elementos interrelacionados entre sí en un entorno determinado. Estos elementos actúan unidos dentro del sistema para lograr un objetivo: la gestión óptima de los RSU. Los elementos o subsistemas que forma el sistema de gestión son todas aquellas actividades asociadas a la gestión se pueden dividir en seis elementos funcionales relacionados, como se describe a continuación (Tchobanoglous , 1994):

- Generación de residuos. Se refiere a aquella actividad inicial en la que se estudia y analiza el valor de los materiales o residuos, las cantidades generadas, la composición, las variaciones semanales, etc. Esta primera etapa es de una importancia fundamental para conocer mejor la naturaleza del problema de la gestión y para abordar el diseño de las etapas posteriores.
- Prerrecogida: Involucra las actividades de manipulación, separación, almacenamiento y procesamiento en origen de los RSU hasta que son depositados en un punto para su posterior recogida.
- Recogida: Comprende el conjunto de operaciones de carga-transporte-descarga desde los puntos de recogida hasta que son descargados en la estación de transferencia, lugar de tratamiento o vertedero.

- **Transferencia y transporte:** Comprende todas las actividades, medios e instalaciones necesarias para trasladar los residuos a lugares alejados de los puntos de generación. Se puede dividir en dos actividades claramente diferenciadas. La primera consiste en la transferencia de residuos desde un vehículo de recogida pequeño hasta un equipo de transporte más grande, y la segunda en el transporte de los residuos a través de grandes distancias a un lugar de tratamiento o de evacuación. En el primer caso, la transferencia se realiza en instalaciones, más o menos equipadas, en función de la importancia de la operación. A estas instalaciones se les llama Estaciones de Transferencia.
- **Tratamiento:** Comprende todos los procesos de separación, procesado y transformación de los residuos. La separación y procesado de los residuos se realiza en instalaciones de recuperación de materiales, donde los residuos llegan en masa o separados en origen. Allí pasan por una serie de procesos: separación de voluminosos, separación manual de componentes, separación mecánica y empaquetado, obteniéndose una corriente de productos destinada al mercado de subproductos y otra de rechazo destinado al vertido o tratamiento térmico. Los procesos de transformación se emplean para reducir el volumen y el peso de los residuos y para obtener productos y energía. Los más extendidos son el compostaje y la incineración. Otros procesos como la pirólisis o la gasificación, por lo complicado y elevado coste, están aún en fase de mejora.
- **Evacuación:** Destino último de los residuos o rechazos de instalaciones de transformación y procesado, normalmente son los vertederos controlados. El fundamento de la separación del sistema de gestión en estos seis elementos funcionales reside en que con la evolución tecnológica de los últimos años, los subsistemas funcionales se han

seguido conservando de forma independiente (Tchobanoglous et al. 1994). Por ejemplo, la recogida de RSU en un principio se hacía con un carro de tiro, luego con camiones de caja abierta y en la actualidad con sofisticados camiones cerrados con carga automática y compactación, pero la necesidad de dicha actividad física sigue siendo la misma

Disposición Final

Después que el residuo ha sido tratado este se encuentra listo para su disposición. La forma y tipo del residuo determina en gran parte donde la disposición será permitida. Un limitado grupo de residuos puede ser dispuesto por inyección a pozos profundos y en descargas submarinas a océanos, muchos residuos gaseosos y particulados son dispuestos en la atmósfera.

Los residuos sólidos comúnmente son depositados en:

Basural, Botaderos, Botaderos controlados, Vertederos, Rellenos sanitarios, Depósitos de seguridad

Relleno Sanitario

El decreto 2216 el cual establece las normas para el manejo de los desechos sólidos de origen doméstico, comercial, industrial define el relleno sanitario como:

“Dispositivo destinado a la recepción y colocación adecuada, ordenada y como almacenamiento permanente en el suelo, de los desechos sólidos y semi-sólidos, que es proyectado, construido y operado mediante la aplicación de técnicas de ingeniería sanitaria y ambiental, con el objetivo de evitar riesgos a la salud y controlar los desequilibrios ambientales que puedan generarse.”

Por otra parte Tchobanoglous, (1994) lo define como una técnica de eliminación final de los desechos sólidos en el suelo, que no causa molestia ni peligro para la salud y seguridad pública; tampoco perjudica el ambiente

durante su operación ni después de terminado el mismo. Esta técnica utiliza principios de ingeniería para confinar la basura en un área lo más pequeña posible, cubriéndola con capas de tierra diariamente y compactándola para reducir su volumen. Además, prevé los problemas que puedan causar los líquidos y gases producidos en el Relleno, por efecto de la descomposición de la materia orgánica.

El método constructivo y la secuencia de la operación de un relleno sanitario están determinados principalmente por la topografía del terreno escogido, aunque también dependen de la fuente del material de cobertura y de la profundidad del nivel freático. Existen dos maneras distintas para construir un relleno sanitario por zanjas y áreas.

Los elementos principales que deben considerarse en el desarrollo de un relleno sanitario son: Selección del sitio de disposición, Trazado y diseño operativo del relleno., Operación y control ambiental del relleno, Control de lixiviado, Control de gases, Análisis y Control de estabilidad, Monitoreo ambiental durante la operación, Clausura del relleno, Monitoreo ambiental durante clausura y post-clausura.

Con respecto al sitio de disposición final del Municipio Iribarren se encuentra ubicado en el kilómetro diez de la vía Bobare, en las afueras de Barquisimeto, Municipio Iribarren en el Estado Lara, conocido como Vertedero de Pavia, este vertedero recibe 18 toneladas mensuales de desechos sólidos, y se recupera el 5% de ese total en material reciclable. En su diseño cuenta con 38 fumarolas de 80 centímetros de diámetro con una profundidad promedio de 8 m lineales, está dividido en ocho zonas o patios para la recepción del desecho.

Sin embargo, no cuenta con un sistema de captación de lixiviados y las celdas no son impermeabilizadas, sin embargo, su producción es muy baja pues el Vertedero está ubicado en una zona muy seca en donde la precipitación anual es del orden de los 572 mm, considerándose muy escasa,

por lo cual la evaporación es de 2.200 mm anuales aproximadamente. Con respecto a los suelos, éstos tienen una composición arcillo-calcárea creando una capa bastante impermeable en la conformación de las celdas. (FUDECO, 1993)

En el vertedero, trabajan alrededor de 400 personas como escarbadores ubicados fundamentalmente en el patio de desechos domiciliarios, quienes viven de la extracción del material reciclable del volumen total de desechos que ingresa a ese patio. La compactación de residuos sólidos urbanos, se realiza diariamente en el área residencial, una vez terminada la jornada de rescate de materiales aprovechables por los recuperadores.

Metales Pesados

Después del desarrollo industrial son muchos los compuestos químicos presentes en el medio ambiente que son exógenos a la composición y extraños al metabolismo natural de los seres vivos; a ese conjunto de sustancias referidas como ajenas o extrañas a los organismos vivos, se les denomina xenobióticos. (Nápoles y Ábalos.; 2008). Entonces definimos a un compuesto xenobiótico como toda sustancia extraña o ajena a la que proceden de la composición o metabolismo de los organismos vivos.

En función de lo anterior y determinando que contaminante es un concepto muy amplio y se considera como tal cualquier agente que tiende a modificar el equilibrio natural del medio ambiente y además puede incidir sobre los organismos componentes de la biosfera. Se declara que los xenobióticos son, por lo tanto, contaminantes de naturaleza química y que suelen producir efectos tóxicos, o al menos alteraciones en el normal funcionamiento de las células vivas.

Entre los contaminantes más abundantes en el medio y perjudiciales para los sistemas biológicos se pueden destacar los metales pesados y las sustancias orgánicas: plaguicidas, hidrocarburos halogenados y no halogenados, PCBs, DBF y DBD, residuos químicos tóxicos, junto con las radiaciones nucleares.

El riesgo de tales compuestos radica en su persistencia y consecuente acumulación, en la formación de asociaciones químicas complejas, en su capacidad de reacción y a veces, como consecuencia, en su toxicidad creciente. Cuando hay efecto tóxico opera la relación dosis-respuesta. La toxicidad puede ser AGUDA (DL50) o CRONICA (tumores, úlceras, irritaciones, etc.) y además está sometida a una fuerte influencia de factores externos (dieta, medio ambiente, forma de administración) e internos (edad, sexo, condiciones fisiológicas, genéticas).

Dentro de los compuestos xenobióticos podemos clasificar los de naturaleza química como orgánicos: plaguicidas (insecticidas, herbicidas, fungicidas), compuestos industriales y los inorgánicos dentro de los cuales tenemos: ácidos, álcalis, nitratos, nitritos, sulfatos, fosfatos, halógenos (F, I), óxidos de nitrógeno, óxidos de carbono, óxidos de azufre, ozono y radicales libres, silicatos, iones en general, amoníaco, **metales pesados**: Mn, Co, Pb, Zn, Fe, Cd, Cr, As, Ni, Se, Hg, Be.(ob.cit).

Es necesario caracterizar los desechos peligrosos con el objeto de conocer la toxicidad, la reactividad, la corrosividad y la inflamabilidad de los mismos, a fin de poder evaluar los efectos sobre la salud, vida en la tierra, en los mares y en el ambiente en general

Por otra parte, tenemos que los **metales pesados** incluyen una serie de metales, generalmente elementos de la serie de transición de la Tabla Periódica, que presentan la característica común de poseer una densidad superior a 6 g/cm^3 y cuyo peso atómico está comprendido entre 63.55 (Cu) y

200.59 (Hg), sus propiedades químicas están fuertemente afectadas por su especial configuración electrónica.

Se ha demostrado que estos compuestos se incorporan al organismo humano en pequeñas concentraciones a través de los alimentos, el agua y el aire., en trazas, algunos metales pesados (e.g. cobre, selenio, cinc) son esenciales para mantener el metabolismo del hombre, pero en concentraciones más altas pueden conducir al envenenamiento porque tienden a bioacumularse, por cuanto la concentración en un organismos biológico en cierto plazo supera a la concentración del elemento químico en el ambiente.

Los metales pesados están presentes en la mayoría de los efluentes industriales, a veces en concentraciones no muy elevadas, pero que a la vez exceden los límites permitidos por la ley para ser liberados al medio. Es evidente que estas situaciones son de muy difícil solución y solo se pueden evitar mediante el tratamiento de los efluentes, que permita el cumplimiento de las normas. (Metcalf, 2002)

El vertido de líquidos residuales sin tratamiento es una de las fuentes de mayor incidencia en la contaminación de cuerpos de agua, en ellos, una amplia gama de metales con características tóxicas, entre los que se encuentran Cr^{3+} , Sn, Cd, Cu, Al, Zn, Ni, Fe^{2+} , Fe^{3+} , Sb, As, Be, Na y K, forma parte del efluente líquido.

El gran problema de este tipo de contaminantes es que ellos no se pueden degradar ni biológica, ni químicamente. La toxicidad de los metales pesados está gobernada por su especiación química. Estos pueden aparecer en el medio ambiente acuoso como especies iónicas hidratadas, formando una amplia variedad de complejos con ligandos orgánicos e inorgánicos que incluyen interacciones electrostáticas y/o covalentes asociadas a coloides o materia particulada en suspensión.

Arsénico, Fuentes, Efectos

El arsénico es un elemento ampliamente distribuido en la corteza terrestre, ha sido clasificado químicamente como un metaloide, con propiedades tanto de metal como de elemento no-metálico. El arsénico elemental (llamado también arsénico metálico) es un material sólido de color gris acero, en el ambiente generalmente se encuentra combinado con otros elementos como por ejemplo oxígeno, cloro y azufre, el cual se conoce como arsénico inorgánico y el arsénico combinado con carbono e hidrógeno se conoce como arsénico orgánico. La mayoría de los compuestos inorgánicos y orgánicos de arsénico son polvos de color blanco no tiene ningún sabor especial, por esta razón, generalmente no se puede saber si están presentes en los alimentos, el agua o el aire (ATSDR, 2007).

El arsénico inorgánico ocurre naturalmente en el suelo y en muchos tipos de rocas, especialmente en minerales que contienen cobre o plomo, cuando estos minerales se calientan en hornos, la mayor parte del arsénico se elimina a través de la chimenea en forma de un polvo fino que entra a la atmósfera, por lo tanto puede entrar al aire, al agua y al suelo en polvo que levanta el viento, también puede entrar en agua de escorrentía o en agua que se filtra a través del suelo. Las erupciones volcánicas constituyen otra fuente de arsénico. (ob. cit.).

Otra fuente secundaria de contaminación indirecta del suelo es por el vertido de sustancias de desecho procedentes de industrias, residuos sólidos urbanos. En la siguiente tabla se aprecia las fuentes principales y secundarias de elementos contaminantes entre los que se destaca el arsénico.

Tabla N°1. Fuentes de Contaminación de Metales

Fuente	Elementos
Fuentes primarias	
Fertilizantes	Cd, Pb, As
Abonos Estiercol	As, Pb, Se
Pesticidas	Pb, As, Hg
Aguas residuales	Cd, Pb, As
Riegos	Cd, Pb, Se
Fuentes secundarias	
Aerosoles de automóviles	Pb
Fundiciones	Pb, Cd, Sb, As, Se, In, Hg
Incineración de basuras	Pb, Cd
Áreas mineras	Pb, Cd, As, Hg
Desgaste de neumáticos	Cd
Pinturas (meteorización)	Pb, Cd
Depósitos de basura	Pb, Cd, As
Aerosoles	Pb, As, Cd, Se
Combustión de carbón	As, Se, Sb, Pb
Pilas cloroalcalinas	Hg

Fuente: Química Inorgánica y Medio Ambiente.

En cuanto al efecto sobre la salud tenemos que: el arsénico presente en agua o alimentos puede pasar rápidamente a la corriente sanguínea del ser que lo consume. Si se respira aire que contiene polvos de arsénico, muchas de las partículas de polvo se depositarán en el interior de los pulmones, la mayoría del arsénico en estas partículas pasa de los pulmones a la sangre. Este tipo de exposición puede ocurrir cerca de un sitio de desechos en donde se permite que los suelos contaminados con arsénico sean levantados al aire por el viento, o si trabaja con suelo o productos que contienen arsénico. Si la piel entra en contacto con suelo o agua contaminada con arsénico, solamente una pequeña cantidad entrará.

El efecto más característico de la exposición oral prolongada a arsénico inorgánico es un cuadro de alteraciones de la piel, estas incluyen un oscurecimiento de la piel y la aparición de pequeños callos o verrugas en la palma de las manos, la planta de los pies y el torso, a menudo asociados con alteraciones en los vasos sanguíneos de la piel, también se puede desarrollar cáncer de la piel. (ob. cit.)

Tratamientos para eliminación de Metales Pesados

Si bien se han empleado tratamientos físicos y químicos: como filtración, precipitación, o absorción; estos tienen la desventaja de ser costosos y si bien cumplen su cometido en la reducción de la concentración del contaminante, no lo eliminan por completo; sino que lo transfiere a otros desechos generalmente sólido cuyo destino vuelve a ser un relleno sanitario. Es por esto que las técnicas más atractivas siguen siendo las biológicas.

En este orden de ideas, se han planteado posibles soluciones a la contaminación del ambiente, es el caso de la fitorremediación, la biorremediación bacteriana y la ingeniería genética, que busca crear bacterias con genes añadidos que inmovilicen metales pesados.

En este sentido se entiende por **resistencia** a la capacidad de un organismo de impedir, parcial o completamente, los efectos de un patógeno o droga sobre él, y la **tolerancia** es la habilidad de una especie de sobrevivir y reproducirse después de ser expuesta a un contaminante en la dosis normalmente encontrada o utilizada, como es el caso de herbicidas, antibióticos entre otros. (Capo, 2002)

En la literatura se utiliza el término “resistente” a metales pesados para describir la capacidad de un microorganismo para sobrevivir al efecto tóxico de estos elementos, esto es resultado de un mecanismo de desintoxicación generado a partir de la exposición directa al metal (ob.cit).

El término tolerante se emplea para referirse a aquellos microorganismos que poseen propiedades estructurales y bioquímicas intrínsecas que les permiten sobrevivir en presencia de metales, tales como poseer paredes celulares impermeables, capacidad de excretarlo, o capacidad de producir modificaciones ambientales con efecto sobre la toxicidad del metal. No obstante, en muchas ocasiones la diferencia entre ambos términos resulta difícil de establecer, ya que ambos implican

mecanismos biológicos y bioquímicos indirectos y directos, para la supervivencia del microorganismo.

Cabe anotar que el mecanismo bioquímico microbiano en el caso de los metales pesados no es la degradación del átomo contaminante, sino el cambio en el estado de oxidación del metal para su detoxificación, este cambio en el estado de oxidación permite seguir varias estrategias de biorremediación:

- El metal se vuelve menos soluble y precipita, lo que hace que sea menos utilizado por los organismos del ambiente.
- Hacerlo en sí menos tóxico para los organismos del medio.

Como ejemplo podemos citar el caso del mercurio: está presente en tres estados de oxidación: Hg^0 , Hg^+ , Hg^{2+} . Este Hg^{2+} es muy tóxico, pero se conoce la resistencia de varios microorganismos a él gracias a un mecanismo que implica su reducción a mercurio elemental, mediado por un mercurio reductasa. (Orjuela, 2006)

Bases Legales

En Venezuela, los principios rectores para la protección y conservación del ambiente se han venido estableciendo en las diferentes normativas que van desde el rango constitucional hasta las leyes orgánicas y ordinarias, en las cuales se establece la protección, conservación y recuperación del suelo y subsuelo.

Es así como a través de la legislación nacional se viene desarrollando los conceptos de manejo, control y disposición de desechos sólidos tanto de origen doméstico, como peligroso.

De manera pues, encontramos normas ambientales que hacen referencia directa a la gestión de los desechos sólidos como la Ley orgánica del Ambiente, Ley Penal del Ambiente, Ley de Agua, entre otras; así mismo

tenemos aquellas que de manera indirecta lo protegen como son la Ley de Sustancias materiales y desechos Peligrosos, Ley de Residuos sólidos, Normas para el control de materiales Peligrosos, etc.

Otro de los aspectos importantes de destacar, es la sanción establecida en la Ley Penal del Ambiente, donde de acuerdo artículo 42 existe una sanción para quien incumpla el mismo; sin embargo cabe destacar que la falta de una Normativa Técnica para este recurso, dificulta la aplicación de lo establecido en esta ley.

1. **Constitución de la República Bolivariana de Venezuela 1999**, se establecen los derechos ambientales y en su Artículo 127 aparece que es una obligación fundamental del Estado, con la activa participación de la sociedad, garantizar que la población se desenvuelva en un ambiente libre de contaminación, en donde el aire, el agua, los suelos, las costas, el clima, la capa de ozono, las especies vivas, sean especialmente protegidos, de conformidad con la ley. Así mismo en el artículo 129 se señala que todas las actividades susceptibles de generar daños a los ecosistemas deben ser previamente acompañadas de estudios de impacto ambiental y socio cultural.
2. **Ley Forestal de Suelos y Aguas 1966**, se establece el Artículo 82 donde los_suelos deben usarse de acuerdo con su capacidad agrológica específica, el Ejecutivo Nacional proveerá lo conducente para la clasificación de las tierras del territorio nacional, basada en la pendiente, grado de erosión, fertilidad del suelo y factores del clima.
3. **Ley Orgánica para la Ordenación del Territorio1983**, en su Artículo 3, numeral 9 se establece que a los efectos de la presente Ley Orgánica la ordenación del territorio comprende la protección del ambiente, y la

conservación y racional aprovechamiento de las aguas, los suelos, el subsuelo, los recursos forestales y demás recursos naturales renovables y no renovables en función de la ordenación del territorio.

4. **Ley Penal del Ambiente 1992**, se da importancia a la protección a la contaminación del suelo, a través de la sanción, tal como lo establece el 42 de las actividades y objetos degradantes, donde se establece que, el que vierta, arroje, abandone, deposite o infiltre en los suelos o subsuelos, sustancias, productos o materiales no biodegradables, agentes biológicos o bioquímicos, agroquímicos, objetos o desechos sólidos o de cualquier naturaleza, en contravención de las normas Técnicas que rigen la materia, que sean capaces de degradarlos o alterarlos nocivamente, será sancionado con arresto de tres (3) meses a un (1) año y multa de trescientos (300) a mil (1.000) días de salario mínimo.

5. **Decreto 2216, se dictan las Normas para el Manejo de los Desechos Sólidos de Origen Doméstico, Comercial, Industrial, o de cualquier otra Naturaleza que no sean Peligrosos 1992**. En su Artículo 26, establece que los terrenos propuestos para la ubicación de un relleno sanitario deberán reunir las siguientes condiciones:

Poseer fácil acceso, tener suficiente área disponible de terreno para la recepción de los desechos sólidos durante un lapso no menor de quince (15) años, considerando los incrementos progresivos, estar ubicado fuera del cono de aproximación de aeropuertos. Estar ubicado a no menos de 400 metros de cualquier sistema de abastecimiento de agua o 500 metros de pozos profundos. No ser área de recarga de acuíferos. Poseer una topografía tal que permita un mayor volumen aprovechable por ha. No deben existir fallas activas o riesgos geológicos potenciales. No tener una frecuencia de inundación mayor de una vez cada cien (100) años. El

coeficiente de permeabilidad máximo permisible es del orden de 10⁻⁷ cm/seg. No estar ubicados dentro de ABRAE ni Parques Nacionales. No estar localizados en áreas ambientales sensitivas tales como pantanos y planicies inundables. No estar ubicados dentro de áreas de expansión urbana. Poseer suficiente material de cobertura en cantidad y calidad adecuada, dentro o en las cercanías del sitio

6. Decreto nº 2.635 mediante el cual se dicta la Reforma Parcial del decreto nº 2.289, contentivo de las Normas para el Control de la Recuperación de Materiales Peligrosos.

Artículo 49

La práctica de confinamiento en el suelo se realizará cumpliendo con las siguientes condiciones:

1. El área de disposición final no debe ser inundable y poseer una capa o membrana impermeabilizante en sus paredes, fondo y tope. Cuando el desecho exceda las concentraciones máximas permisibles en lixiviados establecidas en el Anexo D, deberá ser tratado hasta cumplir con dichos límites.
2. Los desechos deberán ser mezclados con suelo autóctono u otro material absorbente que les confiera la resistencia y compactación del suelo circundante.
3. La mezcla suelo/desecho resultante no debe exceder 50 por ciento de humedad y deberá cumplir los parámetros indicados en la lista que figura en este mismo artículo.
4. El tope de la mezcla resultante se encontrará por lo menos a 1 metro de la superficie.
5. La profundidad del acuífero aprovechable más superficial será mayor de 6 metros y el fondo de la fosa se encontrará por lo menos a 1.5 metros por encima del mismo.

6. El área de confinamiento deberá sellarse con suelo y restablecer la cobertura vegetal, empleando plantas preferiblemente de especies propias de la localidad, que no sean frutales y que se adapten a las condiciones presentes.

Artículo 50

La práctica de esparcimiento en suelos se llevará a cabo cumpliendo con las siguientes condiciones:

1. El área de disposición final debe estar alejada por lo menos 500 m de cuerpos de agua o fuera de la planicie de inundación de dichos cuerpos, de acuerdo a la información hidrológica existente.
2. La topografía del área de disposición final deberá tener una pendiente menor de 3 por ciento, orientada hacia el cuerpo de agua superficial más cercana.
3. El desecho no debe exceder las concentraciones máximas permisibles en lixiviados, establecidas en el Anexo D.
4. La mezcla suelo/desecho debe cumplir con los parámetros establecidos en la lista siguiente: pH 5 - 8

Artículo 51

Los desechos indicados en el artículo 48 pueden disponerse en cuerpos de aguas marino costeros y oceánicos cumpliendo las medidas derivadas de la evaluación ambiental correspondiente, para definir la distancia, profundidad y condiciones de la descarga que aseguren la dispersión y protección del medio. La práctica no podrá realizarse si los desechos contienen barita, que de acuerdo al fabricante, exceda de 1,0 mg/kg de mercurio, 3,0 mg/kg de cadmio, o presenten aceite libre.

Parágrafo Único: Se prohíbe esta práctica en Áreas Bajo Régimen de Administración Especial con fines protectores, áreas de cultivo de moluscos u otras especies marinas o de cultivo de algas, cuerpos de

aguadulce, albuferas, arrecifes coralinos y praderas de fanerógamas marinas.

Artículo 52

Los rípios y fluidos de perforación elaborados en base a aceites minerales de emulsión inversa o que contengan aceites de motor u otro tipo de hidrocarburos, podrán disponerse conforme a las siguientes prácticas:

- Inyección en acuíferos no aprovechables, yacimientos petroleros o acuíferos asociados.
- Biotratamiento
- Esparcimiento en suelos, conforme a las condiciones indicadas en el artículo 50.
- Incineración conforme a lo estipulado en el Capítulo V del Título III de este Decreto.

Asimismo establece en su Parágrafo Único: que El Ministerio del Ambiente y de los Recursos Naturales Renovables podrá autorizar otras prácticas, previa demostración por parte del interesado de la factibilidad técnica y ambiental de su aplicación

7. **Ley sobre Sustancias, Materiales y Desechos peligrosos del 2001**, establece en su Artículo 40. que las operaciones de almacenamiento, tratamiento, eliminación y disposición final de desechos peligrosos, así como los sitios destinados para tales fines deberán reunir las condiciones de seguridad y control de la contaminación, de tal modo que se garantice el cumplimiento de la reglamentación técnica sobre la materia.

El Artículo 45 señala que la disposición final de desechos peligrosos no radiactivos sólo podrá realizarse en rellenos de seguridad debidamente autorizados por el Ministerio del Ambiente y de los Recursos Naturales, y cumpliendo con la reglamentación técnica que rige la materia y en el

Artículo 46 que en el caso de los desechos peligrosos abandonados, depositados o tratados en forma contraria a lo establecido en esta Ley y en los demás instrumentos normativos sobre la materia, las autoridades competentes ordenaran de oficio, el manejo adecuado de dichos desechos a expensas del responsable de su abandono o disposición inadecuada, imponiendo además las sanciones a que haya lugar.

El Artículo 60. establece que los desechos de plaguicidas, los envases utilizados para la preparación de sus mezclas y los resultantes del lavado de los equipos de aplicación son considerados desechos peligrosos y su disposición final deberá realizarse de conformidad con las disposiciones de esta Ley y con la reglamentación técnica que rige la materia; el Artículo 67 que las personas naturales o jurídicas, públicas o privadas que pretendan realizar actividades de almacenamiento de sustancias, materiales o desechos peligrosos, de tratamiento, eliminación y disposición final de desechos peligrosos deben obtener del Ministerio del Ambiente y de los Recursos Naturales la autorización o aprobación de ocupación del territorio, conforme a la reglamentación técnica que regula la materia.

En el Artículo 81 y 82. Establece las sanciones y obligaciones fiscales. Entre las que establece que toda persona natural, representante legal de la persona jurídica, que introduzca desechos peligrosos país, incluyendo los desechos o residuos nucleares será sancionada con prisión de seis (6) a ocho (8) años y multa de seis mil unidades tributarias (6.000 U.T.) a ocho mil unidades tributarias (8.000 U.T.), más el monto correspondiente a la reparación total del daño causado al ambiente o a terceros. Y serán sancionadas con prisión de cuatro (4) a seis (6) años y multa de cuatro mil unidades tributarias (4.000 U.T.) a seis mil unidades tributarias (6.000 U.T.).

CAPÍTULO III

Marco Metodológico

Naturaleza de la Investigación

El trabajo se enmarca dentro de un tipo de investigación descriptiva, la cual según Hernández y Fernández (1991) señalan que este tipo de investigación mide o evalúa diversos aspectos, características y/o componentes o problemas o fenómenos a investigar, se selecciona un problema en específico, se mide el conjunto de variables o sus características primordiales de manera independiente para describir lo que se está investigando. Además coincide con el diseño de campo, según Sabino (1979) lo define como aquel que se basa en datos primarios obtenidos de la realidad, en este mismo orden, según Arias, (1999), también define el estudio descriptivo como: estudios que miden de forma independiente las variables y aun cuando no se formulen hipótesis las primeras aparecerán enunciadas en los objetivos de la investigación; enmarcado dentro del paradigma cuantitativo experimental.

Diseño Experimental

La investigación se desarrolló en cuatro fases; primero se realizaron visitas de campo al Relleno Sanitario de Pavia con la finalidad de conocer el estado actual del mismo, posteriormente se siguió el plan de muestreo en las zonas de disposición de desecho para residuos residenciales e industriales

del mismo. En segundo lugar se procedió al aislamiento de microorganismos del suelo del Relleno sanitario, en la tercera fase se identificaron las mismas y en la cuarta y última etapa se realizaron los ensayos de tolerancia a través de un diseño factorial.

Materiales y Equipos

Toma de Muestras. Para la realización del muestreo se empleó los siguientes materiales y equipos

- Bolsa clic
- Cava de conservación
- Pala
- Implementos de Seguridad Personal: guantes, tapa boca, botas, bragas

Medios de Cultivo y pruebas diferenciales. Para el aislamiento de las bacterias se emplearon los siguientes insumos:

- Agar Nutritivo
- Agua Peptonada
- Agua Estéril
- Envases para Medio
- Pipetas de 1 mL
- Balanza Analítica
- Placas Petri

Para la realización de las Pruebas diferenciales fueron utilizados los medios y reactivos que se listan a continuación:

- Verde Malaquita
- Rojo Congo
- Medio Hugh & Leifson

- Reactivo oxidasa
- Reactivo Catalasa
- Elementos para la realización de las tinciones de Gram
- Agar Cetrimide
- Agar B – King
- Kit de Identificación API 20E

A continuación se describe cada una de las Fases desarrolladas en esta investigación

Fase I. Muestreo del suelo

Para la recolección de muestras se procedió con un muestreo selectivo que según Guía para el Muestreo y Análisis de Suelo, del Ministerio de Energía y Minas del Perú (2000) indica que éste consiste en escoger sitios para el muestreo en base a diferencias obvias o típicas. Tales diferencias se determinan según la experiencia del muestreador y generalmente incluyen factores tales como la visibilidad del área, los cambios en el color del suelo, las áreas de perturbación física anterior o las áreas sin vegetación o con vegetación muerta. En los estudios ambientales, el muestreo selectivo a menudo constituye la base de una investigación; en nuestro caso se seleccionaron las áreas de las zonas donde se evidenciaba las escorrentías.

Procedimiento de Muestreo.

Se colectaron muestras de suelo con un peso aproximado de 100 g procedentes de la región industrial y residencial del Vertedero de Pavia, se tomaron porciones representativas de cada zona con una profundidad entre 0

– 30 cm las cuales se identificaron con el nombre de cada patio donde se extrajeron, éstas se colocaron en bolsas de plástico para trasladarlas al laboratorio y se conservaron en refrigeración hasta su utilización.

Fase II. Aislamiento de Bacterias presentes en el suelo del Vertedero de Pavia

El aislamiento e identificación de las bacterias, se realizaron en el laboratorio de Microbiología del Instituto Universitario Experimental de Tecnología “Andrés Eloy Blanco”, para lo cual se procedió de la siguiente manera:

El aislamiento de bacterias se llevó a cabo por medio de la resuspensión aseptica de 1 g de tierra en 100 mL de agua destilada estéril, con agitación vigorosa por 30 s, a partir del líquido sobrenadante de las muestras se realizó diluciones seriadas (1 ml en 9 ml en el tubo preparado con agua peptonada) de 10^0 hasta 10^6 .

Se tomó 1 mL de cada dilución, se inocularon las placas de agar nutritivo por vaciado en placa e incubadas durante 48 h a 28°C luego se les realizó el conteo y descripción de las colonias de distinta apariencia, el procedimiento se realizó por triplicado. Posteriormente se aislaron colonias de las diferentes placas, tomando en cuenta su morfología de crecimiento. Las colonias seleccionadas se sembraron para su purificación en tubos que contenían agar nutritivo. Cada colonia fue rotulada y transcurrida 48 horas de incubación, para verificar la pureza de las cepas bacterianas se procedió a sembrar por estría en Agar Nutritivo, incubando a t ambiente por 48 horas.

Una vez observada la pureza de las cepas se procedió a la identificación bioquímica.

Fase III. Identificación de microorganismos

A cada una de las colonias obtenidas se les realizó la descripción macroscópica, tinción de Gram, las características culturales de las colonias estudiadas fueron: forma (filamentosa, punciforme, circular, rizoide e irregular); elevación (espaciada, plana, elevada, cóncava, convexa, abultada); bordes (entero, ondulado, filamentoso, irregular, rizado) aspecto (brillante, opaca, mucosidad, no mucosidad); color y velocidad de crecimiento (Klement, 1990). Luego se identificaron a través de la aplicación de las pruebas bioquímicas de oxidasa, catalasa y la siembra en medio selectivo como Cetrimide y B-King.

Para pruebas bioquímicas se usó el kit de identificación preliminar API® 20 E para Enterobacterias Gram negativas (bioMERUX® SA Marcy l'Étolille Francia, No. Catálogo 20100). Estas tiras contienen diferentes sustratos que al entrar en contacto con la bacteria se hidratan y reaccionan con ésta, en función de las capacidades bioquímicas de la propia bacteria da por resultado la identificación, La misma se compone de 20 microtubos que contienen los sustratos deshidratados, los cuales se inoculan con una suspensión bacteriana que constituyen las pruebas. Cada tubo fue llenado de acuerdo al protocolo marcado por el Kit, las reacciones producidas durante el periodo de inoculación se traducen en cambios de colores espontáneos o revelados mediante la adición de reactivos.

Las pruebas se clasificaron en grupos y cada uno de los resultados obtenidos, positivos o negativos, se les asignó un valor numérico. Estos valores se compararon con base de datos APILAB, que finalmente muestra la identidad de los microorganismos

Fase IV. Tolerancia

Con el fin de conocer la capacidad de tolerancia del nativo microbiano aislado, se realizó bioensayos que consisten en exponer el microorganismo

aislado a diferentes concentraciones del metal Arsénico: 60, 80, 100 ppm, (seleccionadas según los antecedentes de concentración del metal encontrados en el suelo del vertedero de Pavia Patio Residencial, (Macchi, 2006).

Para esto se procedió a preparar a partir de los aislados bacterianos diluciones seriadas en base 10 en medio líquido (agua estéril); (10^0 a 10^{-6}); de cada dilución se inoculó, por triplicado, 0,1 ml a placas de petri. Luego se agregaron 20 ml de medio agar nutritivo fundido con arsénico y mantenido a 45^0 C. Una vez solidificados los medios se llevaron a incubar a 37^0 C durante 48-96 horas, para obtener crecimiento de colonias. Para cuantificar las colonias se seleccionaron las diluciones que presentaron crecimiento entre 30 y 300 UFC, se realizó el cálculo teniendo en cuenta el título de la dilución y la cantidad de inóculo utilizado. Los resultados se expresan en UFC/g de suelo.

Además se establecieron dos controles; el primero, un aislado bacteriano sin metal con el fin de monitorizar el crecimiento del microorganismo durante el tiempo del ensayo y el segundo control se realizó con el metal sin inóculo para asegurar que el compuesto no esté previamente contaminado por microorganismos.

CAPITULO IV

Discusión de Resultados

Toma de Muestra de suelo

Las muestras de suelo recolectadas se clasificaron de la siguiente manera (ver Tabla N°1)

Tabla N°1. Codificación de las muestras del suelo del Relleno Sanitario de Pavia

<i>Muestra</i>	<i>Descripción</i>
M1	Muestra Suelo Patio Industrial
M2	Muestra Suelo Zona Residencia 1
M3	Muestra de Suelo Zona Residencial 2

Las muestras de suelo fueron pasadas a un mortero para pulverizarlas y almacenadas hasta su utilización.

Aislamiento Microbiológico del Suelo

De los inoculados se obtuvieron para la muestra M1 crecimiento positivo en tres disoluciones 10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6} , en la muestra M2 también se obtuvo crecimiento en 3 de las disoluciones y en la muestra M3 solo se evidencio crecimiento en la disolución 10^{-4} , en la Tabla N°2 se describen las características de los microorganismos, así como las disoluciones donde se confirma el crecimiento para cada muestra (ver foto 1, 2,3):

Tabla N° 2. Codificación e identificación morfológica de los aislados bacterianos

Muestra	Crecimiento en las disoluciones	Características Morfológicas
M1	10^{-4}	Desarrollo de hongo Colonia verdosa, una colonia crema y 2 colonias secas blancuzcas, colonia crema aplanada de bordes irregulares, una colonia blanca seca opaca, en total se observaron 5 tipos de colonias
	10^{-5}	Colonias dispersas, 3 colonias verdosas, una colonia crema de bordes irregulares plana,
	10^{-6}	Una colonia crema de bordes irregulares, una colonia blanca de aspecto seco, 3 colonias pequeñas color crema oscuro
M2	10^{-4}	4 colonias verdosas, una colonia blanca de aspecto seco, 2 colonias blancas opacas de bordes irregular y de aspecto seco, desarrollo hongo
	10^{-5}	Desarrollo de hongo, colonia seca de borde irregular blanca, 2 colonias blancas de aspecto seco
	10^{-6}	Una colonia blanca seca, una colonia crema de borde irregular.
M3	10^{-4}	3 colonias de color crema de aspecto seco y bordes irregulares, colonia transparente

Las colonias visiblemente diferenciadas se aislaron en tubos de agar nutritivo y se codificaron de la siguiente manera (ver Tabla N°3)

Tabla N°3. Código de los aislados bacterianos de cada muestra de suelo.

Muestra	Descripción	Código
M1	Colonia Transparente	M110 ⁻⁴ 1
	Colonia Blanca	M110 ⁻⁴ 2
	Colonia Crema	M110 ⁻⁵ 1
M2	Colonia Blanca	M210 ⁻⁵ 1
	Colonia Blanca verdosa	M210 ⁻⁵ 2
	Colonia Blanca	M210 ⁻⁴ 1
	Colonia Blanca Seca	M210 ⁻⁴ 2
	Colonia Crema estrellada	M210 ⁻⁴ 3
M3	Colonia Estrellada	M210 ⁻⁴ 4
	Colonia Crema	M310 ⁻⁴ 1
	Colonia Transparente	M310 ⁻⁵ 1
	Colonia Blanca	M310 ⁻⁶ 1

Identificación morfológica

Una vez codificada las colonias diferentes se procedió a realizar Tinción de Gram y observar su forma aplicando Rojo Congo obteniendo como resultado 1 colonia gram positiva (+) y 12 gram negativa (-).

Las colonias aisladas e identificadas como gram negativa se sembraron por agotamiento en agar nutritivo con el fin de limpiarlas; es decir, obtener las bacterias puras para asegurar que no estén contaminadas con otros microorganismos. Después de varios repiques se obtuvieron siete (7)

bacterias de la muestra M1, cuatro (4) bacterias de la muestra M2 y tres (3) aislados de la muestra M3.

Las bacterias diferenciadas se conservaron en tubos con agar nutritivo para proceder a su identificación por medio de la aplicación de las pruebas bioquímicas y pruebas API.

Identificación bioquímica

Dentro de las pruebas bioquímicas se realizó la prueba de oxidasa y la prueba de catalasa a cada una de los aislados. Para la prueba de oxidasa, se comenzó tomando un poco del crecimiento sobre el agar nutriente se esparció sobre un porción de papel de filtro, inmediatamente se le añadió una gota del reactivo de oxidasa (Kovacs) y se observó por 10-30s.

La prueba de oxidasa se basa en la producción de la enzima indofenol oxidasa. Dicha enzima oxida un colorante redox presente en el reactivo, por lo cual un cambio en color de amarillo a violeta oscuro indica una prueba oxidasa positiva; mientras que si permanece amarillo es oxidasa negativa. Para los aislados estudiados todos resultaron ser oxidasa positiva.

Para realizar la prueba de catalasa, se tomó un poco del crecimiento sobre el agar nutriente en un asa de inocular, y se sumergió en 10 mL de agua estéril e inmediatamente se le añadió una gota de peróxido de hidrógeno. La prueba de catalasa se basa en la presencia de la enzima catalasa. Dicha enzima tiene la capacidad de hidrolizar el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno ($2\text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$), por lo cual una producción de burbujas sobre el cultivo es considerado catalasa positivo, mientras que la ausencia de burbujas es considerado catalasa negativo. Para los aislados todos resultaron catalasa positiva. Se continuó con el procedimiento del Api® 20E a aquellos cultivos cuyo resultado fuesen oxidasa positivo y catalasa positivo, gran negativo.

Haciendo uso de un gotero estéril, se inoculó la suspensión salina que ya contenía la muestra en los primeros 20 mini tubos de la tirilla de prueba Api 20E siguiendo las instrucciones del fabricante para servir las muestras. Las tirillas se colocaron en una cámara húmeda y se incubaron a 37°C por 18-24h. Luego del periodo de incubación se hicieron las pruebas indicadas por el fabricante. Lográndose identificar las siguientes bacterias (ver foto 2), en la tabla N°4 se describe los códigos y resultado de las diferentes pruebas bioquímicas aplicada a los aislados bacterianos y se identifica el género y especie de cada aislado.

Tabla N°4. Identificación Bioquímico de los aislados bacterianos

Código	API20	Oxi.	Cat.	Medio B-King	Medio Cetrimide	Nombre
M110⁻⁴	3306373	+	+	-	-	<i>Enterobacter sp</i>
M110⁻⁴1	6300142	+	+	-	-	<i>No identificada</i>
M110⁻⁴2B	2206004	+	+	+	+	<i>P. putida/fluorescens</i>
M110⁻⁴2D	3206042	+	+	-	-	<i>Aeromona</i>
M110⁻⁵1	2206007	+	+	+	+	<i>P. putida/fluorescens</i>
M210⁻⁴2	7202002	+	+	-	-	<i>Aeromona</i>
M210⁻⁵1	7202000	+	+	-	-	<i>Aeromona Subertii</i>
M210⁻⁵2	2206042	+	+	+	+	<i>P. putida/fluorescens</i>
M310⁻⁵	1206153	+	+	-	-	<i>Serratia plymuthica</i>
M310⁻⁵1	2206004	+	+	+	+	<i>P. putida/fluorescens</i>
M310⁻⁶1	7242000	+	+	-	-	<i>Aeromona</i>

Adicional a la aplicación del Kit API® se aplicaron las pruebas bioquímicas de anaerobiosis, Medio Cetramide, Medio B-King como pruebas confirmatorias para las especies estudiadas (ver fotos 3 y 4).

Tolerancia

La tolerancia (capacidad de crecimiento en presencia del metal) de los microorganismos se evaluó mediante la inoculación de los microorganismos en placas de agar nutritivo conteniendo el metal a diferentes concentraciones tal como se describe en el Capítulo III.

Los resultados de crecimiento de cada uno de los microorganismos aislados se presentan de acuerdo a la concentración empleada del metal (Tabla N°5).

Tabla N°5. Tolerancia de los Aislados Bacterianos al Arsénico.

Muestra	Concentración*10⁶		
	60 ppm	80 ppm	100ppm
M1	Incontable	> 30 ufc	> 5ufc
M2	Incontable	> 30 ufc	> 10ufc
M3	incontable	> 50 ufc	>10 ufc

Tal como se expone en la tabla N° 4 los microorganismos fueron capaces de crecer en todas las dosis empleadas, dando incontables en la mayoría de las placas, con lo cual se demuestras que son capaces de tolerar el metal a la concentración máxima de 100 ppm de arsénico.

CAPITULO V

Conclusiones

De los resultados obtenidos en el desarrollo de presente estudio con relación a la determinación de un consorcio bacteriano aislado del suelo del Relleno Sanitario de Pavia ubicado en el Municipio Iribarren del Estado Lara y con el fin de cumplir con los objetivos planteados, se puede concluir lo siguiente;

- Se logró aislar once (11) bacterias del suelo del Relleno Sanitario de Pavia, e identificarlas aplicando los medios selectivos y el Kit de Identificación Apilab Plus.
- Los géneros de las cepas aisladas del suelo del Relleno Sanitario de Pavia en el Municipio Iribarren del Estado Lara coinciden con las reportadas en la bibliografía las cuales se ha demostrado que son capaces de tolerar el metal como son las *Pseudomonas* y *Enterobacter*, (Campos y col., 2007)
- El sistema de identificación Apilab Plus empleado probó ser una herramienta útil para la rápida identificación de las cepas mencionadas.
- Los consorcios bacterianos obtenidos demostraron ser altamente tolerante al metal arsénico, evidenciando crecimiento a concentraciones de 100 ppm.

Recomendaciones

Mediante las conclusiones obtenidas y sobre las bases de éstas se recomienda lo siguiente;

- Evaluar la tolerancia de cada aislado bacteriano por separado a diferentes concentraciones del metal arsénico y ante otros metales como cromo, plomo, mercurio con el fin de evaluar el comportamiento de cada especie ante otras concentraciones y metales.
- Realizar un estudio en el que se determine la cinética de crecimiento de cada aislado bacteriano ante concentraciones diferentes de metal, con el propósito de evaluar la capacidad de eliminación del metal.
- Realizar estudio de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para una identificación más exacta de los aislados bacterianos.
- Determinar los niveles de absorción del metal por el microorganismo.

REFERENCIAS

- AEMA-PNUMA. 2002. **Con los pies en la Tierra: la degradación del suelo y el desarrollo sostenible en Europa. Un desafío para el siglo XXI.** Problemas medioambientales, nº 16. 34 pp
- Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR), 2007. **Resumen de Salud Pública Arsénico**, Atlanta, GA: Departamento de Salud y Servicios Humanos de los EE.UU., Servicio de Salud Pública. <http://www.atsdr.cdc.gov/es/>
- Alexander, M. 1999. **Biodegradation and bioremediation.** 2^{da} ed. Academic Press. New York.
- Álvarez, P., Guevara, E. (2003). **Biorremediación y Atenuación Natural de Acuíferos Contaminados por Sustancias Químicas Peligrosas.** Carabobo. CDCH.
- Ambientum (2003).). **Gestión de Residuos Sólidos Urbanos.** Ambientum (revista en línea), Disponible: http://www.ambientum.com/revista/2003_05/RESIDUOS.htm (consulta: 2010, julio 30).
- Arias, F. (1999). **El Proyecto de Investigación.** Caracas: Editorial Episteme
- Calvo, F., Zamorano, M. and Moreno, B. 2001. **Metodología de diagnóstico ambiental de vertederos como herramienta en la planificación ambiental.** I Congreso de Ingeniería Civil, Territorio y Medio Ambiente. pp. 965-975.
- Capó, M. (2002). **Principios de Ecotoxicología. Diagnóstico, Tratamiento y Gestión del Medio Ambiente.** Ed. McGraw-Hill/ Interamericana de España.
- Campos, V. (2007). **Aislamiento De Bacterias Resistentes A Arsénico Desde Muestras De Rocas Volcanicas De La Quebrada Camarones, Región Parinacota: Chile.** Revista en línea Gayana. Vol.71 (.2), pp. 150-155. ISSN 0717-6538

- Cañizales, R. (2000). **Biosorción de Metales Pesados Mediante el Uso de Biomasa Microbiana**. Revista Latinoamericana de Microbiología. [Nº 42, 131 – 146]
- CEPIS, OPS/OMS. Guía para el manejo de residuos sólidos en ciudades pequeñas y zonas rurales. 1997
- Cervantes, C., Espino, A., Acevedo, F. y Otros (2006). **Interacción Microbiana con Metales Pesados**. Revista Latinoamericana de Microbiología. [Nº 2, 203 – 210]
- Cruz, J. (2008). **Remoción de metales por microorganismos productores de polisacáridos**. Tesis de Investigación. Santiago de Querato. Junio 2008
- Díaz, J. (2001). Desarrollo de un Sistema Integrado para la Monitorización “in situ” de Metales Pesados. Tesis Doctoral. Universidad politécnica de Cataluña. Barcelona España.
- Garza, M. (2005). **Aislamiento De Microorganismos Con Alta Capacidad De Tolerar Y Remover Pb(II), Cr(VI), Cd(II), Cu(II), Zn(II) y Ni(II)**. Trabajo de Investigación. La Habana Cuba.
- Giraldo, E. (2002). **Tratamiento de Lixiviado de Relleno Sanitario**. Facultad de Ingeniería. Universidad Los Andes. Guía de Estudio. 44 – 55.
- Gómez, L. (2007) *Evaluación del potencial de migración de metales pesados en suelos del vertedero controlado con técnicas de relleno sanitario de pavia*. **Enlace Científico** Año 7, Nro. 6. IUETAEB.
- FUDECO. (1993). **El basurero de Pavia. Recomendaciones Técnicas para su Clausura**. Barquisimeto. Lara
- Henry, J.; Heinke, G. (1996). **Ingeniería Ambiental**, Segunda edición. España. Editorial: Pearson.
- Hernández, S., Fernández, C. (1991). **Metodología de la Investigación**. Segunda Edición. México. McGraw Hill.

- Klement, Z., Rudolph, K. y Sands, D. 1990. *Methods in Phytobacteriology*.
Académiai Kiadó. Budapest. 547 pp
- La Grega, Michael D., Buckingham, Phillip L., Evans, Jeffrey C. 1996a.
Destino y transporte de sustancias contaminantes. En: ***Gestión de Residuos Tóxicos. Tratamiento, Eliminación y Recuperación de Suelos***. España. Ed. McGraw-Hill/ Interamericana. 1316 pp
- Laguna, M., Luzardo, R. (2005). ***Diagnostico y caracterización ambiental del Vertedero de Yaritagua Estado Yaracuy para cuantificar el Riesgo de Contaminación sobre elementos del Medio Ambiente***. Trabajo de Grado no Publicado. UCLA
- Ley Orgánica del Poder Publico Municipal (2006). Gaceta Extraordinaria 5806. República Bolivariana de Venezuela
- Lareserva, (2009). Los 10 Ríos mas Contaminados del Planeta. (Revista en línea), Disponible: <http://www.lareserva.com>. (Consulta 2010, julio 30)
- Macchi, L., (2006). ***Evaluar la remoción de arsénico y mercurio en Vermicompost y suelos contaminados con dichos elementos, al utilizar la lombriz roja californiana (Eisenia Foétida) como biorremediadora de los mismos, empleando la Espectroscopia de Absorción Atómica en Llama con acople de Generación de Hidruros como herramienta analítica para la cuantificación de estos elementos***. Trabajo de Grado no publicado. UNEXPO. Barquisimeto.
- Metcalf, Eddy, (2002). ***Ingeniería Sanitaria: Tratamiento, evacuación y reutilización de aguas residuales***. 7ª edición. Ed. Labor S.A., España.
- Nápoles, A., Abalos, A. (2008). ***Biorremediación de ecosistemas contaminados con xenobióticos***. Universidad de Oriente. Biotecnología Industrial. (Guía en Línea) Disponible: <http://www2.uah.es>. (Consulta 2010, Febrero 20)
- Norma Oficial Mexicana NOM-001-ECOL-1996, que establece los límites máximos permisible de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. Diario Oficial de la Federación, 6 de enero de 1997.

- Organización Mundial de la Salud (OMS). Organización Panamericana de la Salud (OPS). (2002). ***Evaluación Regional de los Servicios de Manejo de Residuos Sólidos.***
- Organización Panamericana para la Salud (OPS) (2003). ***Informe Analítico de Venezuela referido a la Evaluación Regional de los Servicios de Manejo de Residuos Sólidos Municipales.***
- Orjuela, Y., Cotes, A. (2006). ***Bioabsorción de Metales Pesados por *Salvinia natans* de los lixiviados del Relleno Sanitario Combeima de Ibagué.*** Revista Tumbaga. [Vol. 1, 89 – 100]
- Pérez R., Camacho, M., Gómez J., Ábalos A.,Cantero D. (2008). ***Aislamiento y selección de una cepa bacteriana degradadora de hidrocarburos a partir de suelos contaminados con petróleo.*** Revista CENIC Ciencias Biológicas, Vol. 39, No. 1, 2008
- Polo, M. (2001). ***Efectos de los Lixiviados del Vertedero de Desechos Sólidos La Guasima sobre la Calidad del Agua Subterránea.*** Municipio Libertador. Trabajo de Grado no Publicado. UC. Valencia, Carabobo.
- Química Inorgánica y Medio Ambiente. Guía de Estudio. Disponible en: <http://www.uco.es>. (Consultado 2010, Febrero 20).
- Rodríguez, Y. et. Al. (2008). ***La experiencia de investigar.*** Recomendaciones precisas para realizar una investigación y no morir en el intento. 3ª Edición. Dirección de medios. Universidad de Carabobo. Valencia. Venezuela
- Sabino, C. (1997). ***Metodología de la investigación.*** Caracas: Editorial Panapo
- Tchobanoglous, G.; Theisen, H.; Vigil, Samuel A. ***Gestión Integral de Residuos Sólidos.*** Editorial Mc Graw Hill. Madrid, España. 1994
- Trejo, R. (2008). ***Investigación Sobre Eliminación De Sales Metálicas Por Procedimientos Avanzados.*** Tesis Doctoral. Universidad politécnica de Madrid. Madrid. España.

USEPA (United State Environmental Agency). 2001. Residential lead hazard standards-TSCA section 403: office of pollution prevention and toxics. Environmental protection Agency, U.S.

VITALIS (2009). **Situación Ambiental de Venezuela 2009**. Análisis de Percepción del Sector. Editores: Diego Díaz Martín, José Antonio Apostólico y Yazenia Frontado. 29 pp. Disponible online en: www.vitalis.net (Consultado 2010, Febrero).

ANEXOS



Foto 1. Aislamiento Muestra Zona Industrial

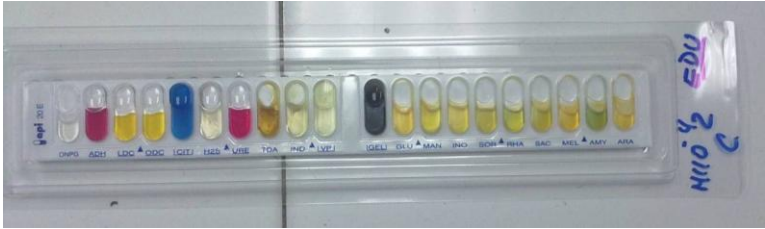


Foto 2. Aislamiento Zona Residencial 1



Foto3. Aislamiento Zona Residencial 2

Foto 4. Pruebas API



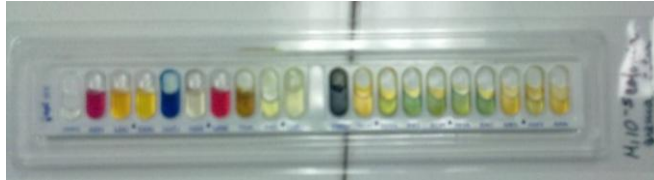




Foto 5. Aislados Bacterianos Muestra Zona Industrial

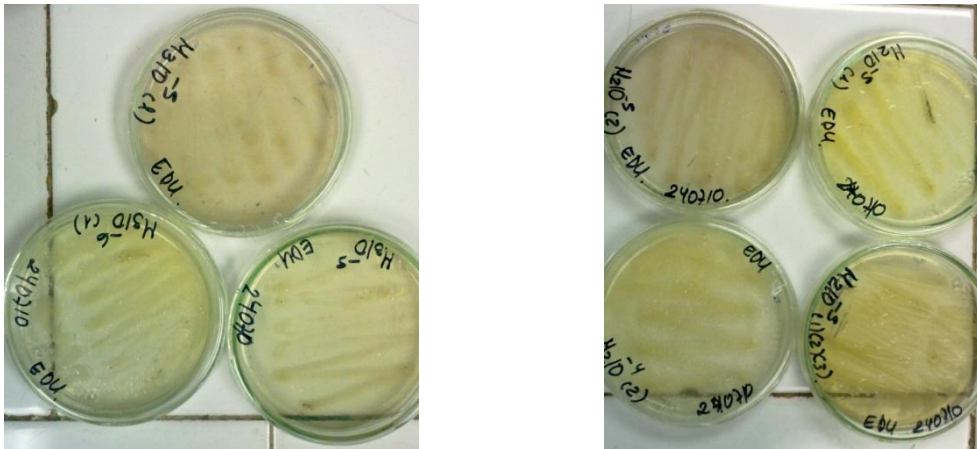


Foto 6. Aislados Bacterianos Zona Residencial 1 y 2

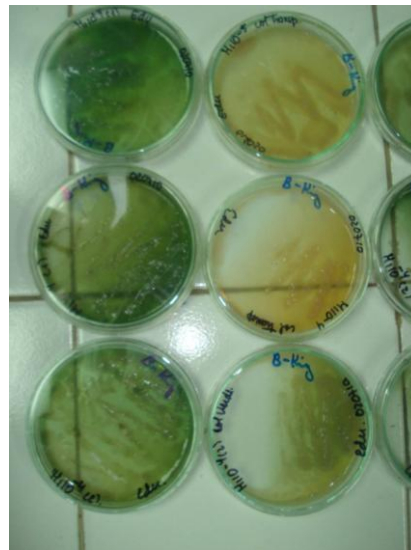
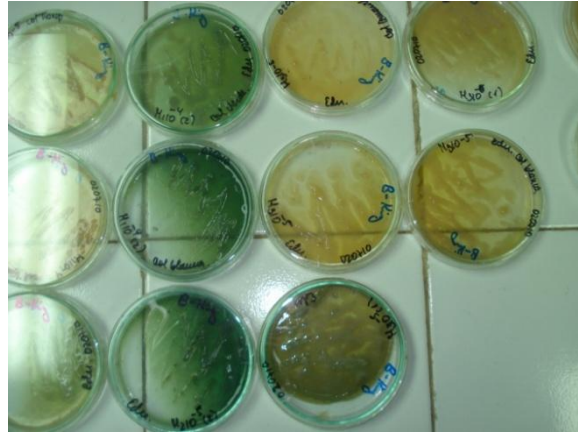


Foto 7. Pruebas en Agar B-King

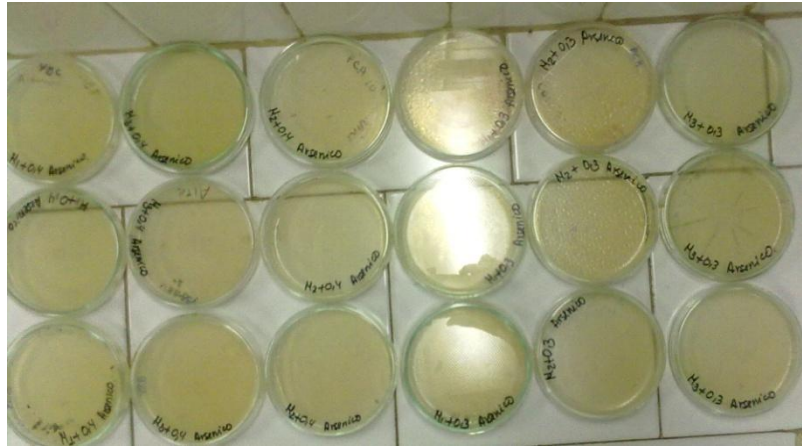


Foto 8. Prueba Tolerancia

