



**UNIVERSIDAD DE SONORA**  
**DIVISIÓN DE INGENIERÍA**  
**POSGRADO EN CIENCIAS DE LA INGENIERÍA**

**BIOSORCIÓN DE DDT EN UN CULTIVO MIXTO  
BACTERIANO**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**MAESTRO EN CIENCIAS DE LA INGENIERÍA**

**PRESENTA:**

**DIEGO JAVIER ROBLES DE JESÚS**

**HERMOSILLO, SONORA**

**MAYO DE 2008**

# UNIVERSIDAD DE SONORA

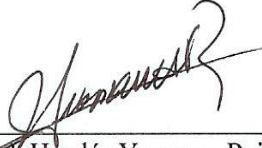
## APROBACIÓN DEL JURADO

de la tesis presentada por:

**Ing. Diego Javier Robles de Jesús**

Esta tesis ha sido revisada por cada uno de los miembros del Jurado y por mayoría de votos la han encontrado satisfactoria.


\_\_\_\_\_  
Fecha

  
\_\_\_\_\_  
M.C. J. Haydée Yeomans Reina  
Presidente

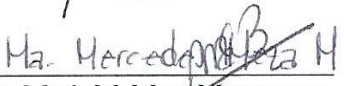
\_\_\_\_\_  
Fecha

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Francisco Arturo Montoy Norzagaray  
Secretario

\_\_\_\_\_  
Fecha

  
\_\_\_\_\_  
M.C. Arturo Ruiz Manríquez  
Vocal

\_\_\_\_\_  
Fecha

  
\_\_\_\_\_  
Dra. María M. Meza Montenegro  
Sinodal Externo

**UNIVERSIDAD DE SONORA**  
**AUTORIZACION DEL EXAMEN DE GRADO**

Mayo 5, de 2008.

Por la presente se hace constar que el estudiante **DIEGO JAVIER ROBLES DE JESUS**, ha cumplido satisfactoriamente con los requisitos académicos correspondientes para la realización del Examen de Grado del programa de Maestría en Ciencias de la Ingeniería.



**DR. JESUS LEOBARDO VALENZUELA GARCIA**  
**JEFE DE DEPARTAMENTO**  
**DEPTO. DE INGENIERIA QUIMICA Y METALURGIA**

## RESUMEN

DDT fue un plaguicida usado intensivamente en México desde 1956 hasta 1960, y por una recomendación de la Organización Mundial de la Salud actualmente se sigue permitiendo su aplicación para el control de la malaria y el dengue. Actualmente México, China y la India son los únicos productores de DDT. Su persistencia en el ambiente así como su capacidad para bioacumularse han hecho que se busquen alternativas para la reducción de sus niveles o eliminación en el ambiente. Una de las alternativas en estudio es la biosorción por lo que el propósito de este trabajo fue evaluar la capacidad que tiene la biomasa inactiva proveniente de un cultivo mixto bacteriano para adsorber DDT. Se evaluó la capacidad de biosorción de DDT de un cultivo bacteriano mixto aislado en el Valle del Yaqui en Sonora, propagado en el laboratorio, cosechado por centrifugación y secado con acetona a  $-20^{\circ}$  C. Se estandarizó un método para dosificar muestras homogéneas de células suspendidas en el reactor para llevar a cabo los experimentos de biosorción. La evaluación se realizó determinando tanto la isoterma como la cinética de adsorción. Los experimentos se evaluaron determinando la concentración de DDT residual en la biomasa mediante cromatografía de gases de los extractos orgánicos correspondientes. Los valores experimentales que describen la isoterma se ajustaron al modelo de Langmuir, obteniéndose una capacidad máxima de adsorción ( $q_{\max}$ ) de 2.656 mg de DDT/g de biomasa y un coeficiente de afinidad ( $b$ ) de 0.062 mg/L; el bajo valor del coeficiente de afinidad demuestra que el adsorbente tiene una buena afinidad por el DDT. Los resultados cinéticos demuestran, así mismo, que el fenómeno de adsorción se realiza en los primeros 20 minutos. Se puede concluir que el fenómeno de biosorción si se lleva a cabo y contribuye aproximadamente en un 25 % en el proceso integral de eliminación de DDT.

## ABSTRACT

DDT was a widely used pesticide in Mexico since 1956 to 1960 and by recommendation of the World Health Organization (WHO) actually, its application it is being permitted for malaria and dengue control. Actually, Mexico along with China and India are the only DDT producers. Its persistency on the environment and due its capacity to bioaccumulate, had make the search for alternatives to reduce its levels or environment elimination. One of the alternatives being studied is biosorption, so the purpose of this work was to evaluate the capacity that had the inactive biomass proceeding from a bacterial mixed culture, to adsorb DDT. It was evaluated the DDT biosorption capacity of a bacterial mixed culture isolated from Yaqui Valley in Sonora, reproduced in laboratory, harvested by centrifugation and dried with acetone at - 20° C. A method was standardized to distribute homogenous samples of suspended cells in the reactor to take along the biosorption experiments. The evaluation was realized determining the isotherm and the kinetic adsorption. The experiments were evaluated determining the residual DDT concentration in the biomass by gas chromatography of the correspondent organic extracts. The experimental values that describe the isotherm adjusted to the Langmuir model, obtaining a maximum adsorption capacity ( $q_{max}$ ) of 2.656 mg DDT/g biomass and an affinity coefficient (b) of 0.062 mg/L; the low value of the affinity coefficient demonstrates that the adsorbent has a good affinity for DDT. The kinetic results also demonstrate that the adsorption phenomenon is being realized in the first 20 minutes. It can be concluded that the biosorption phenomenon it's taking place and it contributes in approximately 25% of the integral process of DDT elimination.

## **DEDICATORIA**

Le doy gracias a Dios y a mi madre del cielo, la Santísima Virgen de Guadalupe, por siempre estar a mi lado en mis momentos de triunfos y fracasos; siempre estando a mi lado para ayudarme a levantarme ante los tropiezos de mi vida. Gracias por ayudarme a ser una mejor persona día a día. Amén.

Agradezco plenamente a mi familia por ser siempre mi soporte y fortaleza durante toda mi vida, y en este momento por ser la inspiración de un paso más en mi formación académica. En especial le doy gracias de todo corazón a mi mamá, Dra. Edith Concepción de Jesús Sánchez.

También le dedico este trabajo a mi maestra y amiga, M.C. Jesús Haydée Yeomans Reina, que me dio su apoyo incondicional como su alumno, pero también como ser humano. Gracias por escuchar mis palabras y darme tantos buenos consejos.

## TABLA DE CONTENIDO

|   | Página |
|---|--------|
| RESUMEN                                     | iv     |
| ABSTRACT                                    | v      |
| LISTA DE FIGURAS                            | xi     |
| LISTA DE TABLAS                             | xii    |
| NOMENCLATURA                                | xiii   |
| AGRADECIMIENTOS                             | xiv    |
| 1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS                 | 1      |
| 1.1 Introducción                            | 1      |
| 1.2 Objetivo General                        | 3      |
| 1.3 Objetivos Específicos                   | 4      |
| 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA                   | 5      |
| 2.1 Contaminación Ambiental por Plaguicidas | 5      |
| 2.1.1 Propiedades de los Plaguicidas        | 6      |
| 2.1.2 Plaguicidas Organoclorados: DDT       | 8      |
| 2.2 Comportamiento Ambiental del DDT        | 9      |
| 2.2.1 Suelos                                | 9      |
| 2.2.2 Aire                                  | 10     |

|   |    |
|---|----|
| 2.2.3 Agua  | 11 |
| 2.2.4 Sedimentos  | 12 |
| 2.2.5 Bioacumulación  | 13 |
| 2.2.6 Biota   | 14 |
| 2.2.7 Vidrio  | 15 |
| 2.3 Toxicidad del DDT en Humanos  | 16 |
| 2.4 Contaminación del Valle del Yaqui con Plaguicidas                                       | 19 |
| 2.5 Remediación de Contaminantes  | 21 |
| 2.5.1 Biorremediación   | 24 |
| 2.5.2 Compuestos Biodegradables   | 25 |
| 2.6 Tipos de Biotratamientos  | 26 |
| 2.6.1 Sorción   | 28 |
| 2.6.2 Biosorción  | 29 |
| 2.6.3 Microorganismos Utilizados en Biosorción de<br>Plaguicidas y Mecanismos de Biosorción | 30 |



|   |    |
|---|----|
| 2.7 Bases Teóricas para el Análisis de la Operación<br>Biosorción | 32 |
| 2.7.1 Adsorción   | 32 |
| 2.7.2 Modelos Simples de Adsorción                                | 35 |
| 3. MATERIALES Y MÉTODOS   | 39 |
| 3.1 Materiales  | 39 |
| 3.1.2 Adsorbente  | 39 |
| 3.1.3 Reactivos   | 39 |
| 3.2 Metodología   | 42 |
| 3.2.1 Estandarización del Sistema Experimental                    | 42 |
| 3.2.2 Preparación del Adsorbente                                  | 42 |
| 3.2.3 Elaboración de una Suspensión de Células<br>Homogéneas      | 43 |
| 3.3 Determinación de la Cinética de Biosorción                    | 43 |
| 3.4 Determinación de la Isoterma de Adsorción                     | 45 |

|   |    |
|---|----|
| 3.5 Extracción de DDT de la Biomasa                 | 45 |
| 3.6 Determinación de DDT por Cromatografía de Gases | 46 |
| 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN                           | 49 |
| 4.1 Estandarización del Sistema Experimental        | 49 |
| 4.2 Homogenización de Suspensión de Células         | 50 |
| 4.3 Biodisponibilidad de DDT                        | 53 |
| 4.4 Determinación de DDT por Cromatografía de Gases | 53 |
| 4.5 Isoterma de Adsorción                           | 55 |
| 4.6 Cinética de Adsorción                           | 60 |
| 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES                   | 64 |
| BIBLIOGRAFÍA  | 66 |

## LISTA DE FIGURAS

| Figura   | Página |
|--|--------|
| 1. Descripción general del trabajo realizado.  | 41     |
| 2. Operaciones utilizadas en la cinética de adsorción.                                   | 44     |
| 3. Operaciones utilizadas en los experimentos para obtener la Isoterma de adsorción.     | 47     |
| 4. Cromatograma de gases correspondiente a la elución de DDT y PCNB en una columna DB-5. | 56     |
| 5. Curva estándar DDT.   | 58     |
| 6. Isoterma de adsorción de DDT en biomasa bacteriana.                                   | 59     |
| 7. Cinética de adsorción de DDT por biomasa bacteriana.                                  | 62     |
| 8. Velocidad específica de adsorción.  | 63     |

## LISTA DE TABLAS

| Tabla |  | Página |
|-------|--|--------|
| 1     | Absorbancia a 600 nm de una suspensión celular homogenizada. | 52     |
| 2     | Disponibilidad de DDT para adsorción.                        | 54     |

## NOMENCLATURA

V: volumen de la solución conteniendo el soluto puesto en contacto con el adsorbente

$C_i$ : concentración inicial de la solución

$C_f$ : concentración de equilibrio (residual) de la solución

S: cantidad de sorbente base seca

q: cantidad de sorbato retenido por el biosorbente

$q_{max}$ : máxima adsorción del sorbato en el sorbente, bajo condiciones dadas

b: coeficiente relacionado a la afinidad entre el sorbente y el sorbato

k: velocidad específica de adsorción

$\Theta$ : fracción de los sitios superficiales ocupada por las moléculas adsorbidas

## **AGRADECIMIENTOS**

Posgrado de Maestría en Ciencias de la Ingeniería

Laboratorio de biotecnología del Departamento de Ingeniería Química y Metalurgia, en especial a M.C. Esther Carrillo Pérez.

Sinodales: M.C. J. Haydée Yeomans Reina, M.C. Arturo Ruíz Manríquez, Dr. Francisco Arturo Montoy Norzagaray y Dra. María M. Meza Montenegro

## CAPÍTULO 1

### INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

#### 1.1 Introducción

DDT (1, 1, 1-tricloro-2,2-bis (p-clorofenil) etano) es uno de los plaguicidas más persistentes en el ambiente el cual tiende a acumularse a través de la cadena alimenticia de las especies (bioacumulación). Esto llevó en 1972 a su prohibición en Estados Unidos y a restringir su uso en otros países.

Este plaguicida fue usado intensiva y sistemáticamente en México desde 1956 hasta 1960, y por una recomendación de la Organización Mundial de la Salud (WHO, de sus siglas en inglés) se ha permitido su aplicación para el control de la malaria. En el período de 1971-1984 se aplicaron alrededor de 60,600 toneladas de insecticidas organoclorados de las cuales el 10 % fueron DDT (López-Carrillo y col., 1996). Actualmente, México junto con China y la India son los únicos productores de DDT a nivel mundial. Sin embargo, la Secretaria de Salud se ha comprometido a eliminar el uso de DDT y buscar otras alternativas para el control de la malaria con la ayuda de Canadá y Estados Unidos.

Los residuos de DDT son biodegradados muy lentamente y se bioacumulan en los tejidos grasos (Waliszewski y col., 2005) produciendo efectos letales en los sistemas nervioso, respiratorio, al aparato digestivo, y a las membranas mucosas de los vertebrados (González y Canales, 1995). Cebrian (1998), reportó evidencia de carcinogenicidad de varios tipos de plaguicidas.

Descontaminar diluyendo o movilizandolos contaminantes del sitio contaminado solo relocaliza el problema, favoreciendo el depósito de tóxicos en los cuerpos de agua superficiales y subterráneos, suelos y aire, impactando desde allí severamente al ecosistema (Alexander, 1994; Richins y col., 1997).

El incremento en la contaminación y la presencia de plaguicidas en el ambiente, han favorecido el desarrollo de microorganismos que son capaces de degradarlos lo que hace posible su utilización para abatir los niveles de contaminación así como los problemas de salud causados por ellos. Se han reportado microorganismos que pueden transformar el DDT, principalmente en condiciones anaeróbicas, en donde el principal producto es DDD también tóxico y cuya acumulación tampoco es deseable.

El Noroeste de México es una zona donde se practica una agricultura intensiva a base de la tecnificación de las labores del campo y aplicación masiva de agroquímicos. Esto ha generado un problema de contaminación ambiental, donde los plaguicidas se encuentran impactando suelo, agua y fluidos humanos (Cámara, 1992; González y Canales, 1995; García y Meza, 1991).

Una alternativa para la remoción de DDT y otros compuestos orgánicos de sitios contaminados es la biosorción, proceso que implica la interacción directa entre el compuesto a remover (sorbato) y el biosorbente formado por las estructuras externas de microorganismos (bacterias, levaduras y hongos). En este caso el material biológico es utilizado para remover contaminantes a partir de soluciones acuosas (Juhasz y col., 2000; Juhasz y col., 2002; Juhasz y col., 2003).

Los microorganismos adsorben iones y compuestos orgánicos del medio ambiente mediante interacciones independientes del metabolismo de estas especies con la superficie celular; en este caso la difusión del compuesto desde el seno del líquido a los sitios activos de la superficie de la biomasa inactiva, ocurre mediante un mecanismo pasivo sin gasto de energía (Palmieri y col., 2000). El secuestro intracelular de estos también se puede dar en un proceso dependiente del metabolismo. El tamaño pequeño de los microorganismos por el cual poseen una alta relación superficie/volumen, los dota de una gran área de contacto con los materiales del medio ambiente que los rodea haciéndolos atractivos como adsorbentes para ser utilizados en procesos de remoción de contaminantes como la biorrestauración. (Kuroda, 2003).



La biosorción como proceso de remoción de contaminantes ofrece algunas ventajas sobre otras alternativas tales como bajo costo, generación de menores volúmenes de lodos biológicos o químicos para ser confinados y alta eficiencia de destoxificación a partir de soluciones diluidas de contaminantes (Göksungur y col., 2005).

Una gran parte de los estudios de biosorción son realizados en sistemas intermitentes con un solo tipo de compuestos orgánicos. Estos procesos son conceptualmente simples; una biomasa microbiana adecuada es puesta en contacto con la solución acuosa que contiene a las moléculas o iones del contaminante orgánico, es permitido que proceda un tiempo suficiente de contacto para que la biomasa capte estas moléculas y llegue a un equilibrio y luego la biomasa es separada de la fase líquida, es regenerada mediante la separación del contaminante o eliminada de una manera ambientalmente aceptada (Zümriye, 2005).

Con el fin de contribuir a la solución del problema de contaminación por plaguicidas en la región del Valle del Yaqui, en estudios realizados con anterioridad (Carrillo-Pérez, 2004) se aisló un cultivo mixto bacteriano el cual tuvo la capacidad para degradar aproximadamente el 50 % del DDT presente en el medio inoculado. El DDT restante se encontró adherido al paquete celular, por lo que se pretende con este trabajo complementar el estudio mediante la evaluación del fenómeno de biosorción, determinando la capacidad de biosorción de DDT que tiene la biomasa inactiva proveniente de cultivo mixto bacteriano degradador de DDT, mediante la obtención de la isoterma y la cinética de adsorción.

## **1.2 Objetivo General**

Evaluar el fenómeno de biosorción de DDT, como una alternativa de separación, en un cultivo mixto bacteriano conformado principalmente por bacilos Gram negativos presumiblemente identificados como *Pseudomona fluorescens*, *Pseudomona putrefaciens*, *Neisseria flavescens*, *Acinetobacter calcoacéticus*, *Moraxella bovis* así como bacilos Gram positivos no identificados.

### **1.2.1 Objetivos Específicos**

- Desarrollar una metodología para la obtención de muestras homogéneas de biomasa metabólicamente inactiva de un cultivo mixto bacteriano.
- Implementar el sistema experimental para estudiar la biosorción.
- Realizar estudios de la cinética de biosorción de DDT en la biomasa
- Obtener la isoterma de biosorción a partir de los datos obtenidos de la experimentación.

## CAPÍTULO 2

### REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

#### 2.1 Contaminación Ambiental por Plaguicidas

El desarrollo de las sociedades contemporáneas se ha acelerado a partir de la última mitad del siglo XX, provocando problemas de contaminación, ocasionados principalmente por el uso de compuestos químicos sintéticos caracterizados como xenobióticos, cuya producción en los países industrializados llega a ser equivalente a alrededor del 15 % de la producción de biomasa neta (Egli, 1974). Sin embargo, gran parte de estos compuestos químicos entran directa o indirectamente al ambiente, generando contaminación, razón por la cual en las últimas décadas se han enfocado esfuerzos a la solución de esta problemática (Ortega y col, 1994; Bandala, 1998).

Originalmente se trató de resolver el problema de la contaminación diluyendo o movilizándolo los contaminantes del sitio contaminado, en muchos casos, relocalizando el problema y aún agudizándolo por la formación de derivados tóxicos de los mismos. Esto propició el depósito de tóxicos en los cuerpos de agua superficiales y subterráneos, suelos y aire a partir de los cuales alcanzan los sistemas biológicos, impactando severamente el ecosistema (Alexander, 1994; Richins y col., 1997).

Los compuestos xenobióticos han sido de gran utilidad como plaguicidas, contribuyendo al incremento de la productividad agrícola a nivel mundial (Derache, 1990). Sin embargo, el uso generalizado y la introducción de agroquímicos a países en desarrollo, ha propiciado un uso inadecuado de ellos, así como el desarrollo de plagas resistentes y con esto su excesiva aplicación, generando contaminación en los ecosistemas (Ortega y col., 1994).

### 2.1.1 Propiedades de los Plaguicidas

Se denomina plaguicida a toda sustancia química natural o sintetizada, utilizada en agricultura para controlar los diversos organismos perjudiciales, como pueden ser todo animal a planta (virus, bacterias, setas, hierbas, gusanos, moluscos, insectos, roedores y mamíferos) (Ware, 1998).

Los plaguicidas son utilizados principalmente para combatir a las plagas que atacan los cultivos agrícolas y para controlar los vectores de enfermedades humanas transmisibles como la malaria, fiebre amarilla, enfermedad de chagas, tifo, paludismo, dengue, entre otras (Ortiz-Hernández y col., 1997; INEGI, 1995).

Los plaguicidas se clasifican en una gran variedad de formas: según los organismos que controlan, su concentración, su modo de acción, su composición química, según las presentaciones de sus fórmulas comerciales y según el uso al que se destinan. Sin embargo, es conveniente recordar que por definición todo plaguicida es una sustancia tóxica, diseñada para interferir o modificar mecanismos fisiológicos fundamentales de los insectos, pero que también son compartidos por otros animales, incluido el ser humano, y que en determinadas circunstancias puede ocasionarle la muerte (OMS, 1992; UNEP, 1987; OPS/OMS, 1993). El esquema cualitativo del uso de plaguicidas se ha modificado sustancialmente desde la Segunda Guerra Mundial. En un inicio, los insecticidas organoclorados tuvieron preferencia; más tarde fueron reemplazados por los organofosforados y los carbamatos, junto con los piretroides. Tales modificaciones y el interés otorgado a estas sustancias se deben a que los plaguicidas han sido un factor importante en el incremento de la productividad agrícola en muchas partes del mundo (OPS, 2002; OPS/OMS, 2001; PNUD, 2000; OMS, 1992).

De las más de 70 mil sustancias químicas que se encuentran en el mercado, los plaguicidas sintéticos han ocupado un lugar destacado desde 1940 como la principal estrategia para el control de las plagas. La producción mundial de plaguicidas se duplicó de 1970 a 1985 y las ventas, que en 1970 fueron de 2,700 millones de dólares (mdd), alcanzaron al final del

siglo los 40 mil mdd anuales en el mundo. Para esta época se vendieron aproximadamente 2,800 millones de kilogramos de 900 ingredientes activos, y más de 50 mil formulaciones comerciales. De ese total, el porcentaje utilizado en países menos industrializados ha ascendido en las últimas tres décadas del 20% a cerca del 40%. Más de mil compuestos químicos, agentes biológicos y agentes físicos, marcados como formulaciones compuestas o nombres comerciales, son usados en todo el mundo como insecticidas, fungicidas, herbicidas, rodenticidas y antimicrobianos (OPS/OMS, 1993; PNUMA/OMS, 1992; Hayes, 1982; WHO/UNEP, 1990).

En 1980 el consumo de plaguicidas en México, fue de 2.8 millones de toneladas, y en 1990 de 3.8 millones de toneladas, lo que representó un incremento de 34.5%. De este consumo, en promedio, 80% se destina a cubrir las demandas del ciclo agrícola primavera-verano y el 20% restante al ciclo otoño-invierno (Ortega y col., 1994). De manera similar, el uso excesivo de plaguicidas en la agricultura y en el sector pecuario, la recolección de los productos sin esperar el intervalo de seguridad, la contaminación durante el almacenamiento, el transporte, el expendio o la preparación de los alimentos, el ordeño y sacrificio del ganado sin cumplir con el tiempo mínimo recomendado desde la última aplicación, son factores que ocasionan una elevada contaminación con residuos de plaguicidas de los alimentos de origen vegetal y animal, lo cual puede repercutir de alguna manera en la salud de las poblaciones (WHO/UNEP, 1990; Reigart y Roberts, 1999).

Debido a la resistencia desarrollada por algunas plagas por el uso constante de los plaguicidas, cada vez se necesitan aplicar mayores cantidades de plaguicidas para mantener los rendimientos promedio en cada cultivo (INEGI, 1995). Lo anterior ha ocasionado a menudo enormes pérdidas económicas, derivadas del rechazo por parte de las naciones desarrolladas a las exportaciones de alimentos que hacen los países en vías de desarrollo. Con frecuencia estos alimentos son rechazados por no cumplir con las normas sanitarias de comercio internacional en cuanto a contenido de residuos de ciertos plaguicidas, muchos de los cuales han sido paradójicamente cancelados o restringidos por los mismos países desarrollados, pero exportados a los países en desarrollo (Reigart y Roberts, 1999; Wayland y Laws, 1991).

### 2.1.2 Plaguicidas Organoclorados: DDT

Los pesticidas organoclorados son compuestos orgánicos que incluyen en su molécula uno a más átomos de cloro, los cuales empezaron a ser utilizados como plaguicidas a partir de la década de 1940. Son compuestos por lo general hidrofóbicos, que tienden a acumularse en los tejidos grasos y debido a su persistencia han sido asociados a fenómenos de biomagnificación de contaminantes a través de la cadena alimenticia, alcanzando de esa manera niveles de toxicidad. El 1,1,1-tricloro-2,2-bis(p-clorofenil) etano (DDT) es el insecticida organoclorado mejor conocido y más ampliamente discutido, cuyo principal uso actual es el control del paludismo a través del exterminio de los mosquitos vectores. En el pasado reciente también se empleaba en cultivos tan populares como el algodón; pero ahora, en este uso ha sido sustituido por insecticidas menos persistentes. La síntesis química del DDT se logró a finales del siglo pasado en 1874 por Paul Hermann Müller; sin embargo, no fue sino hasta la segunda guerra mundial cuando se generalizó su uso como insecticida, en este caso, para el combate contra el tifo y el paludismo. Poco después, su aplicación se amplió al campo agrícola y ya para la década de los 60's, el 80 % de la producción de DDT era empleada en el cultivo del algodón. Debido a sus características fisicoquímicas, el DDT puede transportarse por grandes distancias y ello ha originado su distribución global. Se ha encontrado DDT y sus metabolitos DDD y DDE aún en lugares donde el insecticida no ha sido aplicado, tal y como ocurre en el Ártico (Ritter y col., 1995).

Su alta solubilidad en grasas y estabilidad a la fotooxidación, hacen de éste un insecticida altamente persistente. La molécula del DDT es de baja reactividad dado que su estructura química está formada por dos anillos bencénicos unidos a una molécula de tricloroetano; a su vez, cada anillo benceno tiene unido un átomo de cloro en posición *para* y esto hace que tienda a acumularse, así como a biomagnificarse en la cadena alimenticia (Quraishi, 1977). El grado técnico del DDT en realidad es una mezcla de tres isómeros de DDT, el principal es el p,p'-DDT (85%), y los isómeros o,p'-DDT y o,o'-DDT se presentan en cantidades mucho menores. El DDT fue prohibido en Suecia durante 1970 y en los Estados Unidos

durante 1972; no obstante, en México desafortunadamente aún se comercializa (ATSDR, 1994).

## **2.2 Comportamiento Ambiental del DDT**

### **2.2.1 Suelos**

El DDT se identifica como un insecticida de alta persistencia (vida media mayor a 100 días) (HSDB, 1999); y por ejemplo, en algunos bosques su vida media llega a ser de 20 a 30 años (Aigner y col., 1998). La Agencia para las Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR) califica la afinidad de las sustancias por el suelo de acuerdo al parámetro Koc (coeficiente de adsorción). En esta calificación las sustancias con un Koc superior a 100 mil son las que se adsorben con mayor fuerza al suelo (ATSDR, 1992). El DDT tiene un Koc de 240 mil, el DDD lo tiene de 780 mil y el DDE supera a los tres con un Koc que es cinco veces superior al del DDD. Debido a su alta persistencia y en consecuencia directa de su biodegradación y afinidad por el suelo, es normal que en suelos tratados con el DDT, la concentración de éste vaya disminuyendo al tiempo de que la concentración de los metabolitos va incrementándose, sobre todo el DDE (ATSDR, 1994).

Se han descrito algunos suelos que son particularmente resistentes a la degradación del DDT y en ellos, el cociente DDE/DDT es menor de lo normal (ATSDR, 1994). Otro factor relacionado con la degradación es la fotólisis, pero este es un factor limitado a la superficie del suelo y en condiciones reales su importancia puede disminuir por la interacción que se establece entre el insecticida y las moléculas del suelo. Se ha postulado que el DDE podría formarse a partir de la fotooxidación del DDT (HSDB, 1999). En los plaguicidas persistentes, la luz solar tendría el tiempo suficiente para actuar sobre las moléculas que estuvieran presentes en la superficie. En cuanto a la volatilidad, la ATSDR ha categorizado a los compuestos volátiles en relación al valor de la Ley de Henry (ATSDR, 1992). De acuerdo a ello, el DDT y sus metabolitos serían compuestos de volatilidad moderada o semivolátiles. El DDT puede bajar su concentración en suelo por volatilidad. Por ejemplo, el DDT se volatiliza de los suelos con una vida media de 100 días (ATSDR, 1994). Sin

embargo, para el caso particular del DDT, hay que considerar que el DDD es cinco veces menos volátil que el DDT, en tanto el DDE es hasta ocho veces más volátil que el DDT (ATSDR, 1994; Suntio y col., 1988). La volatilidad se incrementa con el aumento de temperatura (ATSDR, 1994). Con el paso del tiempo, y debido a su mayor volatilidad, la concentración del DDE en suelo tendería a ser menor que el DDT y entonces el cociente DDE/DDT sería menor que la unidad. Ello podría llevar a la falsa suposición de que el DDT se encuentra en mayores proporciones como resultado de una aplicación reciente.

La biodegradación del DDT recientemente ha recibido la atención de diversos estudiosos. Así, se ha reportado que en suelos inundados el DDT se transforma a DDD, con una degradación de 31 días en suelos de rico contenido orgánico. De hecho, el reporte demuestra que la cinética de degradación en este ambiente anaeróbico se incrementa con el contenido orgánico. Asimismo, el estudio prueba que la degradación aeróbica es mucho más lenta. El ambiente anaeróbico reduciría el potencial oxido-reductor del suelo, que activaría a las bacterias anaeróbicas presentes en el medio, en tanto el mayor contenido orgánico facilitaría la actividad de dichas bacterias al actuar como receptores de los electrones o hidrógenos que resultarían de la función bacteriana (Castro y col., 1971). Es más, en condiciones anaeróbicas el incremento de DDD en el suelo aumenta el contenido bacteriano del suelo, aunque es capaz de inhibir enzimas tan importantes como la deshidrogenasa (Mitra y col., 1998).

### 2.2.2 Aire

Debido a que tanto el DDT como sus principales metabolitos tienen un valor de la constante de la ley de Henry de  $1.3 \times 10^{-5} \text{ atm}\cdot\text{m}^3/\text{mol}$ , pueden considerarse compuestos semivolátiles. Por consiguiente, tienen la capacidad de transportarse por aire, tanto en la fase gaseosa como adsorbidos a partículas atmosféricas (ATSDR, 1994). En el aire, el DDT puede sufrir la fotólisis (degradación por la acción de la luz) y la fotodegradación (por interacción con radicales hidroxilo). A pesar de que en condiciones de laboratorio, ambos fenómenos son muy rápidos (por ejemplo, la fotodegradación tiene una vida media de dos



días), en la realidad, los procesos deben ser más lentos, ya que el aire participa en el transporte del DDT a grandes distancias.

Una de las razones por las cuales la degradación atmosférica del DDT no se da con rapidez es por su remoción, fuese por precipitación húmeda o seca (HSDB, 1999). El DDT depositado en el suelo o en el agua se volatilizaría y en la atmósfera, el insecticida adherido a partículas o en la fase gaseosa, se movería con las corrientes de aire, hasta ser depositado de nueva cuenta al suelo o a los cuerpos de agua, por la acción de la lluvia o por el peso de las partículas. Se ha demostrado que para algunos plaguicidas, las concentraciones en el aire son inversamente proporcionales a la altura, registrándose la mayor concentración en los primeros 50 m. No obstante, el DDT se ha registrado a concentraciones tan altas como 800 m (Watanabe, 1998). A solo tres años de la suspensión de su uso, los niveles en aire del DDT en zonas agrícolas tratadas ya había caído en un 92% (ATSDR, 1994).

### **2.2.3 Agua**

Los siguientes serían los factores que mas influyen en la desaparición del DDT y de sus metabolitos de los cuerpos de agua. *Sedimentación*. Una vez que el DDT hubo arribado a los cuerpos de agua, lo primero que debe tomarse en cuenta es su baja solubilidad en este medio. Por ejemplo, el DDT tiene una solubilidad en agua de 3.4 ppb; el DDD de 160 ppb; y el DDE de 120 ppb (ATSDR, 1994). Por consiguiente, uno de los primeros fenómenos que ocurren es la sedimentación del insecticida. Dicho fenómeno además, se facilita por su afinidad con las partículas de suelo. La sedimentación es entonces el principal mecanismo de amortiguación de los cuerpos de agua. *Hidrólisis*. No existen evidencias de que bajo condiciones normales, la hidrólisis sea un fenómeno determinante. *Fotólisis*. La fotólisis del DDT en soluciones acuosas es muy lenta, no obstante, existen sustancias que incrementan su cinética, hasta alcanzar una vida media de horas o a lo máximo, hasta seis días. Este fenómeno sería característico de la superficie. *Volatilidad*. En cuanto a la volatilidad, experimentos de laboratorio han mostrado que en doce días se pierde hasta un 50% del DDT, pero este porcentaje se redujo a cero cuando a la muestra de agua se le adicionó una muestra de sedimento. La vida media de volatilidad se ha estimado en 45

horas a 1 m de profundidad (HSDB, 1999). *Biodegradación*. La biodegradación en condiciones anaeróbicas puede ser muy importante. Por ejemplo, en muestras de lagos con alto contenido de plancton, un 95% del DDT sufrió transformación, en tanto, en muestras de río no ocurrió degradación alguna en dos meses (HSDB, 1999; Eichelberger y col., 1971). Ahora bien, debe recordarse que la degradación no necesariamente significa detoxificación. En el caso de la degradación anaeróbica, el metabolito mayoritario es el DDD, que también es tóxico. El DDD, a su vez, puede ser degradado a metabolitos menos tóxicos. Una prueba de la importancia de la degradación es un experimento que demostró un 50% de reducción del DDT en muestras de agua colectadas de una bahía, en tanto no se observó disminución alguna en muestras de agua estéril (HSDB, 1999). La vida media del DDT en agua de lago es de 56 días (Exttoxnet, 1999). No es de esperarse la contaminación de los acuíferos por la alta afinidad de DDT a partículas desuelo.

#### **2.2.4 Sedimentos**

Los siguientes factores disminuyen la concentración del DDT y de sus metabolitos en los sedimentos.

*Transporte*. Se ha demostrado que el DDT y sus metabolitos son capaces de moverse de un sitio a otro por la acción de las corrientes. El fenómeno de transporte de sedimentos causa que las moléculas de DDT se distribuyan a toda una región desde un punto de máxima contaminación. Aunado a lo anterior, el transporte desde los sedimentos hasta los cuerpos de agua se realiza mediante dos mecanismos: la difusión (desorción) y la suspensión de partículas. Debe recordarse que el DDT soluble o en partículas pequeñas está más biodisponible. En las profundidades, la concentración de DDT soluble es semejante a la concentración de DDT adherido a las partículas, pero en la superficie, la cantidad de DDT soluble es mayor a la del DDT particulado (Zeng y col., 1999). *Biodegradación*. En condiciones de inundación, la degradación del DDT en suelos se incrementa de manera importante. Por lo tanto, se supone que la degradación del DDT en sedimentos es un fenómeno de suma importancia y además, ésta sería una degradación anaeróbica, cuyo

resultado sería sobre todo, la formación del DDD (ATSDR, 1994). El DDD sigue una ruta adicional de degradación, en tanto el DDE es más resistente (HSDB, 1999).

Otro factor que afectaría la cinética de degradación es la adsorción. Se ha demostrado con otros compuestos organoclorados, que la biodegradación disminuye de acuerdo a la capacidad de adsorción de los insecticidas a las partículas de sedimento (Prytula y col., 1996). *Dilución*. Se ha demostrado que los suelos acarreados por las corrientes son capaces de diluir las concentraciones de DDE presentes en los sedimentos, pero al mismo tiempo, se incrementan las concentraciones del DDD (Barber y col., 1988).

### **2.2.5 Bioacumulación**

La bioacumulación puede ser definida como un aumento en la concentración de un químico en un organismo a través del tiempo, comparada con la concentración del mismo químico en el ambiente (Exttoxnet, 1993). Este fenómeno se da como resultado de un almacenamiento más rápido que la degradación.

Algunos autores refieren bajo el término de bioconcentración al incremento del químico en un organismo sobre la cantidad del químico presente en forma disuelta en aire o agua (Exttoxnet, 1993; Fisher, 1995). En todo caso bajo el concepto de bioacumulación se incluye el de bioconcentración.

Por su parte, la biomagnificación es la acumulación del químico a concentraciones mayores en un organismo que en su fuente alimenticia. El término describe el incremento de la concentración de los químicos a través de diversas transferencias tróficas. Así por ejemplo, en un sitio las concentraciones de DDT alcanzaron: en suelo 100 mg/kg, en gusano de tierra 141 mg/kg y en un petirrojo 444 mg/kg (Exttoxnet, 1993).

### 2.2.6 Biota

Otro aspecto que tiene que ver con la bioacumulación, por supuesto que es la exposición. En las zonas palúdicas de México, los peces de las zonas costeras tuvieron las mayores concentraciones de DDT y de sus metabolitos (Albert, 1996). Entre los factores que afectan la bioacumulación, está la capacidad de adsorción del DDT en las partículas suspendidas, y quizá ello sea una explicación de que distintos autores hayan calculado diferentes valores de factores de bioconcentración en organismos de la misma especie en diferentes áreas de estudio (HSDB, 1999). No obstante, para los organismos que viven en las profundidades, se ha demostrado que las partículas sedimentadas son una fuente importante de organoclorados (Kucklick y col., 1998).

Por otra parte, también deben tomarse en cuenta los resultados obtenidos en plantas. Se sabe que a pesar de la alta afinidad del DDT por el suelo, el insecticida y sus metabolitos son biodisponibles para las plantas. Así, el arroz y el maíz pueden absorber DDT, aunque la mayor proporción queda en las raíces (ATSDR, 1994). En tanto en hierbas de estanques, el factor de bioacumulación de DDT puede llegar a valores tan altos como 6360 (HSDB, 1999). Con respecto a los isómeros, no es raro que las concentraciones de DDT sean superiores a las de DDE en suelo superficial. Lo anterior, como resultante de la mayor volatilidad del DDE (la presión de vapor del metabolito es ocho veces mayor a la del DDT). Así como la volatilidad solamente se da en la primera superficie del suelo, la fotodegradación también es particular a los primeros 0.15 mm de suelo. Ello implica que terminada la exposición, y con el paso del tiempo, habría más concentración de contaminantes después del medio centímetro de suelo, que en la superficie del mismo. Por otra parte, esta misma volatilidad del DDE, ocasiona su asociación a pastos y ello origina una mayor concentración de DDE en leche de vaca. Pero además, del pasto, la sola presencia del DDT en suelo ya es un riesgo para el ganado. Las vacas ingieren un promedio de suelo de 900 g/día, en tanto los borregos ingieren 45 g/día. Es claro que estos valores pueden disminuir si el ganado es alimentado artificialmente. La asociación con los pastos no es única, se ha demostrado que los compuestos semivolátiles, como el DDT y sus metabolitos, pueden acumularse en la superficie cerosa de la cutícula de las hojas (Fries,

1995). Aprovechando esta característica, recientemente se ha utilizado la concentración de contaminantes en las hojas en espina de los pinos para el monitoreo ambiental del DDT y sus metabolitos (Eriksson y col., 1989; Jensen y col., 1992; Strachan y col., 1994.)

La bioacumulación en plantas por medio de las raíces depende de la concentración del contaminante en el suelo, de la capacidad de movimiento de este contaminante a través del suelo y de la cinética de desaparición.

### **2.2.7 Vidrio**

La determinación de la distribución de contaminantes en ambientes acuosos, involucra su medida de su concentración, en una variedad de matrices complejas, incluyendo sedimentos y sólidos suspendidos. Esto es particularmente importante para compuestos lipofílicos, como el de los plaguicidas del grupo organoclorado y los nuevos plaguicidas de piretroides sintéticos, siendo los últimos tóxicos para algunos invertebrados a concentraciones menores a 0.01 ppb (Hill, 1985). La estimación de estos compuestos, presenta retos no solo en la extracción y en la separación, sino en el manejo de muestras acuosas antes de la extracción. Esto incluye problemas de pérdidas de los plaguicidas causados por la sorción en los recipientes contenedores y las membranas de filtración, utilizados para separar sólidos suspendidos y sedimentos de las soluciones asociadas.

En estudios de desorción, utilizando sedimento contaminado, la separación del sedimento o sólidos suspendidos de la solución asociada es una etapa crucial en la determinación de la distribución del plaguicida, particularmente cuando es deseable cuantificar un compuesto en la solución así como el sorbato en el sedimento, por análisis independientes. La separación puede involucrar una combinación de técnicas de filtración y centrifugación, pero en cualquiera de los dos es imposible lograrlo completamente.

Fueron presentados resultados de plaguicidas como porcentajes del dosificado total contenidos en recipientes de vidrio, siendo 73.7% de DDT en el sobrenadante sin filtrar y 64.9% del mismo en el sobrenadante filtrado.

Una comparación de la repartición de los plaguicidas entre la solución y la superficie del contenedor, mostró que la mayoría de ellos (DDT, TDE, DDE y piretroides) fueron recuperados de la superficie del contenedor y bajas concentraciones fueron cuantificadas en el sobrenadante (House y col, 1992).

### **2.3 Toxicidad del DDT en Humanos**

Si bien el propósito del uso de plaguicidas es matar organismos no deseados, aquellos que dañan cultivos y transmiten enfermedades a los animales y al ser humano, otros seres vivos, incluyendo el ser humano, tienen funciones fisiológicas o bioquímicas similares a las de especies que interesa eliminar y son susceptibles, por lo tanto, en diversos grados, a los efectos tóxicos de los plaguicidas. Teniendo en cuenta los millones de kilogramos de ingredientes activos que anualmente son usados, su toxicidad aguda, subaguda y a largo plazo, la forma como se producen, transportan, almacenan y aplican, estas sustancias se han convertido en un gran problema de salud pública (Ortega y col., 1994; Reigart y Roberts, 1999; Wayland y Laws, 1991).

Las deficiencias en las estadísticas de salud representan un problema importante para el control de los riesgos por la exposición a plaguicidas. En los países en desarrollo, que son menos estrictos en materia de registro, permiso de uso y niveles de tolerancia, las estadísticas sobre intoxicaciones agudas y crónicas son más deficientes. Las cifras hasta ahora informadas por organismos nacionales e internacionales para los países de América Latina, además de no estar actualizadas, presentan un subregistro importante, debido en buena parte a que los países que proporcionan la información base padecen de deficiencia en sus sistemas de diagnóstico de casos, así como de registro y captura de la información (UNEP, 1987; PNUMA/OMS, 1992; WHO/UNEP, 1990).

Es conveniente mencionar, además, que los niveles de morbi-mortalidad por intoxicaciones que se presentan en una comunidad no son sólo el reflejo de una relación simple entre el agente y la persona expuesta. Esos niveles reflejan, además, el efecto y la interacción de numerosos factores, tales como el tiempo de exposición, susceptibilidad de los individuos,

estado nutricional de la población afectada, condiciones de la exposición y factores educacionales, culturales, sociales y económicos (Hayes, 1982; WHO/UNEP, 1990).

Los riesgos, particularmente los de tipo crónico, por la exposición a plaguicidas dependen de las medidas de protección que se adopten durante su aplicación y del tipo de plaguicida de que se trate. Existen varias formas de clasificar a los plaguicidas, de acuerdo con su uso y tipo de organismo que afecta (insecticidas, acaricidas, funguicidas y herbicidas); modo de acción (contacto, ingestión, fumigante, sistémicos); por su naturaleza química (inorgánicos y orgánicos); por su composición química, etcétera. Considerando esta última, que ha sido la empleada con mayor frecuencia para evaluar los efectos a la salud, puede hablarse de plaguicidas organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretroides fumigantes y otros (Hayes, 1982; WHO/UNEP, 1990).

Los compuestos organoclorados, tales como DDT, aldrín, dieldrín, toxafeno y endrín, fueron los primeros insecticidas comercializados. Sin embargo, el uso de algunas de estas sustancias ya no está autorizado. En lugar del DDT, que fue muy empleado en nuestro país en las campañas contra el paludismo y la malaria, desde 1999 se emplea el deltametrín, que es menos tóxico. De manera similar, otros organoclorados como el heptacloro, endrín clordano, han sido prohibidos por razones sanitarias o ambientales, no obstante, en México desafortunadamente aún se comercializan (WHO/UNEP, 1990; Ortega-Ceseña y col., 1994; Reigart y Roberts, 1999; Wayland y Laws, 1991; Yáñez y col., 2002; Schinas y col., 2000).

Estos plaguicidas se absorben por la piel y los aparatos digestivo y respiratorio; el mayor riesgo se deriva de la absorción cutánea. La intoxicación aguda rara vez se presenta por exposición durante periodos cortos, pero por su gran solubilidad en las grasas se acumula, como ya se mencionó, en los tejidos grasos, incluyendo el componente graso de la leche materna, por lo que constituye un serio problema para la salud por acumulación (WHO/UNEP, 1990; Reigart y Roberts, 1999; Romero y col., 2000).

En conjunto, las sustancias organocloradas tienen una toxicidad aguda relativamente baja (exceptuando el aldrín y endrín). No obstante, se ha observado que alteran el metabolismo,

así como la acumulación y excrecencia de medicamentos, minerales, vitaminas y hormonas. En las madres que están amamantando, se ha comprobado que el DDT reduce las reservas de vitamina A. Los síntomas de sobreexposición son más comunes después de la ingestión; se incluyen la hiperexcitabilidad, temblores y convulsiones en casos extremos (WHO/UNEP, 1990; Ortega-Ceseña y col., 1994; Reigart y Roberts, 1999; Wayland y Laws, 1991; Yáñez y col., 2002).

Se ha comprobado que varios insecticidas organoclorados inhiben la comunicación intercelular y actúan como promotores de tumores. En varios estudios epidemiológicos de grupos ocupacionalmente expuestos, principalmente a los insecticidas, se ha observado un exceso, reducido pero uniforme, de casos de cáncer del pulmón (menos del doble entre trabajadores con exposición probable a insecticidas organoclorados) (Wigle y col., 1990; Fleming y col., 1999; Burkhardt y Burkhardt, 2000).

Otros tipos de cáncer menos comunes, como el de la vejiga, de cerebro y de los sistemas linfáticos y hematopoyético, han aumentado de manera menos uniforme en estas cohortes. Estudios de casos y controles relacionados con sarcomas de tejidos blandos, leucemia y linfomas han revelado un incremento en el riesgo de padecerlos entre agricultores y trabajadores forestales expuestos a insecticidas organoclorados, particularmente DDT, clordano y lindano. En exploraciones biológicas con animales, se han obtenido resultados positivos en relación con el DDT y el clordano, pero ambos han resultado negativos a la prueba de Ames en *salmonella* (Wigle y col., 1990; Fleming y col., 1999; Burkhardt y Burkhardt, 2000).

Asimismo, una inquietud durante las últimas dos décadas entre los investigadores del área fue la evaluación de la posible relación entre la exposición a plaguicidas organoclorados, particularmente DDT, y la ocurrencia de cáncer de mama; sin embargo, los diversos estudios epidemiológicos realizados no han dado soporte para concluir que pudiera existir tal relación (Calle y col., 2002).



## 2.4 Contaminación del Valle del Yaqui con Plaguicidas

El Valle del Yaqui localizado en el Noroeste de México, es una región agrícola que en los últimos años ha experimentado un importante crecimiento económico, siendo una de las zonas más desarrolladas en materia agrícola, como resultado de la tecnificación de las actividades del campo (Cámara, 1993). Esta región tiene una población de 311,443 habitantes, los cuales cuentan con 1600 millones de m<sup>3</sup>/año de agua superficial proveniente del Río Yaqui y almacenada en 3 presas y de 340 millones de m<sup>3</sup>/año de aguas subterráneas extraídas del acuífero por 350 pozos. El 95% de este recurso es utilizado para la irrigación de 360,000 hectáreas de tierras cultivables y para el abastecimiento de agua potable a la población (González y Col.1997).

La alta productividad agrícola se debe en gran parte al uso intensivo de agroquímicos, cuya aplicación en los cultivos para darles protección contra las plagas y enfermedades ha implicado el uso y abuso de los plaguicidas, sin tomar en cuenta el riesgo que presentan para el ecosistema, para el agua subterránea que es utilizada como fuente de abastecimiento de agua potable y para la población (González y Canales, 1995).

Las actividades agrícolas así como la constante aplicación de plaguicidas y fertilizantes en los campos de cultivo ha sido ampliamente reconocida como fuente de contaminación de las aguas superficiales y subterráneas (Cámara, 1992). González y col. (1997) reportan que la carga de contaminación por fertilizantes y plaguicidas usados fue de 233 m<sup>3</sup>/día y la cantidad de plaguicidas aplicados en el área fue estimada en cerca de 0.92 L/hectárea a una tasa de 0.3 m<sup>3</sup>/día. La concentración de plaguicidas es mayor durante los meses de diciembre a marzo ya que es el período de máxima superficie cultivada.

Tanto a nivel mundial como regional se ha venido detectando un incremento progresivo en las concentraciones de plaguicidas principalmente en los suministros de agua potable y subterránea, en las más importantes regiones agrícolas como es en este caso el Valle del Yaqui, en donde en los últimos años se han realizado estudios de monitoreos para

evaluar la contaminación por agroquímicos en los pozos que extraen agua subterránea y freática (Cámara, 1992).

González (1995), realizó estudios de monitoreo en 8 pozos de agua subterránea en el Valle del Yaqui, para evaluar la contaminación por plaguicidas, en los que detectó Lindano (HCH), Dieldrín y Endrín con sus isómeros respectivos en 6 pozos que suministran agua potable de comunidades rurales. La mayoría de los plaguicidas detectados en estos pozos son organoclorados y presentan concentraciones que rebasan las normas mexicanas de la calidad del agua para consumo humano.

Cámara (1992), reporta estudios sobre detección de plaguicidas realizados en los principales drenes colectores de aguas residuales del Valle del Yaqui, producto de las diferentes actividades económicas que ahí se realizan, como son agrícolas, industriales y domésticas, Tanto en agua como en sedimento, la mayoría de los compuestos detectados fueron organoclorados como metabolitos del lindano ( $\alpha$ -BHC,  $\beta$ -BHC,  $\delta$ -BHC), 4,4-DDE y heptacloro. En la mayoría de los casos, estos compuestos rebasan las normas establecidas; además se detecta una mayor concentración de dichos compuestos en los sedimentos que arrojan estos drenes colectores.

La aplicación de plaguicidas altamente solubles en el agua y las inadecuadas prácticas agrícolas, son algunas de las causas que más contribuyen a la presencia de agroquímicos en los mantos acuíferos del Valle del Yaqui (Cámara, 1992). El uso de estos plaguicidas está prohibido, pero su detección hace suponer que aun se siguen utilizando.

En muestreos de agua del estuario “La Atanasia Santo Domingo” de la misma región, entre los años de 1986 y 1987 se detectaron los plaguicidas Aldrín, DDT, Dieldrín, Endrín y Lindano los cuales sobrepasan los límites establecidos por la Agencia de Protección al Ambiente de los Estados Unidos (USEPA, de sus siglas en inglés). En Los sedimentos, las concentraciones fueron 400 a 14, 000 veces superiores a las obtenidas en agua (Cámara, 1993).

Los anteriores plaguicidas también fueron detectados en leche materna así como en sangre de niños de seis meses de edad, de Pueblo Yaqui, situado en la misma región del Estado de Sonora; sus habitantes están expuestos al esparcimiento aéreo de plaguicidas y un considerable número de mujeres se emplean en las labores agrícolas, los plaguicidas detectados fueron Lindano y Dieldrín mostrando un 100 % de incidencia (García y Meza, 1991).

## **2.5 Remediación de Contaminantes**

Uno de los rasgos característicos de la sociedad moderna es la creciente emisión de productos químicos al medio ambiente. Existen dos fuentes principales para estas emisiones: los productos químicos creados para uso ambiental y el material residual.

En la actualidad se generan una gran cantidad de materiales sintéticos que son difíciles de degradar y/o son tóxicos para el ambiente; además, con el fin de mejorar su rendimiento, los compuestos han sido diseñados específicamente para tener una larga vida útil y no reaccionar con los productos químicos ambientalmente más comunes. Estas características evitan su degradación y aumentan su longevidad ya que son resistentes a las enzimas de la mayoría de los organismos, en especial a los microorganismos del suelo. En algunos casos, por ejemplo en el de los bifenilos policlorados (PCBs, de sus siglas en inglés) estas características han sido responsables, en parte, de su presencia continua en zonas donde su producción y uso se ha detenido (Manacorda y Cuadros, 2005).

Los procesos de fabricación poco eficaces también han dado lugar a escapes accidentales de productos y precursores tóxicos. Así, los materiales residuales emitidos directamente desde fuentes industriales y agrícolas, son causa de contaminación de suelos y aguas de todo el mundo (Manacorda y Cuadros, 2005).

Una estrategia para minimizar la contaminación es disminuir la reactividad y peligrosidad del contaminante y en forma simultánea, reducir su vertido al medio

ambiente. Dado que esto no siempre es posible de llevar a cabo, se han desarrollado técnicas de remediación, que básicamente podemos clasificarlas en:

- *In situ*, donde el tratamiento se realiza en el lugar que se encuentra el residuo contaminante.
- *Ex situ*, donde el tratamiento se realiza en un lugar diferente al lugar en que se encuentra el residuo, dicho lugar no es una planta de tratamiento.
- *En planta*. El tratamiento se realiza en una planta de tratamiento de residuos especiales.

Las dos últimas alternativas son las más costosas, en términos económicos y ambientales.

Una única tecnología no siempre reúne las mejores condiciones para reducir todos los contaminantes presentes en un sitio a remediar, por lo que se suele emplear una secuencia de tecnologías (Manacorda y Cuadros, 2005).

Actualmente, las soluciones viables y permanentes para los problemas de evaluación son bastante limitadas. Si bien existen métodos físicos, químicos y biológicos para el tratamiento de residuos, los dos primeros suelen ser más caros. Durante muchos años, el entierro en vertederos (relleno sanitario) de los residuos peligrosos ha sido un proceso razonablemente rentable. Cabe aclarar que esta metodología no es un método de remediación, pues simplemente traslada problemas de un lugar a otro. Sin embargo, han surgido diferencias en cuanto al criterio para la aplicación de estos métodos, dadas por la presentación de algunas fallas (hoy en día estos sistemas son más seguros) o por la falta de espacios disponibles, agregándole a ello los altos costos, producto del transporte y de la separación de materiales tóxicos. Aunque la incineración soluciona algunos problemas de los vertederos, especialmente el almacenamiento, éste genera otros problemas, como el de emisión de contaminantes al aire. Asimismo, al igual que en los vertederos, al

costo específico de este tipo de tratamiento hay que agregarle el de separación y transporte. Esto nos lleva a que utilicemos algunos procesos naturales de degradación, los procesos de remediación biológica (Manacorda y Cuadros, 2005).

Un factor principal que influye en el alto costo de los métodos de remediación / limpieza es el uso de métodos ineficaces.

Las técnicas de remediación se pueden agrupar en tres grandes categorías: inmovilización y confinamiento, movilización y destrucción. Esta última implica la eliminación del material contaminante empleando un tratamiento *biológico* o *no biológico*. Los tipos de residuos que pueden ser destruidos son los orgánicos; mientras que los inorgánicos no lo son y solo se pueden cambiar de estado de oxidación o de combinación con otras sustancias (Manacorda y Cuadros, 2005).

Las técnicas de remediación biológicas emplean procesos naturales para eliminar las sustancias químicas dañinas del medio ambiente y abarcan dos métodos: la biorremediación y la fitorremediación.

La *biorremediación* consiste en emplear microorganismos y manipular sus actividades metabólicas, para eliminar los contaminantes o al menos convertirlos en especies químicas menos agresivas, minimizando el compromiso ambiental y facilitando la continuidad de los procesos biodegradativos enzimáticos responsables de la acción autodepurativa del ambiente.

La *fitorremediación* consiste en utilizar plantas, sistemas microbianos de las plantas y técnicas agronómicas para contener, inmovilizar, remover, estabilizar y/o degradar compuestos contaminantes del ambiente.

En ocasiones lo más rápido y rentable es utilizar una combinación de técnicas; para ello es necesario evaluar la zona, incluyendo la hidrogeología, la composición del suelo, las

características de la población microbiana, el clima, las características del contaminante, etc. (Manacorda y Cuadros, 2005).

Dado que son muchos los sitios que requieren remediación a altos costos, la USEPA (Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos, de sus siglas en inglés) entre otros organismos internacionales, está promoviendo métodos alternativos de limpieza, más rápidos, más efectivos, con mínima agresividad al medio ambiente y al menor costo que las opciones tradicionales de remediación, tales como excavación y disposición final en un relleno sanitario.

### **2.5.1 Biorremediación**

Los microorganismos autóctonos son los principales degradadores del ecosistema, actividad que existió naturalmente en el ambiente con anterioridad a la disposición de xenobióticos en él, por lo que los procesos de degradación han sido tradicionalmente utilizados con aplicaciones ambientales. Un ejemplo de ello es el tratamiento de barros activados que aprovechan la capacidad degradativa de los microorganismos.

Los microorganismos participantes son principalmente bacterias, hongos nativos (filamentosos y levaduras) y algas. Estos son capaces de degradar una amplia variedad de sustratos orgánicos que además se encuentran presentes en casi todas las superficies materiales. Muchos contaminantes tienen estructuras similares a las presentes en compuestos naturales y es por ello que son fácilmente degradados por los microorganismos del suelo y del agua. Sin embargo, existen otros compuestos con estructuras o sustituyentes más complejos de origen xenobiótico, que son difícilmente catabolizados es decir, son compuestos recalcitrantes, dado que se acumulan y persisten en la naturaleza (Alexander, 1994).

A los microorganismos que viven en el suelo y en las aguas superficiales, subsuperficiales y profundas (lugares donde es aplicable este tipo de tratamiento), les

gusta asimilar ciertas sustancias químicas dañinas como las que se encuentran en derrames de gasolina y petróleo. Cuando esta degradación es total, estas sustancias químicas se convierten en agua y gases inofensivos como el  $\text{CO}_2$  lo que se conoce como mineralización.

Para que los microorganismos puedan eliminar las sustancias químicas dañinas, el suelo y las aguas deben tener la temperatura, los nutrientes y algunas veces, la cantidad de oxígeno apropiados. Esas condiciones permiten que los ellos crezcan y se multipliquen y que consuman más sustancias químicas. Cuando las condiciones no son las adecuadas, los microorganismos crecen muy despacio o mueren. Incluso pueden generar sustancias químicas más dañinas; para que esto no ocurra, se deben controlar las condiciones del sitio. También puede ser necesario agregar población microbiana propagada previamente *in vitro*.

### **2.5.2 Compuestos Biodegradables**

Existen diversas opiniones en relación a si los microorganismos tienen límites en sus capacidades degradativas o si son capaces de degradar cualquier compuesto que el hombre pueda producir. No obstante los microorganismos pueden degradar multitud de compuestos bajo condiciones diferentes. Muchos compuestos sintéticos pueden también modificarse o transformarse mediante el uso de una bacteria, hongo o de algún tipo de población microbiana trabajando en asociación. Estos procesos varían desde la putrefacción de comida hasta la limpieza de derrames de petróleo en las playas costeras. En muchos casos estos procesos son beneficiosos y esenciales. Después de todo, gran parte de los procesos cíclicos necesarios para el mantenimiento del ecosistema, ya sean orgánicos o inorgánicos, son consecuencia de la actividad microbiana. Además de poder modificar o degradar un compuesto, el rendimiento tiene que ser alto (Manacorda y Cuadros, 2005).

Muchos productos químicos xenobióticos son resistentes al ataque microbiano y/o son tóxicos para los microorganismos. Sin embargo, en zonas contaminadas con diversos compuestos xenobióticos se han aislado algunos microorganismos que pueden degradar muchos de ellos con diversa facilidad y velocidad, entre los que encontramos cloruro de etileno, PCBs, gasolina y otros derivados del petróleo, compuestos con 2 y 3 grupos nitro, incluyendo herbicidas nitrogenados y trinitrotolueno, hidrocarburos policlorados, incluyendo: pentaclorofenol, tetracloroetileno, dicloroetileno, cloruro de vinilo, tetracloroetano, creosota y fluoranteno.

## 2.6 Tipos de Biotratamientos

Los diferentes biotratamientos pueden ser agrupados básicamente en:

- 1) Biorremediación *in situ*, la cual consiste en estimular la actividad de la población microbiana degradadora nativa del suelo, por adición y manejo de nutrientes y oxígeno. Se aplica en suelo superficial, insaturado y en agua subsuperficial.
  - a) Biorremediación *natural*: Corre por cuenta de los microorganismos nativos presentes en el suelo y agua, cuyo metabolismo es incentivado fundamentalmente por el aumento de la disponibilidad de O<sub>2</sub> y de sustrato orgánico (contaminante), incrementos que se logran con el manejo mecánico del suelo. También se la denomina bioestimulación y consiste básicamente en el manejo de las condiciones ambientales de manera de controlar factores limitantes del crecimiento microbiano y del metabolismo del contaminante en cuestión. Es necesario un conocimiento profundo de la ecología microbiana (control de variables ambientales). Este proceso suele utilizarse para tratar aeróbicamente, contaminantes presentes en la zona vadosa y en las márgenes de la pluma en donde el oxígeno no constituye un factor limitante.
  - b) Biorremediación con *bioaumentación*: Utiliza el suelo contaminado, trabajado periódicamente mediante técnicas de laboreo y suplementado con agua y nutrientes (si es necesario), constituyendo un sistema aeróbico en un lecho



previamente acondicionado. El suelo así preparado se siembra con determinados microorganismos para incrementar la velocidad natural de degradación de un contaminante. Estos microorganismos pueden ser nativos o pueden ser de otra procedencia (con las capacidades metabólicas deseadas). En ambos casos los microorganismos son multiplicados en laboratorio e inoculados luego en el suelo a tratar. Para mejorar la aireación de la mezcla suelo- residuo se realizan tareas de laboreo (arado y roturado). Para el que proceso sea efectivo, los microorganismos incorporados al ambiente comprometido deben ser capaces de adaptarse a la matriz del suelo, sobrevivir, crecer, multiplicarse y conservar sus capacidades metabólicas.

- 2) El tratamiento en tierra o *Landfarming* es utilizado para el manejo de residuos oleosos y fangos aceitosos provenientes de refinerías. La técnica consiste en dispersar el contaminante a biodegradar sobre la capa arable (15-20 cm superficiales) de un terreno destinado a tal fin. Las recomendaciones y limitaciones son las mismas que las explicadas anteriormente en el método de biorremediación *in situ*.

Se trabaja con ésta técnica para todos los hidrocarburos del petróleo, siendo menos efectiva para petróleos pesados (grandes tanques): <50.000 ppm de hidrocarburos y <2.500 ppm de metales pesados.

- 3) Biorreactores en suspensión. Consiste en biotransformar de manera controlada los compuestos refractarios, es de reciente desarrollo. Por este método se incorpora el suelo a remediar en suspensión acuosa dentro de un reactor cerrado, utilizando como inóculo una población microbiana caracterizada y de probada actividad hidrocarburofítica o bien empleando un consorcio microbiano proveniente del sitio contaminado.

Un biorreactor es un depósito en el que se producen una serie de reacciones biológicas llevadas a cabo por los microorganismos o enzimas que se encuentran dentro del mismo.

Las aguas residuales normalmente contienen algunos contaminantes que deben ser separados o al menos reducidos en su concentración de una forma significativa.

4) Bioventeo. Este tratamiento consiste en la inyección de aire y oxígeno al suelo para estimular la biodegradación aeróbica del contaminante y es aplicable a contaminantes presentes en suelos subsuperficiales y aguas subterráneas, ya sean hidrocarburos de petróleo, acetona, tolueno y naftaleno o mezclas de hidrocarburos aromáticos polinucleares (PAH, de sus siglas en inglés). En algunos casos el aire a presión se inyecta por debajo de la tabla de agua y a medida que va llenando los poros desplaza el agua de la matriz del suelo y con ella los contaminantes. Debe tenerse en cuenta que la volatilización también contribuye a la desaparición del contaminante. Los compuestos que presentan baja presión de vapor difícilmente se volatilicen por lo que su desaparición se le atribuye a la biodegradación incentivada por el bioventeo. El proceso de bioventeo estimula la actividad biológica *in situ* y promueve la biorremediación (Manacorda y Cuadros, 2005).

### **2.6.1 Sorción**

La sorción es la partición de constituyentes químicos entre fases, quiere decir, movimiento de solutos de un solvente o material con esta característica hacia otro material. El solvente no tiene, necesariamente, que ser sólido; un ejemplo de sorción es la disolución de un líquido inmiscible en una fase acuosa. Sin embargo, para lo caso específico de destino de contaminantes peligrosos en subsuperficie, la sorción es principalmente la acumulación de una molécula orgánica en la superficie de la partícula de suelo. Más específicamente, es la partición del contaminante orgánico disuelto (solute) entre el agua (solvente) y la superficie de algún material natural (sorbente) utilizado. Un importante ejemplo es la adherencia de moléculas orgánicas al material húmico que ocurre naturalmente en el suelo (Baptista-Leite, 2002).

Dependiendo del mecanismo mediante el cual ocurre el fenómeno de sorción y de la molécula orgánica, la tasa de adsorción puede ser más rápida, como en la mayor parte de los procesos de adsorción que ocurre en las primeras 48 horas o, puede ser lenta,

dependiendo de la tortuosidad de los caminos para la difusión desde la solución acuosa en el seno del líquido hacia el agua del poro y, entonces, a través de los poros del agregado, hacia la película de agua fijados a los sitios de adsorción de la materia orgánica. En realidad, muchos contaminantes de preocupación ambiental alcanzan equilibrio de días a años, como en el caso de los PCB (Baptista-Leite, 2002).

Cuando la adsorción es un proceso reversible (desorción), el cual ocurre cuando la concentración del soluto disminuye con relación a la concentración del sorbato, la desorción puede llevar un tiempo extremadamente largo, dándole a la geometría de la pluma de contaminantes (forma, dirección, velocidad de desplazamiento y dispersión) una forma alargada con concentración decreciente. Este fenómeno hace inviable el uso de tecnología de remediación del tipo “bombeo y tratamiento”. Después del bombeo, la concentración en el agua subterránea retornará al nivel de equilibrio (Baptista-Leite, 2002).

La capacidad potencial de retención química del sorbente, incluyendo la adsorción, puede ser estimada por la saturación de muestras del sorbente con un líquido contaminante, permitiendo, entonces que la muestra drene. La contaminación retenida es denominada saturación residual o capacidad de retención (Baptista-Leite, 2002).

Las propiedades del solvente son también muy importantes. En este caso, los factores claves que influyen la adsorción son: *el tamaño de la molécula* (generalmente cuanto mayor la molécula, más rápidamente es adsorbida); *hidrofobicidad* donde la adsorción de moléculas orgánicas no iónicas sobre las partículas del sorbente se correlaciona bien con la función inversa del coeficiente de partición octanol-agua; *intercambio molecular* determinado por el pH y la *estructura*, es decir, un isómero puede ser adsorbido más rápido que otro (Baptista-Leite, 2002).

### **2.6.2 Biosorción**

La biosorción es un proceso en donde un material biológico es utilizado para remover (adsorción ó absorción) contaminantes de corrientes de desechos (Juhasz y col., 2001; Juhasz y col., 2000; Juhasz y col., 2003).

Es posible la aplicación de la biosorción para la remoción de plaguicidas donde varios microorganismos, incluyendo bacterias y hongos, son utilizados (Zümriye, 2005).

Una gran parte de los estudios de biosorción son realizados en sistemas intermitentes con una sola especie de compuesto orgánico. Estos procesos son conceptualmente simples; una biomasa microbiana adecuada es puesta en contacto con la solución acuosa que contiene a las moléculas o iones del contaminante orgánico. El proceso de contacto es permitido a que proceda con un tiempo suficiente de contacto para que la biomasa capte estas moléculas y llega a un equilibrio. Luego la biomasa es separada de la fase líquida, y aquella que contiene al contaminante es regenerada o eliminada de una manera ambientalmente aceptable (Zümriye, 2005).

### **2.6.3 Microorganismos Utilizados en Biosorción de Plaguicidas y Mecanismos de Biosorción**

Carillo-Pérez (2004) encontró la presencia de DDT adherido al paquete celular, de bacilos Gram negativos presumiblemente identificados como *Pseudomona fluorescens*, *Pseudomona putrefaciens*, *Neisseria flavescens*, *Acinetobacter calcoacéticus*, *Moraxella bovis* así como bacilos Gram positivos no identificados. Si tal fuera el caso, se estarían presentando en el cultivo dos procesos simultáneos: la biodegradación del DDT disponible en solución y la inmovilización, quizá por biosorción, del resto de DDT en la biomasa. Posteriores estudios podrían clarificar y sugerir la forma de remover una mayor parte del DDT en el sistema. La adsorción de metabolitos a las paredes de los microorganismos ya ha sido señalada como causa de la indisponibilidad del sustrato (Juengst y Alexander, 1976).

Bell y Tsezos (1987) y Tsezos y Bell (1989) estudiaron la biosorción de lindano, diazinon, malatión y 2-clorobifenilo, que son insecticidas organoclorados y organofosforados ampliamente utilizados en células activas e inactivas de lodos activados y *R. arrhizus*. Propusieron que una parte de la respuesta de biosorción observada, puede ser atribuida a la capacidad de biosorción de las paredes celulares de la biomasa microbiana. Además, el proceso de biosorción, en el caso de diazinon y lindano involucra un mecanismo físico exotérmico, en lugar de una reacción química. Ellos encontraron que el coeficiente de partición octanol/agua estaba directamente relacionado a la respuesta de biosorción de estos compuestos orgánicos en biomasa activa e inactiva (Bell y Tsezos, 1987; Tsezos y Bell, 1989).

Ju y col. (1997) investigaron la biosorción de lindano, un pesticida organoclorado en bacterias secas Gram-negativas (*E. coli*, *Zooglea ramigera*) y bacterias Gram-positivas (*Bacillus megaterium*, *B. subtilis*). Ellos propusieron que las interacciones hidrofóbicas y las fuerzas de Van der Waals están involucradas en la biosorción del lindano. Encontraron que entre las cuatro bacterias, *Z. ramigera* demostró la máxima capacidad de respuesta.

Young y Banks (1998) utilizaron una suspensión celular no viable del hongo *R. oryzae* tratada con calor, para la remoción de bajas concentraciones de lindano de soluciones acuosas en un sistema por lotes. Los resultados indicaron que los mecanismos de adsorción fueron por unión física de la molécula de lindano cargada negativamente hacia la pared de la célula fungal, con iones hidrógeno actuando como los puentes del ligando (Young E. y col., 1998).

Lièvremont y col. (1998), reportaron la remoción de pentacloronitrobenceno (PCNB) de una fase acuosa por micelio fungal inactivo de *Mucor racemosus*, *R. arrhizus* y *Sporothrix cyanescens* y la compararon con la sorción de paredes celulares aisladas de estas tres cepas. Propusieron que la biosorción involucra tanto a la respuesta de la pared celular y a otros compuestos celulares. El tamaño de las células, morfología y

composición química, así como los sitios activos de adsorción y su distribución, pueden desempeñar un papel importante en la capacidad de respuesta. La sorción del adsorbato también es dependiente del tamaño molecular y reactividad, así como de la movilidad en la fase de solución (Lièvremont y col., 1998).

Benoit y col., (1998) y col. investigaron las características de biosorción del herbicida, ácido 2, 4-diclorofenoxiacético (2, 4-D) en el micelio fungal *E. nidulans* aislado de paja de trigo abonada, secado por congelación. Observaron una más baja adsorción de 2, 4-D ( $2.1 \text{ mg g}^{-1}$  a una concentración inicial de  $221 \text{ mg L}^{-1}$  de 2, 4-D) debido a la carga negativa debida a la disociación del grupo carboxílico y debido a los efectos de la repulsión electrostática a un pH de 6.0 (Benoit y col., 1998).

Hong y col. (2000) estudió la biosorción de 1, 2, 3, 4-tetracloruro di-benzo-p-dioxina (1,2,3,4-TCDD) y algunos plaguicidas dibenzofuranos policlorinados (PCDFs), por *Bacillus pumilus*. Los resultados mostraron que la biomasa inactiva del microorganismo podía remover estas moléculas del medio más efectivamente que las células activas. Sugirieron que además de la afinidad hacia los microorganismos, las sustancias poliméricas extracelulares también pueden estar involucradas en el proceso de biosorción (Hong y col., 2000).

## **2.7 Bases Teóricas para el Análisis de la Operación Biosorción**

### **2.7.1 Adsorción**

La operación de adsorción, involucra una fase sólida (sorbente) y una fase líquida (solvente) conteniendo una especie disuelta para ser sorbida (sorbato) (Volesky, 2004).

La partición de solutos entre fases depende de la afinidad relativa de un soluto tanto por el solvente como por el sorbente. La afinidad es, principalmente, un fenómeno molecular y depende de mecanismos químicos, físicos y electrostáticos. Como resultado

tenemos mecanismos de atracción o de repulsión (Baptista-Leite, 2002). Ejemplos de mecanismos atractivos incluyen puentes de hidrógeno (químico), fuerzas de Van der Waals (físico) y fuerzas atractivas de Coulomb (electrostático). Otros dos ejemplos son transferencia de carga e intercambio con iones metálicos. Un ejemplo de mecanismo de repulsión ocurre entre el agua subterránea y los organismos no polares (hidrófobos). Cualquiera de estos mecanismos puede actuar dependiendo de la naturaleza de las moléculas orgánicas y de las propiedades de los materiales subsuperficiales. En realidad, varios mecanismos pueden actuar de forma simultánea. La suma de todos los mecanismos y todos los materiales subsuperficiales activos cuentan para los efectos de adsorción (Baptista-Leite, 2002).

Este proceso toma lugar hasta que el equilibrio se establece entre la cantidad máxima del sorbato en el sólido y su porción remanente en la solución (Volesky, 2004).

Dependiendo del mecanismo y del sorbente, la velocidad de adsorción puede ser más rápida, como en la mayor parte de los procesos de adsorción que ocurre en las primeras 2 hrs. La calidad del sorbente es clasificada de acuerdo a cuánto sorbato puede atraer y retener. Para este propósito es de costumbre determinar la sorción de sorbato ( $q$ ) por el biosorbente, como la cantidad máxima del mismo por unidad de la fase sólida (por peso, volumen, y otros) (Volesky, 2004).

Como los procesos de sorción tienden a ser exotérmicos y como el desempeño de sorción puede variar con la temperatura, es un requerimiento básico que la temperatura permanezca constante durante el proceso de sorción. Las isothermas de sorción se construyen con puntos generados con la concentración en equilibrio del sorbato en el sorbente y la concentración de equilibrio del sorbato residual que permanece en la solución. La biosorción no es necesariamente muy exotérmica, como otras operaciones de adsorción. El rango de temperatura para las aplicaciones de biosorción es considerado estrecho, comúnmente entre 10 y 70 °C.

El cálculo de la adsorción de sorbato está basado en el balance de sorción del sistema: el sorbato que desaparece de la solución debe estar en el sorbente. (Volesky, 2004).

$V [L] (C_i) [mg/L] = \text{sorbato en el sistema [mg]}$

$V [L] (C_f) [mg/L] = \text{sorbato que quedó en la solución (sobrenadante) [mg]}$

La sorción es la diferencia entre las concentraciones:

$$q = V [L] (C_i - C_f) [mg/L] / S [g]$$

[en unidades de peso mg sorbato/g sorbente]

donde:

$V [L]$  es el volumen de la solución conteniendo el soluto puesto en contacto con el adsorbente;  $C_i$  y  $C_f$  son las concentraciones inicial y de equilibrio (residual) de la solución, respectivamente.  $S$  es la cantidad de sorbente base seca [g].

La sorción de sorbato  $q$  puede ser expresada en distintas unidades, dependiendo del propósito del trabajo:

1. Para procesos prácticos e ingenieriles que están asociados con el proceso de balances de masa, es habitual el uso de peso (seco) por peso [p. ej. mg de sorbato por g de material sorbente (seco)].
2. Últimamente, principalmente por las consideraciones del volumen del reactor [p. ej. columna de lecho empacado], la sorción de sorbato también puede ser expresada en base a su volumen [p. ej. mg/L]. Sin embargo, la porosidad de volumen (vacíos) puede presentar una complicación en la comparación cuantitativa del desempeño de biosorción.
3. Solo cuando se trabaja en la estequiometría del proceso y cuando se estudian grupos funcionales y mecanismos de unión-metal, puede ser útil expresar  $q$  en molaridad o



una base equivalente por unidades de peso o volumen del sorbente [p. ej. mmol/g o meq/g].

Todas estas unidades son relativamente fáciles de interconvertir. El único problema puede surgir con las conversiones de peso y volumen del sorbente. Para interpretaciones científicas, el peso en seco del material sorbente es preferido. El uso de “peso húmedo de biomasa (adsorbente)”, al menos que (peso húmedo/peso seco) la conversión esté bien especificada, debe ser evitado. Diferentes tipos de biomasa son capaces de retener distintos contenidos húmedos, intracelular así como los atrapados en el espacio intersticial, entre las células o partículas de los tejidos. Los distintos tipos de biomasa, obviamente, se compactan de forma distinta.

### 2.7.2 Modelos Simples de Adsorción

La isoterma de adsorción puede ser matemáticamente expresada. Esto fue hecho a principios de los 1900, en el trabajo clásico de Langmuir y Freundlich, que estudiaron la adsorción del carbón activado.

1) La isoterma de Langmuir es una función hiperbólica:

$$q = q_{\max} \frac{bC_f}{1 + bC_f} \quad \text{Ec. (1)}$$

La relación de Langmuir puede ser linearizada al graficar  $(1/q)$  vs.  $(1/C_f)$  ó  $(C_f/q)$  vs.  $C_f$ , donde  $q_{\max}$  es la máxima adsorción del sorbato en el sorbente, bajo condiciones dadas;  $b$  es un coeficiente relacionado a la afinidad entre el sorbente y el sorbato.

La ecuación que resulta de la linearización de la ecuación de Langmuir (ecuación de *Scatchard*) es:

$$(q/C_f) = (b)(q_{\max}) - (b)(q) \quad \text{Ec. (2)}$$

La isoterma de Langmuir considera la adsorción como un fenómeno químico. Fue examinada teóricamente, por primera vez, en la adsorción de gases en superficies sólidas. La constante  $b = 1/K$  está relacionada con la adsorción de energía, por medio de la ecuación de Arrhenius. Mientras  $b$  sea menor y  $K$  mayor, la afinidad del sorbente al sorbato es mayor.  $q_{max}$  también puede ser interpretada como el número total de sitios activos que están disponibles para la biosorción, y  $q$  como el número de sitios activos que están ocupados por el sorbato en la concentración  $C_f$ .

A pesar de que el modelo de Langmuir no da información de los aspectos mecánicos de adsorción, provee información de la capacidad de inmovilización y es capaz de mostrar el equilibrio del comportamiento del proceso de adsorción. Langmuir asumió que las fuerzas que son ejercidas por las superficies de átomos (número total de sitios activos), químicamente insaturados, no exceden más allá del diámetro de la molécula sorbida y por lo tanto, la adsorción está limitada a una monocapa.

En el más simple de los casos, las siguientes suposiciones fueron hechas:

- a) Número fijo de sitios de adsorción; en equilibrio, a cualquier temperatura y presión de gas, la fracción de los sitios superficiales  $\Theta$  es ocupada por las moléculas adsorbidas, y la fracción libre es  $1 - \Theta$ .
- b) Todos los sitios de adsorción son uniformes (p. ej. calor constante de adsorción).
- c) Un solo sorbato.
- d) Una molécula de sorbato reacciona con un solo sitio activo.
- e) No hay interacción entre las especies sorbidas.

Asumiendo un valor para el área de superficie cubierta por molécula, podría entonces permitir el cálculo del área específica de superficie del sorbente utilizando el número de Avogadro. Sin embargo, el concepto de “área de superficie” no puede ser utilizado en sorbentes tipo gel, donde la mayoría de los biosorbentes pueden ser así.

Mientras las restricciones y limitaciones sean claramente reconocidas, la ecuación de Langmuir puede ser utilizada para describir las condiciones de equilibrio del comportamiento de adsorción, en distintos sistemas sorbato-sorbente o para variadas condiciones en un determinado sistema (Volesky, 2004).

2) La isoterma de Freundlich es una función exponencial:

$$q = kC_f^{(1/n)} \quad \text{Ec. (3)}$$

donde  $k$  y  $n$  son coeficientes empíricos.

La relación de Freundlich es una ecuación empírica. No indica una capacidad finita de retención del sorbente y además, únicamente puede ser aplicada en concentraciones razonablemente bajas a intermedias ( $C_f$ ). Sin embargo, es más fácil manejar matemáticamente en cálculos más complejos (p. ej. en la modelación del comportamiento dinámico de una columna), donde puede presentarse más frecuentemente. El modelo de Freundlich puede ser linearizado fácilmente, al graficarlo en formato log-log. Otra limitación de la ecuación de Freundlich, es que no ajusta una isoterma linear en el límite donde la concentración es cero. (Volesky, 2004; Dechow, 1989).

El modelo de Langmuir, eventualmente, ha sido más utilizado empíricamente debido a que contiene dos parámetros útiles y tangibles ( $q_{max}$  y  $b$ ) que son fácilmente comprendidos y además, reflejan dos características importantes del sistema de adsorción.

Los distintos sistemas de adsorción y mecanismos fuera del alcance de las suposiciones aplicadas y ajustadas de las ecuaciones modelo, son una cuestión de permisividad. Éstos se convierten en relaciones matemáticas, que son capaces de ajustarse a los datos

experimentales. El problema con la biosorción es que no hay mucha información específica de los mecanismos de adsorción involucrados (Volesky, 2004).

## CAPÍTULO 3

### MATERIALES Y MÉTODOS

Para llevar a cabo la evaluación de la capacidad de biosorción de un cultivo mixto de bacterias degradadoras de DDT, la biomasa cosechada por centrifugación se sometió a un secado con acetona a  $-20^{\circ}$  C. La biomasa seca se clasificó por tamaño de partícula a través de un sistema de mallas calibradas y se seleccionó un tamaño para la experimentación. Se estandarizó un método para obtener muestras homogéneas de células suspendidas para llevar a cabo la evaluación de la biosorción mediante la determinación de la cinética de adsorción y los experimentos de equilibrio para obtener la isoterma de adsorción correspondiente.

Los experimentos se evaluaron determinando la concentración de DDT residual en la biomasa mediante cromatografía de gases de los extractos orgánicos correspondientes. En la Figura 1 se muestra un diagrama describiendo el trabajo realizado.

#### 3.1 Materiales

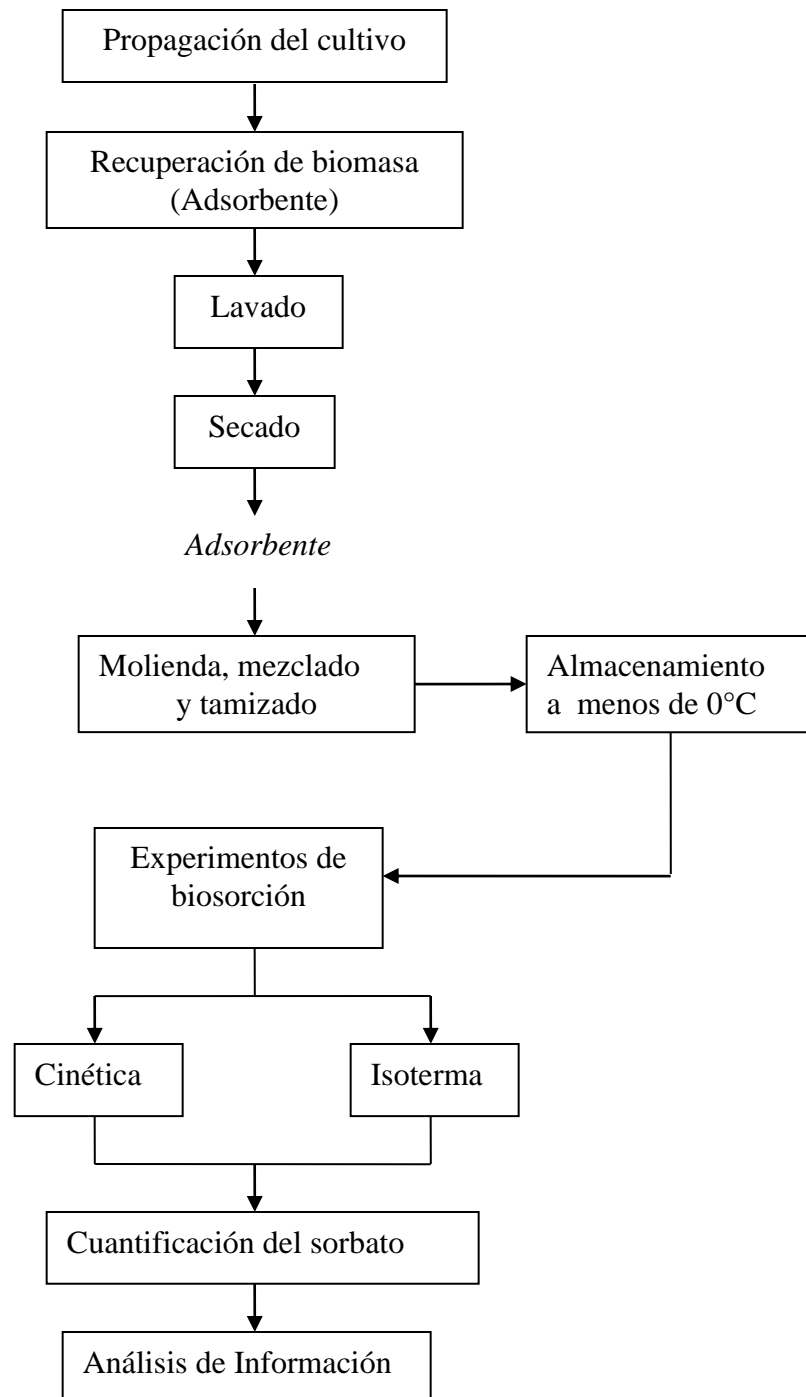
##### 3.1.2 Adsorbente

El material adsorbente, está constituido por una mezcla seca de bacilos Gram negativos pertenecientes a los géneros *Pseudomona*, *Neisseria*, *Acinetobacter* y *Moraxella*, previamente aislados en medio de enriquecimiento en sales minerales suplementado con DDT a  $28^{\circ}$  C y 150 rpm (Pérez-Carrillo, 2004).

##### 3.1.3 Reactivos

DDT [1,1,1 - Tricloro-2,2-bis (p-clorofenil) etano] con una pureza de 98% y estándar interno (SI) 1,2,3,4,5-pentacloro-6-nitro-benceno (PCNB) fueron adquiridos de Supelco

Co.; Hexano (grado cromatográfico), Acido clorhídrico [HCl] concentrado al 37.7%, Éter etílico (grado cromatográfico), Metanol (grado cromatográfico) y Acetona fueron adquiridos de SIGMA; Agua deionizada con un pH de 5.7.



**Figura 1. Descripción general del trabajo realizado.**

## **3.2 Metodología**

### **3.2.1 Estandarización del Sistema Experimental**

Se implementó un sistema experimental para el estudio de biosorción, realizando una adaptación en base a la metodología descrita por Juhasz y col. (2002). Para tal adaptación, se tomó como base 1 ppm de DDT para trabajar en un rango más cercano al de la solubilidad del DDT en agua y un volumen de 10 mL de agua deionizada, como medio de solución para tener una concentración de biomasa de 0.04 mg/mL; 200 a 800 ppb de DDT en el rango de trabajo, con una relación 1:1 de DDT:PCNB. Todo el sistema experimental, de reactor tipo intermitente, estuvo contenido en un vial de vidrio color ámbar y con capacidad volumétrica de 30 mL.

### **3.2.2 Preparación del adsorbente**

Se propagó el cultivo mixto de bacterias en medio de sales minerales suplementado con 133 ppm de DDT a 28° C y una velocidad de agitación de 150 rpm.

Se cosechó el paquete celular por centrifugación del caldo de cultivo a 14,000 x g por 30 min; se lavó tres veces con solución de sales minerales. Se resuspendió en un volumen mínimo de solución y el paquete celular se secó aplicando dos ciclos de secado en acetona a -18° C con un lavado adicional de éter frío para eliminación de la acetona residual (Solomon, 1986).

La biomasa fue clasificada en dos tamaños de partícula (>0.180 mm <0.84 mm y <0.180 mm), por medio de tamices de acero inoxidable No. 20 con diámetro interior de la malla de 0.84 mm y No. 80 con diámetro interior de la malla de 0.180 mm.



### **3.2.3 Elaboración de una suspensión de células homogéneas**

Para la homogenización se preparó una solución madre pesando 10 mg de biomasa, de un tamaño de partícula menor a 0.180 mm y se vaciaron en un tubo de ensayo de 18x150 mm, conteniendo 10 mL de agua deionizada. Se agitó la suspensión en un agitador vortex (Deluxe Mixer S8220), durante 3 minutos con intensidad 4, hasta observar homogenización.

Se homogenizaron, por vortex, muestras por triplicado de una suspensión 1:2 de células:agua, e inmediatamente se midió la absorbancia de la suspensión diluida, en un espectrofotómetro (Spectronic 21), a 600 nm obteniendo lecturas dentro del rango lineal de acuerdo a la Ley de Beer (en un rango  $< 0.4 A$ ). La verificación de la homogenización se hizo por comparación de los valores de absorbancia de las réplicas.

### **3.3 Determinación de la Cinética de Biosorción**

La cinética de biosorción se determinó para una concentración de DDT de 200 ppb. En un vial, de vidrio ámbar y con capacidad volumétrica de 30 mL, se agregaron en el siguiente orden: 9.6 mL de agua deionizada, 20  $\mu$ L de DDT de una solución de 100 mg/L en acetona, y 0.4 mL de una suspensión homogénea de células de 1 mg/mL. Se agitaron en una placa termomagnética (PC-420) a una temperatura de 25° C e intensidad de agitación 4. Durante el muestreo, se sacrificaron reactores a intervalos de tiempo de: 1, 2, 3, 6, 10, 15, 20, 40 y 120 minutos que duró la experimentación. La biomasa, se recolectó mediante filtración, y se lavó adicionalmente con 1 mL de agua deionizada, utilizando: filtro de membrana (Tuffryn HT-450), soporte de filtro en línea (Delrin®) matraz de vacío Erlenmeyer de 125 mL, mangueras y conexiones, pipeta Pasteur, y bomba de vacío (Gast® S55NXMLD-6711). En la Figura 2 se muestran las operaciones realizadas para el estudio de la cinética de adsorción.

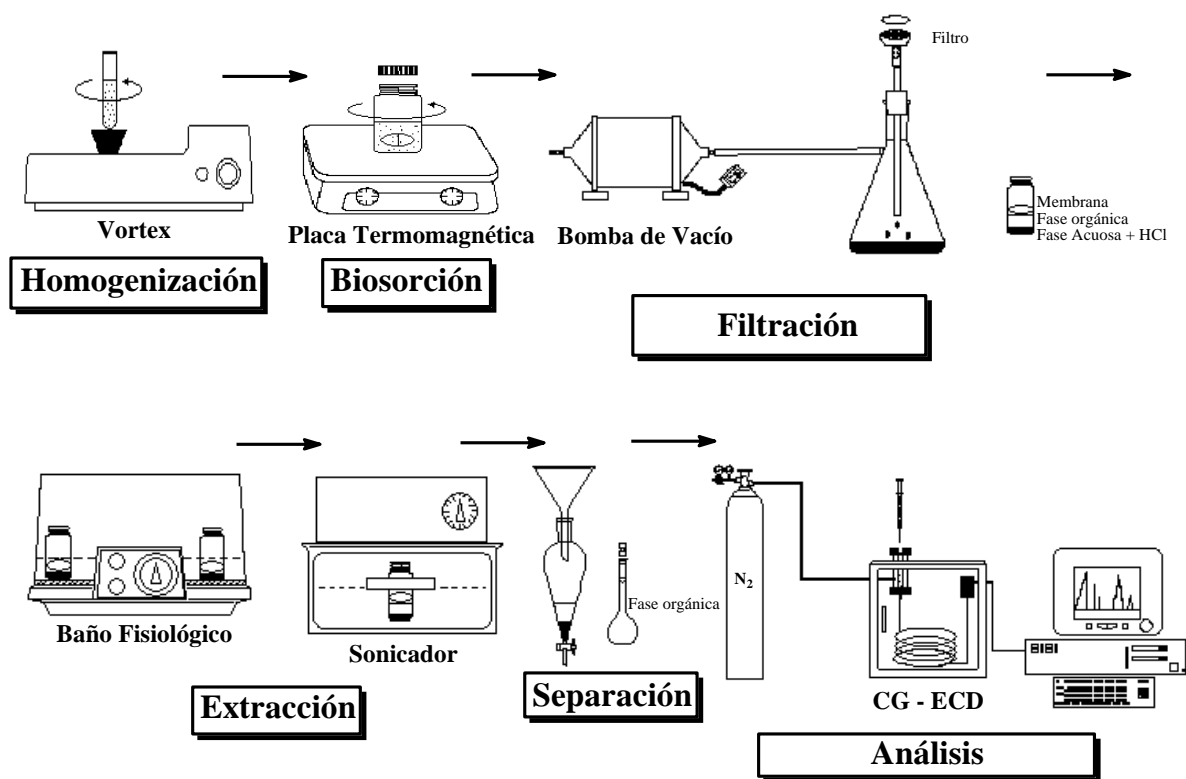


Figura 2. Operaciones utilizadas en la cinética de adsorción.

### **3.4 Determinación de la Isotherma de Adsorción**

Para la obtención de la isoterma de adsorción se utilizó una adaptación al método descrito por Juhasz y col. (2000).

La experimentación para obtener la isoterma de adsorción se llevó a cabo con la metodología descrita para la cinética de adsorción. Al inicio de cada experimento se preparó una concentración de DDT determinada, dentro de un rango de 200 a 800 ppb. Cada experimento se dejó transcurrir por un período de 2 horas, tiempo necesario para alcanzar el equilibrio. El medio de cultivo, libre de células, se recolectó mediante dos ciclos de centrifugación a 11400 rfc y 4° C, utilizando una centrífuga refrigerada (Biofuge 17 R), tubos de centrifugación de fondo redondo con capacidad de 15 mL (Nalgene®), y pipetas Pasteur.

El reactor se enjuagó con aproximadamente 1 mL de la primera centrifugación, y nuevamente se agregó al tubo de centrifugación, y se procedió con el segundo ciclo de centrifugación. Se recuperó la biomasa para determinar la cantidad DDT adsorbido.

Se consideraron muestras control usando reactores sin inocular. Se utilizaron muestras por duplicado de cada punto de la experimentación. La Figura 3 muestra un diagrama simplificado de las operaciones utilizadas para obtener la isoterma de adsorción

### **3.5 Extracción de DDT de la Biomasa**

a) Recuperación de la biomasa mediante filtros de membrana. El filtro se introdujo a un vial de vidrio de 12 mL, y se agregaron 2 mL de HCl concentrado para llevar a cabo la digestión ácida, en un baño fisiológico (Shaking Water Bath 25) a 60° C por 4 horas. Se añadieron al vial que contiene el filtro y el ácido, 3 mL de una mezcla hexano-éter etílico 3:1 (v/v), y se puso a sonicar en un baño ultrasónico (Bransonic Ultrasonic Cleaner 2510R-MT) por 40 minutos. La muestra sonicada se vació en un embudo de separación de 30 mL y el vial se enjuagó con 2 mL adicionales de hexano-

éter etílico 3:1 (v/v); después de agitarlo manualmente por 1 minuto, el solvente de enjuague se vació al mismo embudo de separación, enjuagándose el embudo de separación en el mismo procedimiento. Se dejó reposar hasta lograr la separación de las fases orgánica y acuosa, se descartó la fase acuosa. Se recolectó el extracto orgánico en un vial de vidrio de 12 mL y se le agregaron 0.5 g de sulfato de sodio anhidro (previamente activado por calentamiento a 400 °C en una mufla durante 4 horas) para eliminar residuos de agua de la muestra. El extracto se evaporó hasta sequedad en una campana de extracción y se almacenó a 4 °C.

b) Recuperación de la biomasa por centrifugación. Se agregó 1 mL de HCl concentrado en el tubo de centrifugación, extrayéndose la biomasa digerida, con una pipeta Pasteur, siendo vaciada en un vial de vidrio de 12 mL. Agregando 1 mL de HCl concentrado, se prosiguió a enjuagar el tubo de centrifugación, vaciando el enjuague al mismo vial. La digestión alcalina y la extracción, fueron llevadas a cabo como el procedimiento antes mencionado.

### **3.6 Determinación de DDT por Cromatografía de Gases**

Para la cuantificación de DDT residual en los extractos, estos fueron diluidos apropiadamente en hexano grado cromatográfico y analizados en un cromatógrafo de gases (Varian 3800) equipado con detector de captura de electrones. Para la separación de los compuestos se utilizó una columna DB<sup>TM</sup>-5 (5% fenil, metil-polisiloxano) de 30 m de largo, 0.25 mm de diámetro interno y un espesor de película de 0.25 µm. La columna se operó a una temperatura inicial de 140° C mantenida durante 1 minuto; después se incrementó hasta 240° C, mediante un programa de temperatura a razón de 20 ° C/min. y se mantuvo por un minuto; finalmente, se elevó la temperatura a 265 ° a razón de 10° C/min. manteniendo esta temperatura por 2.8 min. La columna fue operada a un flujo constante de 1.5 mL/min.

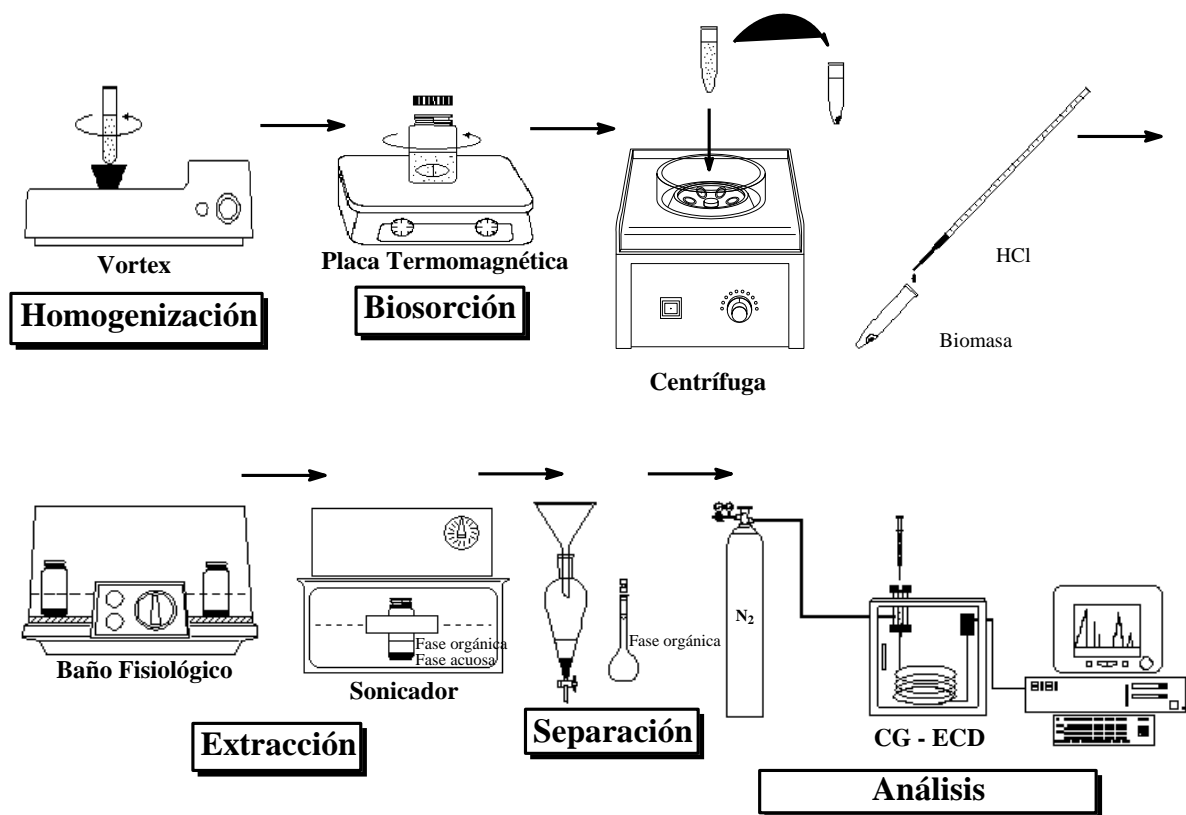


Figura 3. Operaciones utilizadas en los experimentos para obtener la Isoterma de adsorción.

Se utilizó nitrógeno de alta pureza como gas acarreador y de relleno. Las temperaturas del inyector y detector fueron de 250° C y 300° C, respectivamente. Las inyecciones fueron de 1 µL manejadas en modo sin división, utilizando jeringas Hamilton con capacidad de 10 µL. La cuantificación se realizó mediante calibración con estándar interno PCNB en metanol, en base a una curva estándar elaborada para DDT en un rango de concentración de 0 a 100 ppb, agregando 0.5 µg de PCNB en cada punto a inyectar de la curva estándar. La identificación de DDT se hizo por comparación del tiempo de retención con respecto al DDT estándar.

El análisis de las muestras se hizo de la siguiente manera: El extracto de la muestra se recuperó en un aforado de 2 mL, de donde se hizo la dilución necesaria para caer en el rango lineal de la curva de calibración (200 µL de extracto aforados a 1 mL con hexano); se agregaron 50 ppb de PCNB a partir de una solución de 1 ppm. Las muestras blanco de referencia así como los sobrenadantes de los reactores se recuperaron en aforados de 2 mL y fueron diluidos de manera semejante (40 µL de extracto aforado a 1 mL con hexano), se agregaron 10 µL de PCNB de una solución de 10 ppm para obtener una concentración de 100 ppb de SI.

## **CAPÍTULO 4**

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Aunque existen escasos artículos acerca del uso de bacterias en la operación de adsorción de compuestos orgánicos tóxicos, éstos han demostrado que la biomasa bacteriana tiene buena capacidad para la remoción de dichos contaminantes, bajo ciertas condiciones. Se ha observado que células microbianas tienden a concentrar químicos de su ambiente acuático (Patterson y col., 1981; Tsezos, 1983). También se ha comprobado que muchos compuestos orgánicos tóxicos que entran en sistemas convencionales biológicos de tratamiento de aguas residuales, se acumulan en los lodos microbianos (Bridle, 1982; Petrusek y col., 1983).

En estudios de biodegradación de DDT, Carrillo-Pérez (2004) observó la presencia de DDT adherido al paquete celular de un cultivo mixto bacteriano; en este caso, se estimó que alrededor del 50 % del DDT quedó indisponible para su degradación por dicho cultivo, por lo que se procedió en el presente estudio a evaluar el fenómeno de biosorción.

#### **4.1 Estandarización del Sistema Experimental**

El diseño del sistema experimental se basó en las condiciones experimentales reportadas por Juhasz y col., (2002) reduciendo la cantidad de adsorbente del sistema a 0.4 mg para trabajar en el rango de concentración de 0.2 a 0.8 ppm y quedar en un rango mas cercano al de la solubilidad del DDT en agua.

Se probaron diferentes opciones de recuperación del adsorbente como filtración en línea a través de membranas de 45  $\mu\text{m}$  y centrifugación. La recuperación del paquete celular por filtración y retro-lavado del filtro generaron pérdidas de biomasa y sorbato con respecto a lo dosificado, por lo que la filtración de la muestra directamente a través del filtro de membrana, utilizando una bomba de vacío, dio buenos resultados para separar

la biomasa del sobrenadante en un tiempo mínimo, con pérdida mínima de la misma. Esta técnica fue la más adecuada para la obtención de la cinética de adsorción.

La recuperación de la biomasa mediante centrifugación resultó el método más adecuado durante los experimentos para obtener la isoterma de adsorción, con una pérdida mínima de biomasa y pudiéndose obtener valores precisos de la capacidad máxima de adsorción, sin tener que utilizar un sistema experimental más complejo, como la filtración.

#### **4.2 Homogenización de Suspensión de Células**

En los experimentos de adsorción se utilizó una cantidad pequeña de adsorbente (0.4 mg de células) que requirió el diseño de una metodología que garantizara la dosificación y reproducibilidad del biosorbente. Se seleccionó manejar el adsorbente como una suspensión celular homogénea con el fin de eliminar el error inherente al manejo de masas muy pequeñas. La turbidez o densidad óptica de una suspensión celular, debida a la dispersión de la luz que incide sobre cada una de las células presentes en ella, da un valor de absorbancia ( $A$ ) que de acuerdo a la ley de Beer, es proporcional a la concentración celular, dentro de un rango de longitud de onda de 600 a 700 nm. En la Tabla 1 se aprecian los resultados de una serie de experimentos realizados donde los valores de desviación estándar de las lecturas de absorbancia ( $A$ ) fueron mínimos indicando la estandarización de la homogeneidad de la suspensión bajo las condiciones establecidas en la metodología.

Se utilizó como adsorbente biomasa seca con un tamaño de partícula de  $\leq 0.180$  mm y la cantidad utilizada se determinó de acuerdo a la cantidad de sorbato (DDT), considerando una solubilidad de éste en sistemas acuosos menor a 1 ppm. Existen estudios de biosorción de DDT a biomasa fungal pero en estos la cantidad de DDT dosificado excede a la su solubilidad en sistemas acuosos (Juhaz y Naidu, 1999).



Los experimentos se realizaron con biomasa metabólicamente inactiva. En trabajos previos (Carrillo y col., 2002) se demostró la capacidad de la biomasa utilizada para degradar DDT, comprobándose de nuevo la viabilidad de la misma después del tratamiento de secado, lo que muestra que las modificaciones que pudiera haber sufrido, fueron mínimas. Hay estudios que muestran diferencias en cuanto a la capacidad para adsorber compuestos orgánicos entre biomasa muerta o metabólicamente inactiva y biomasa viable, mientras que otros estudios demuestran que tratamientos térmicos durante la esterilización, no afectan significativamente la capacidad de adsorción de las paredes celulares (Amy y col., 1988; Yan y Allen, 1994).

Tabla 1. Absorbancia a 600 nm de una suspensión celular homogenizada<sup>1</sup>.

| MUESTRA <sup>2</sup> | RÉPLICAS<br>Absorbancia a 600 nm |       |       | MEDIA<br>( $\bar{X}$ ) | DESVIACIÓN<br>ESTÁNDAR<br>(SD) |
|----------------------|----------------------------------|-------|-------|------------------------|--------------------------------|
|                      | 1                                | 2     | 3     |                        |                                |
| 1                    | 0.075                            | 0.074 | 0.071 | 0.073                  | 0.002                          |
| 2                    | 0.08                             | 0.08  | 0.073 | 0.078                  | 0.004                          |
| 3                    | 0.087                            | 0.098 | 0.085 | 0.090                  | 0.007                          |

1) Homogenización mediante agitación vigorosa durante 1 min.

2) Suspensión celular de 0.2 mg/ml.

### **4.3 Biodisponibilidad de DDT**

Durante la experimentación se observó que parte del DDT dosificado no era cuantificado en la biomasa ni en el sobrenadante, asumiendo que parte quedaba adsorbido al vidrio y por tanto indisponible para su adsorción a la biomasa. Esta indisponibilidad se puede apreciar en la Tabla 2 donde se observa que en experimentos por duplicado dentro del rango de trabajo (0.2-0.8 ppm) del 57% al 68.5 % del DDT en las muestras fue disponible, mientras que el resto quedó adherido al vidrio del reactor. Trabajando a una concentración de 100 ppm se obtuvieron resultados semejantes (57.55 %).

En otros estudios (House y col, 1992), fueron reportados, como porcentajes del plaguicida dosificado (0.250 ppb) contenidos en recipientes de vidrio, 73.7 % de DDT en el sobrenadante sin filtrar y 64.9 % del mismo en el sobrenadante filtrado, mostrando la tendencia del DDT a adherirse al vidrio y otros materiales como el filtro. Estos resultados fueron considerados para la cuantificación de DDT durante la experimentación.

### **4.4 Determinación de DDT por Cromatografía de Gases**

Antes de la determinación del DDT asociado a la biomasa, hubo necesidad de digerir ésta previamente con el fin de liberar el sorbato. En este caso se utilizó HCl concentrado tomando en cuenta que existen reportes demostrando la resistencia de algunos plaguicidas organoclorados a la digestión ácida, entre ellos DDT y sus metabolitos DDD

Tabla 2. Disponibilidad de DDT para adsorción.

| DDT total en el reactor (ppm) | DDT en el sobrenadante (ppm) |        | Media ( $\bar{X}$ ) | Desviación estándar (ppm) | DDT Disponible (%) |
|-------------------------------|------------------------------|--------|---------------------|---------------------------|--------------------|
|                               | 1                            | 2      |                     |                           |                    |
| 0.200                         | 0.1186                       | 0.1339 | 0.1262              | 0.0108                    | 63.1               |
| 0.400                         | 0.2282                       | 0.2345 | 0.2313              | 0.0045                    | 57.85              |
| 0.600                         | 0.3881                       | 0.3913 | 0.3897              | 0.0023                    | 64.95              |
| 0.700                         | 0.4742                       | 0.4374 | 0.4558              | 0.0261                    | 65.1               |
| 0.800                         | 0.5249                       | 0.5706 | 0.5477              | 0.0324                    | 68.46              |
| 100                           | 57.22                        | 57.87  | 57.55               | 0.4596                    | 57.55              |

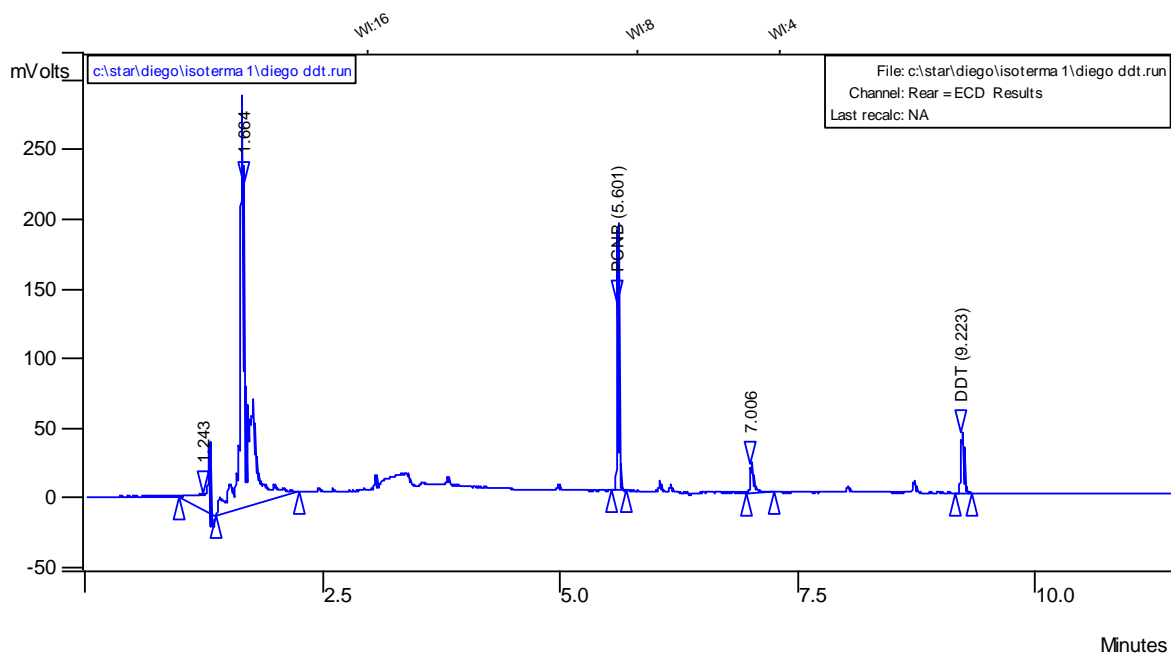
y DDE. Con esta operación se logró la limpieza de los extractos degradando los compuestos co-extraídos, o como es en este caso la digestión total del adsorbente para la liberación del DDT, así como la eliminación de pasos adicionales de purificación para mejorar la recuperación del analito (Waliszewski, y col., 2004).

La determinación de DDT adsorbido a la biomasa por cromatografía de gases, se hizo en base a la comparación del tiempo de retención del pico de DDT en las muestras con respecto al pico de DDT en el estándar y el cual fue de 9.22 minutos; el tiempo de retención de PCNB utilizado como estándar interno fue de 5.60 min, bajo las condiciones especificadas en la metodología, como se muestra en la Figura 4 la curva estándar utilizada para cuantificar el DDT en las muestras se aprecia en la Figura 5.

#### **4.5 Isoterma de Adsorción**

En la isoterma de adsorción, como se muestra en la Figura 6 los valores experimentales ( $\bullet$ ) se ajustaron al modelo de Langmuir (Ec. (1) de la sección 2.7.2), representado por la línea continua, obteniéndose una capacidad máxima de adsorción ( $q_{\max}$ ) de 2.656 mg de DDT/g de biomasa y un coeficiente de afinidad ( $b$ ) de 0.062 mg/L.

La  $q_{\max}$  de este adsorbente es relativamente baja comparada con la reportada por Juhasz y col. (2002), quienes obtuvieron una  $q_{\max}$  de 6.8 mg DDT/g biomasa fungal, utilizando como medio agua deionizada, y manejando un rango de trabajo de 10 a 375 ppm de DDT en el reactor. Sin embargo, cabe hacer notar que ellos manejaron otro tipo de biomasa que pudiera haber tenido mayor número de sitios de adsorción que la biomasa bacteriana utilizada en este trabajo. En este trabajo se utilizó DDT en bajas concentraciones, para apreciar el fenómeno de adsorción condicionando el sistema a un rango de concentración más cercano al de la solubilidad de DDT en agua, que es menor

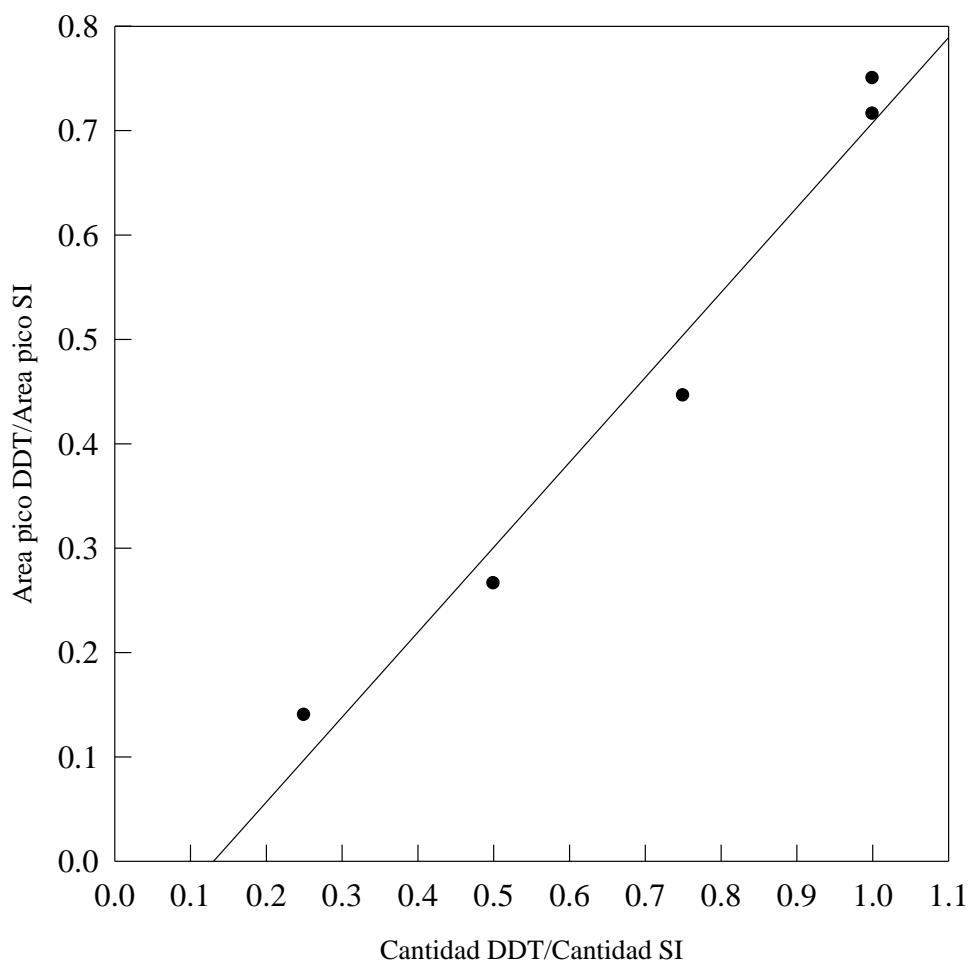


**Figura 4. Cromatograma de gases correspondiente a la elución de DDT y PCNB en una columna DB-5.**

El cromatograma se obtuvo bajo las condiciones descritas en materiales y métodos. La identificación de cada compuesto mediante su tiempo de retención se indica sobre cada uno de los picos.

a 1 ppm, mientras que el rango de trabajo utilizado por ellos estuvo muy por encima de la solubilidad del DDT en agua. Los tiempos de contacto para obtener los datos de equilibrio para la isoterma de adsorción fueron de 2 horas, tomando en cuenta que en la literatura se reporta que los fenómenos de adsorción son rápidos y ocurren por lo general en los primeros 30 minutos. Además, estudios cinéticos preliminares mostraron que el equilibrio se alcanzaba alrededor de los primeros 20 minutos. Juhasz y col., (2002); Tzesos y Bell, (1989) han reportado tiempos de contacto relativamente largos (mayores de 24 horas) pero en este caso no se prolongó éste para evitar que al transcurrir el tiempo, se empezaran a manifestar otros fenómenos como el transporte de DDT hacia adentro de las células, sobretodo considerando que se estaba trabajando con células viables metabólicamente inactivas.

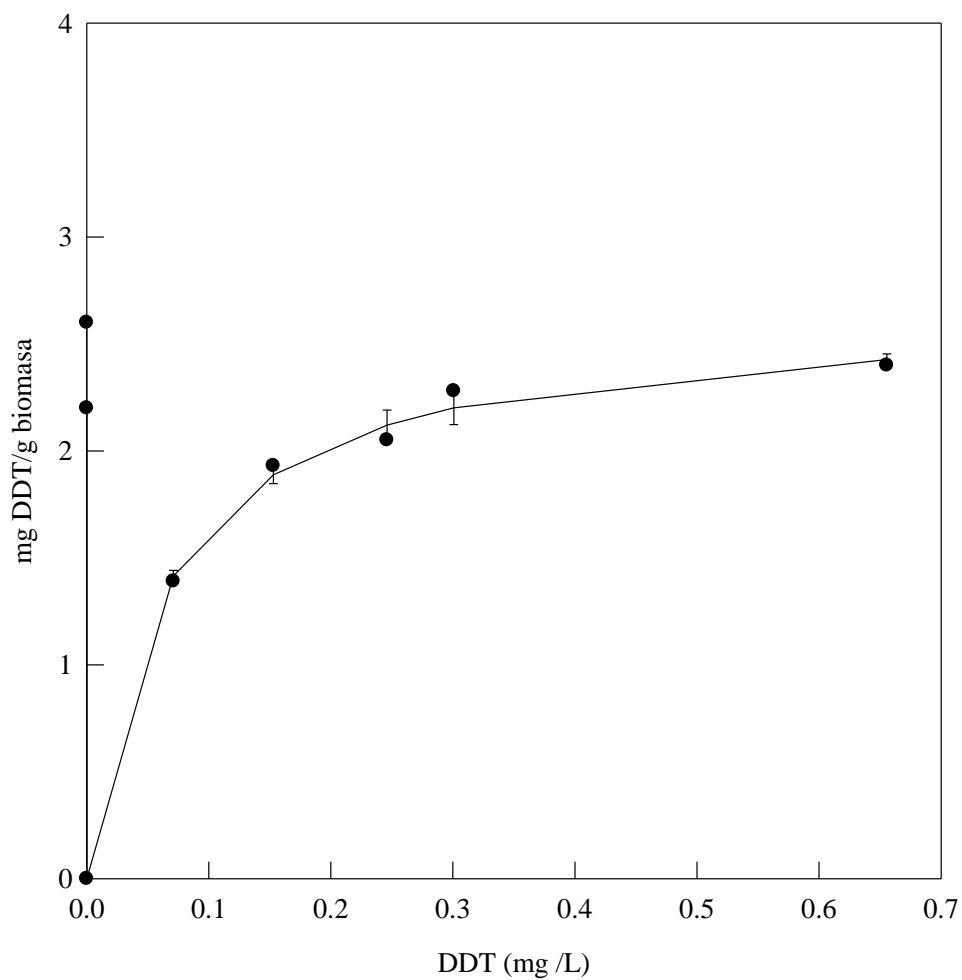
El valor bajo que se obtuvo para el coeficiente de afinidad ( $b$ ) demuestra que el adsorbente tiene una buena afinidad con el DDT. En la gráfica se observa que la capacidad del adsorbente es alta, en relación con  $q_{max}$ , aún a bajas concentraciones de DDT en la solución, lo cual es una ventaja cuando se trabaja con soluciones diluidas. Volesky (2004) hace mención que las características anteriores son las que definen a un “buen” adsorbente.



**Figura 5. Curva estándar DDT.**

Estandarización interna utilizando 100 ppb de pentacloronitrobenceno como SI; Coeficiente de determinación ( $r^2$ ) de 0.97;  $Y = 0.813 X - 0.106$





**Figura 6. Isotherma de adsorción de DDT en biomasa bacteriana.**

Volumen reactor 10 mL; 0.4 mg de biomasa,  
[DDT] de 0.2 a 0.8 ppm; T=25° C; pH 5.8.

Los puntos de equilibrio se obtuvieron variando la concentración hasta 800 ppb de DDT en solución, ya que al incrementar la concentración se comenzó a manifestar un fenómeno de desorción del DDT en la biomasa.

Como se aprecia en la isoterma, a valores bajos como 50 y 100 ppb de DDT, el adsorbente captó todo el DDT dosificado. Estos valores fueron determinados en la biomasa y fueron mayores a los valores de DDT disponible en la solución, por lo que se piensa que a tan bajas concentraciones en solución, el adsorbente ejerció una atracción por el DDT previamente adsorbido al vidrio.

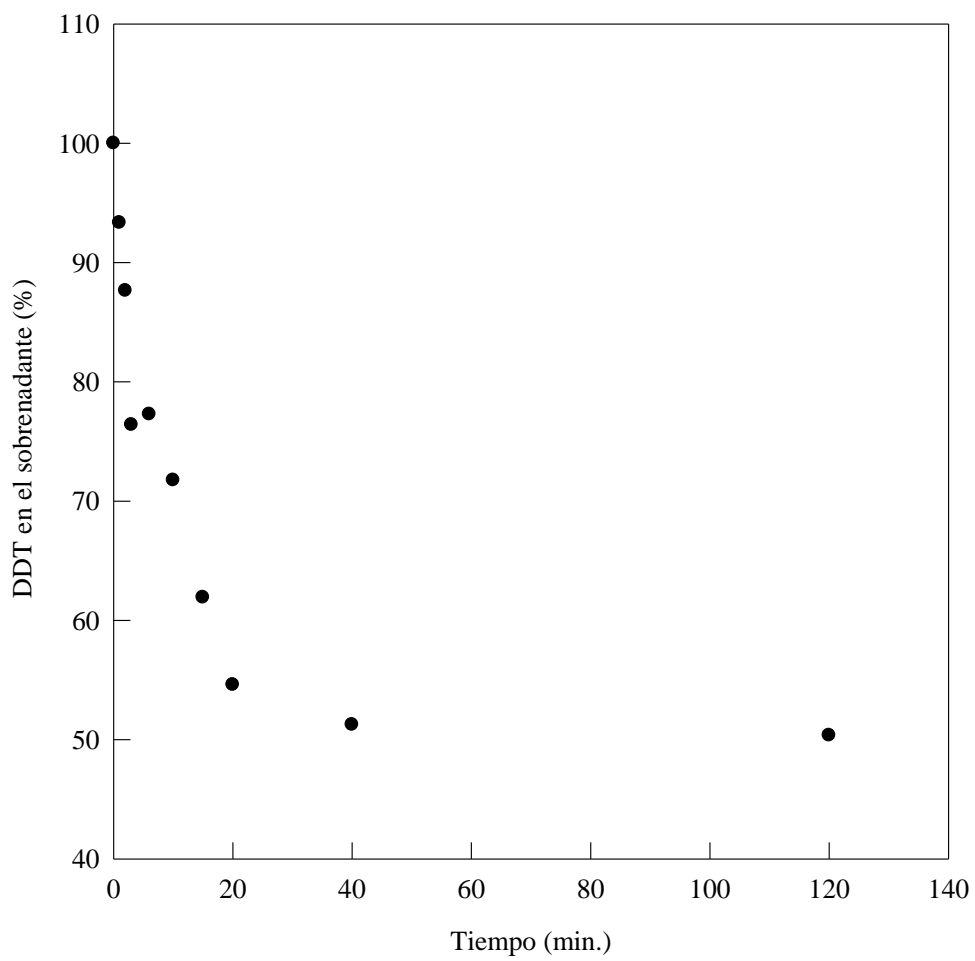
#### **4.6 Cinética de Adsorción**

Para el estudio cinético se utilizó una concentración de DDT de 200 ppb que fue el punto donde la isoterma muestra que el adsorbente tiene una buena capacidad de adsorción ( $q$ ). La cinética de adsorción, se representa en la Figura 7.

En un tiempo de 40 minutos, la concentración de DDT en el sobrenadante disminuyó de 0.112 ppm a 0.0574 ppm, reduciéndose en un 51% y después de 120 minutos esta cantidad quedó sin alterarse, alcanzando el equilibrio. Estos resultados son menores a los obtenidos en un estudio reportado por Juhasz y col. (2002), donde utilizando como medio agua deionizada, 100 mg de biomasa fungal y una concentración inicial de 90 ppm de DDT, el nivel de este en el sobrenadante se redujo hasta una concentración de 32.4 ppm en un tiempo 50 horas, es decir, se redujo aproximadamente en un 64%; cabe hacer notar que estos investigadores trabajaron en un rango de concentración de DDT muy por arriba de su solubilidad.

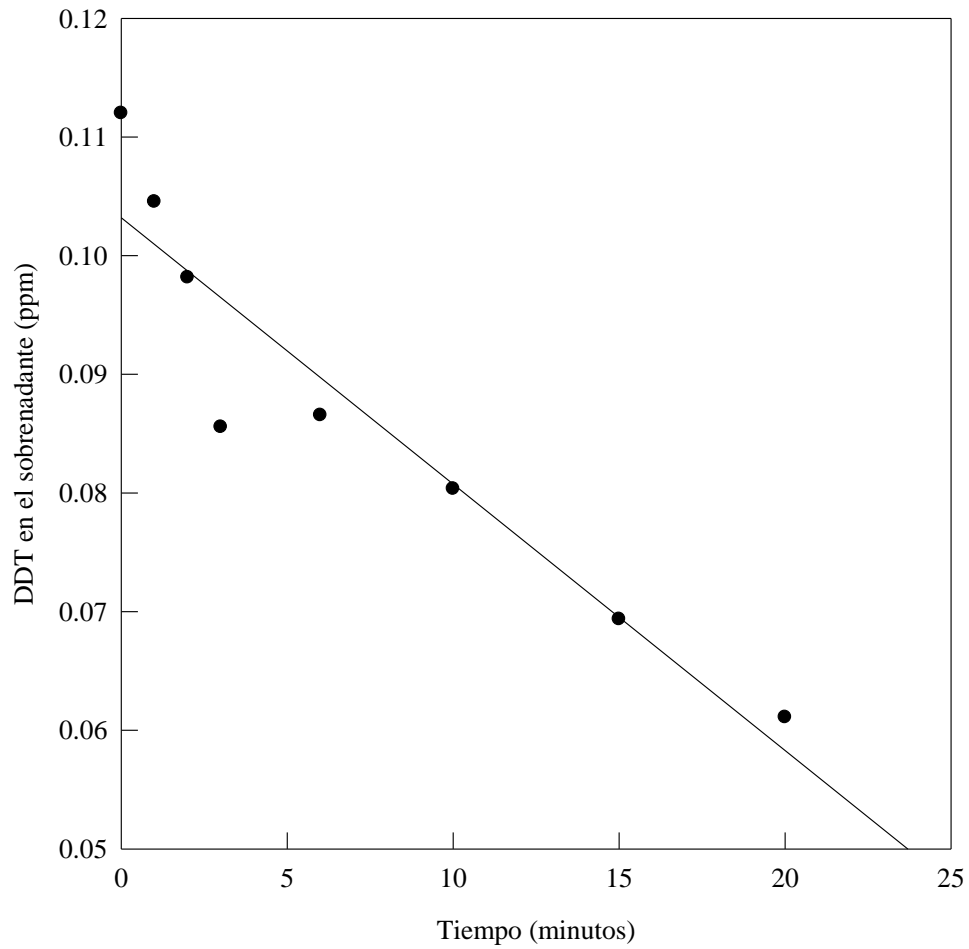
Mediante regresión lineal de los datos experimentales obtenidos durante los primeros 20 minutos se obtuvo la velocidad específica de adsorción ( $k_{ad}$ ) de  $-0.00224 \text{ mg L}^{-1} \text{ min}^{-1}$  con un coeficiente de determinación de 0.89 (Figura 8). Durante estos primeros 20 minutos, ocurrió una disminución drástica de la concentración de DDT en el reactor. El

valor es relativamente alto, por lo que se logró obtener una adsorción rápida y eficiente. Haciendo una comparación con los escasos estudios publicados, Juhasz y col. (2002), utilizando co-solventes (mezclas de agua y alcohol) con el fin de incrementar la solubilidad aparente del DDT, reportaron una cinética de adsorción con un tiempo requerido para alcanzar el equilibrio de 60 minutos, sin dar un valor para la velocidad de adsorción, mientras que en este trabajo, utilizando solo agua como solvente, temperatura ambiente, se pudo adsorber el 51% del DDT en 40 minutos a partir de una solución diluida de 200 ppb.



**Figura 7. Cinética de adsorción de DDT por biomasa bacteriana.**

Volumen reactor 10 mL; 0.4 mg de biomasa,  
[DDT] 0.2 ppm; T=25° C.



**Figura 8. Velocidad específica de adsorción.**

Se obtuvo con los valores reportados durante los primeros 20 minutos en el experimento de cinética de adsorción.

$$k_{ad} = 0.0022 \text{ mg L}^{-1} \text{ min}^{-1}; r^2 = 0.89$$

## CAPÍTULO 5

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

1. Se logró implementar un sistema experimental a concentraciones cercanas a solubilidad del DDT en agua, que permitió la determinación tanto de la isoterma como de la cinética de adsorción. En este último caso, se hicieron variaciones al sistema recuperando la biomasa por filtración con el fin de reducir el tiempo de muestreo.
2. Se estableció una metodología que garantizó la dosificación reproducible del biosorbente en pequeñas cantidades, manejándolo como una suspensión celular homogénea con el fin de eliminar el error inherente al manejo de masas muy pequeñas.
3. Durante la experimentación se pudo determinar que sólo en el rango del 57% al 68.5% del DDT se encontraba disponible para la biosorción.
4. El cultivo mixto bacteriano sí tuvo capacidad para adsorber DDT, mostrando una capacidad máxima ( $q_{max}$ ) de 2.656 mg DDT/g biomasa.
5. Los datos experimentales de equilibrio se ajustaron a la isoterma de Langmuir.
6. La cinética de adsorción fue rápida y eficiente, donde la biomasa adsorbió el 46% de [DDT] en tan solo 20 minutos, a una velocidad específica de adsorción ( $k_{ad}$ ) de - 0.00224 mg L<sup>-1</sup> min.<sup>-1</sup> con un coeficiente de determinación de 0.89.
7. Se recomienda someter la biomasa a tratamientos fisicoquímicos con el fin de buscar un incremento en su capacidad de adsorción.

8. Se recomienda evaluar el tipo de interacciones que intervienen en la adsorción, para poder obtener otros datos como velocidad de adsorción y el orden de reacción.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Aigner E.J., Leone A.D. y Falconer R.L. 1998. Concentrations and enantiomeric ratios of organochlorine pesticides in soils from the US corn belt. *Environ. Sci. Technol.* 32: 1162-1168.
2. Aksu Z. 2005. Application of biosorption for removal of organic pollutants: a review. *Process Biochemistry.* 40: 997-1026.
3. Albert L.A. 1996. Persistent pesticides in Mexico. *Rev. Environ Contam. Toxicol.* 147: 1-44.
4. Alexander M. 1994. Biodegradation of chemicals of environmental concern. Academic Press, Inc. San Diego, Cal.
5. Amy G.L., Bryant C. W., Aueman B. C. and Barkley W. A. 1988. Biosorption of organic halide in a kraft mill generated lagoon. *J. Wat. Pollut. Control Fed.* 60: 1445-1453.
6. Argaman Y. 1991. Chemical reaction engineering and activated sludge. *Wat. Res.* 26: 209-212.
7. ATSDR. 1992. Public Health Assessment Guidance Manual. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. U.S. Department of Health and Human Services. Atlanta Georgia. Lewis Publishers. Boca Raton, Florida.
8. ATSDR. 1994. Toxicological profile for 4,4'-DDT, 4,4'-DDE, and 4, 4'-DDD. Agency for Toxic Substances and Diseases Registry. US Public Health Service. Atlanta, GA.



9. Bandala E.R. 1998. Análisis de plaguicidas clorados en muestras. 3: 36-40.
10. Baptista-Leite C.B 2002. Contaminación de agua y suelos. II curso internacional de aspectos geológicos de protección ambiental. Instituto de Investigaciones Tecnológicas de São Paulo – IPT. p. 209-224.
11. Barber L.B. y Writer J.H. 1998. Impact of the 1993 flood on the distribution of organic contaminants in bed sediments of the upper Mississippi River. *Environ. Sci. Technol.* 32: 2077-2083.
12. Bell J.P., Tsezos M. 1987. Removal of hazardous organic pollutants by adsorption on microbial biomass. *Water Science and Technology.* 19: 409-416.
13. Benoit P., Barriuso E., Calvet R. 1998. Biosorption characterization of herbicides, 2,4-D and atrazine, and two chlorophenols on fungal mycelium. *Chemosphere.* 37: 1271-1282.
14. Bridle T.R. 1982. The impact of hazardous organics on sludge management and disposal. Presented at the PCAO/MOE Seminar on Hazardous Substances in Wastewaters, Toronto.
15. Burkhart, C.A. y C.N. Burkhart. 2000. “Melanoma and Insecticides: Is There a Connection?” *J. Am. Acad. Dermatol.* 42: 302-303.
16. Calle E.E.; H. Frumkin; S.J. Henley; D.A. Savitz, y M.J. Thun. 2002. “Organochlorines and Breast Cancer Risk”, *Cancer J Clin.* 52 (5): 301-309.
17. Cámara-Duran O.A. 1992. Biología molecular y metabolismo de degradación de suelos contaminados con pesticidas. *ITSON-DIEP.* 1 (3): 47-64.

18. Cámara-Duran O.A. 1993. Efecto del uso del agua y agroquímicos, sobre la calidad del agua en el Valle del Yaqui. ITSON-DIEP. 1 (4): 50-65.
19. Carrillo-Pérez E., A. Ruiz-Manríquez y H. Yeomans-Reina. 2004. Aislamiento, identificación y evaluación de un cultivo mixto de microorganismos con capacidad para degradar DDT. Revista Internacional de Contaminación Ambiental. 20 (2): 69-75.
20. Casserly D.M., Davis E.M., Downs T.D. and Guthrie R.K. 1983. Sorption of organics by *Selenastrum capricornutum*. War. Res. 17: 1591-1594.
21. Castro T.F. y Yoshida T. 1971. Degradation of organochlorine insecticides in flooded soils in the Philippines. J. Agr. Food Chem. 19: 1168-1170.
22. Cebrián M.E. 1998. Efectos de los plaguicidas sobre la función reproductiva humana: una asignatura pendiente. Avance y Perspectiva. 17: 205-213.
23. Dechow F.J. 1989. Separation and purification techniques in biotechnology. Noyes Publications. Park Ridge, N.J., U.S.A.
24. Demain A.L. and Solomon N.A. (Ed.). 1986. Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology. Ed. American Society for Microbiology. Washington, D.C. p. 269.
25. Derache R. 1990. Toxicología y seguridad de los alimentos. Ediciones Omega, S.A. Barcelona.
26. Egli, T.W. 1974. General Strategies in the biodegradation of pollutant: in metal ions in biological systems. Ed. Dekker, Inc. New Cork. 28: 1-37.

27. Eichelberger J.W. y Lichtenberg J.J. 1971. Persistence of pesticides in river water. *Environ Sci. Technol.* 5: 541-544.
28. Eriksson G., Jensen S., Kylin H. y Strachan W. 1989. The pine needle as a monitor of atmospheric pollution. *Nature.* 341: 42-44.
29. Extoxnet. 1999. DDT. Extension Toxicology Network. Oregon State University. <http://ace.ace.orst.edu/cgi-bin/mfs/01/pips/ddt.htm>
30. Fisher S.W. 1995. Mechanisms of bioaccumulation in aquatic systems. *Rev Environ Contam. Toxicol.* 142: 87-117.
31. Fleming, L.E.; J.A. Bean; M. Rudolph y K. Hamilton. 1999. Cancer Incidence in a Cohort of Licensed Pesticideapplicators in Florida. *J. Occup. Environ. Med.* 41 (4): 279-295.
32. Fries G.F. 1995. Transport of organic environmental contaminants to animal products. *Rev Environ Contam. Toxicol.* 141: 71-109.
33. García-Bañuelos M.L. y Meza-Montenegro M.M. 1991. Principales vías de contaminación por plaguicidas en neonatos-lactantes residentes en pueblo Yaqui, Sonora, México. *ITSON-DIEP.* 1 (2): 33-42.
34. Göksungur, Y., Üren, S. and Gúvenc U. 2005. Biosorption of cadmium and lead ions by ethanol treated waste baker's yeast biomass. *Biosource Technology.* 96: 103-109.
35. González, R. y Canales A.G. 1995. Contaminación por plaguicidas en el acuífero del Valle del Yaqui. *Agua salud y derechos humanos.* Comisión Nacional de Derechos Humanos. Iván Restrepo Coordinador.

36. González R., Marín L.E. y Córdova G. 1997. Hydrogeology and groundwater pollution of Yaqui Valley, Sonora, México. *Geofísica Internacional*. 36(1): 49-54.
37. Grimes D.J. and Morrison S.M. 1975. Bacterial bioconcentration of chlorinated hydrocarbon insecticides from aqueous systems. *Microb. Ecol.* 2: 43-59.
38. Hayes, W. 1982. *Pesticide Studies in Man*. The Wilkins and Wilkins Co., Baltimore.
39. Hazardous Substances Data Bank. 1999. DDT.
40. Hill, I.R. 1985. Effects on non-target organisms in terrestrial and aquatic environments. The pyrethroid insecticides. Taylor and Francis, London. p. 151-238.
41. Hong H-B, Hwang S-H, Chang Y-S. 2000. Biosorption of 1,2,3,4-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin and polychlorinated dibenzofurans by *Bacillus pumilus*. *Water Research*. 34: 349-353.
42. House W.A., Ziqing O. 1992. Determination of pesticides on suspended solids and sediments: Investigations on the handling and separation. *Chemosphere*, 24 (7): 819-832. Germany.
43. INEGI (Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática). 1995. *Estadísticas del Medio Ambiente México 1994*. p. 231-235. Aguascalientes, Ags.
44. Jensen S., Eriksson G. y Kylin H. 1992. Atmospheric pollution by persistent organic compounds: monitoring with pine needles. *Chemosphere*. 24: 229-245.

45. Ju Y-H. 1997. A study on the biosorption of lindane. *Colloids Surf B*. 9: 187-196.
46. Juengst F.W. and Alexander M. 1976. Conversion of 1,1,1-Trichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethane (DDT) to Water-Soluble Products by Microorganisms. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 24 (1): 111-115.
47. Juhasz A.L.; Ravendra N. 2000. Extraction and recovery of organochlorine pesticides from fungal mycelia. *Journal of Microbiological Methods*. 39: 149-158.
48. Juhasz A.L.; Smith E. and Naidu R.. 2002. Biosorption of organochlorine pesticides using fungal biomass. *Journal of Industrial Microbiology & Technology*. 29: 163-169.
49. Juhasz A.L.; E. Smith; J. Smith; R. Naidu. 2003. *In situ* remediation of DDT-contaminated soil using a two phase cosolvent flushing-fungal biosorption process. *Water, Air, and Soil Pollution*. 147: 263-274.
50. Kucklick J.R. y Baker J.E. 1998. Organochlorines in Lake Superior's food web. *Environ. Sci. Technol*. 32: 1192-1198.
51. Kuroda, K. and Ueda, M. 2003. Bioadsorption of cadmium ion by cell surface-engineered yeast displaying metallothionein and hexa-His. *App. Microbiol. Biotechnol*. 63: 182-186.
52. La Grega M.D., Buckinham P.L. y Evans J.C. Gestión de residuos tóxicos. Tratamiento, eliminación y recuperación de suelos. v. 1. 1ª ed. McGraw.Hill, Inc.

53. Lièvreumont D., Seigle-murandi F., Benoit-guyod J-L. 1998. Removal of PCNB from aqueous solution by a fungal adsorption process. *Water Research*. 32: 3601-3606.
54. López-Carrillo, L., Torres-Arreola L., Torres-Sánchez, L., Espinosa-Torres, F., Jiménez, C., Cebrián, M., Waliszewski, S. y Saldate, O. 1996. Is DDT Use a Public Health Problem in Mexico? *Environmental Health Perspective*. 104 (6): 584.
55. Mackay D. 1991. *Multimedia Environmental Model: The Fugacity Approach*. Lewis, Chelsea, Mich.
56. Manacorda A.M. y Cuadros D. 2005. *Microbiología Ambiental. Técnicas de Remediación Biológicas*. p. 1-21.
57. Mitra J. y Raghu K. 1998. Long term DDT pollution in tropical soils: effect of DDT and degradation products on soil microbial activities leading to soil fertility. *Bull Environ Contam. Toxicol*. 60: 585-591.
58. Organización Mundial de la Salud (OMS). 1992. Empleo inocuo de plaguicidas. Noveno informe del Comité de Expertos en Biología de los Vectores y Lucha Antivectorial. Ginebra. (OMS, serie de Informes Técnicos, Núm. 720).
59. Organización Panamericana de la Salud (OPS)/OMS. 1993. *Plaguicidas y salud en las Américas*. Washington, D. C.
60. Organización Panamericana de la Salud (OPS)/OMS. 2001. *Plaguicidas y salud. Sección Especial Masica Review. "Pesticide Free. Central America Attempts to Revert Indiscriminate Use"*. San José, Costa Rica.

61. Organización Panamericana de la Salud (OPS). 2002. "Situación epidemiológica de las intoxicaciones agudas por plaguicidas en el istmo centroamericano, 1992-2000". Boletín Epidemiológico. 23 (3): 7-22.
62. Ortega-Ceseña J., Espinosa-Torres F., López-Carrillo L. 1994. El control de los riesgos para la salud generados por los plaguicidas organofosforados en México: retos ante el Tratado de Libre Comercio. Salud Pública de México. 36(6).
63. Ortiz-Hernández M.L., Sánchez-Salinas E., Vázquez-Duhalt R. y Quintero-Ramírez R. 1997. Plaguicidas organofosforados y ambiente. 2 (3): 129-151.
64. Palmieri, M.C., Garcia, O. Jr. y Melnikov, P. 2000. Neodymium Biosorption from Acidic Solutions in Batch System. Process Biochemistry. 36: 441-444.
65. Patterson J.W. and Kodukala P.S. 1981. Biodegradation of hazardous organic pollutants. Chem. Engng. Prog. 77: 48.
66. Petrasek A.C., Kugelman I.J., Austern B.M., Pressley T.A., Winslow L.A. and Wise R.H. 1983. Fate of toxic organic compounds in wastewater treatment plants. J. War. Pollut. Control Fed. 55: 1286.
67. Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD). Unión Europea. 2000. Estado de la región en desarrollo. Séptimo informe. San José, Costa Rica.
68. Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUMA)/OMS. 1992. Consecuencias sanitarias del empleo de plaguicidas en la agricultura. Organización Mundial de la Salud, Ginebra.

69. Prytula M.T. y Pavlostathis S.G. 1996. Effect of contaminant and organic matter bioavailability on the microbial dehalogenation of sediment-bound chlorobenzenes. *Wat .Res.* 30: 2669-2680.
70. Pujol R. and Canler J.P. 1992. Biosorption and dynamics of bacterial populations in activated sludge. *Wat. Res.* 26: 209-212.
71. Quraishi M.S. 1977. Biochemical insect control. It's impact on economy, environmental, and natural selection. John Wiley & Sons. New Cork, NY. R.
72. Reigart, J. y J. Roberts 1999. Recognition and Management of Pesticide Poisonings. EPA, 5a ed. Atlanta.
73. Richins R.D., Kaneva I., Mulchandani A. y Chen W. 1997. Biodegradation of organophosphorous hydrolase. *Nature Biotechnology.* 15: 984-987.
74. Ritter L., Solomon K.R., Forget J., Stemeroff M. y Leary C.O. 1995. Persistent organic pollutants. An assessment report on: DDT, aldrin, dieldrin, endrin, chlordane, heptachlor, hexachlorobenzene, mirex, toxaphene, polychlorinated biphenyls, dioxins and furans. International Program on Chemical Safety.
75. Romero, M., Dorea J. y Granja A. 2000. "Concentrations of Organochlorine Pesticide in Milk of Nicaragua Mothers", *Arch. Environ. Health.* 55 (4): 274-278.
76. Schinas, V., Leotsinidis M., Alexopoulos A., Tsapanos V y Kondakis X.G. 2000. "Organochlorine Pesticide Residues in Human Breast Milk from Southwest Greece: Associations with Weekly Food Consumptions Patterns of Mothers", *Arch Environ Health.* 55 (6): 411-417.



77. Smet B.F. and Rittmann B.E. 1990. Sorption equilibria for trichloroethene on algae. *Wat. Res.* 24: 355-360.
78. Steen W.C. and Karickhoff S. 1981. Biosorption of hydrophobic organic pollutants by mixed microbial populations. *Chemosphere.* 10: 27-32.
79. Strachan W., Eriksson G., Kylin H. y Jensen S. 1994. Organochlorine compounds in pine needles: methods and trends. *Environ. Toxicol. Chem.* 13: 443-451.
80. Suntio L.R., Shiu W.Y., Mackay D., Seiber J.N. y Glotfelty D. 1988. Critical review of Henry's law constants for pesticides. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 103: 1-59.
81. Tsezos M. and Volesky B. 1982. The mechanism of uranium biosorption by *Rhizopus arrhizus*. *Biotechnol. Bioengng.* 24: 385.
82. Tsezos M. 1983. The role of chitin in uranium adsorption by *R. arrhizus*. *Biotechnol. Bioengng.* 25: 2025.
83. Tsezos M. and Bell J.P. 1988. Significance of biosorption for the hazardous organics removal efficiency of a biological reactor. *Wat. Res.* 22: 391-394.
84. Tsezos M., Bell J.P. 1989. Comparison of the biosorption and desorption of hazardous organic pollutants by live and dead biomass. *Water Research.* 23: 561-568.
85. United Nations Environment Program (UNEP). 1987. "The State of the World Environment", UNEP, Nairobi, Kenya.

86. Volesky, B. 2004. Sorption and biosorption. (BV-Sorbex, Inc., St.Lambert, Quebec). p. 326
87. Waliszewski, S.M., Bermudez M.T., Silva C.S., Infanzon R.M., Carvajal O., Gomez-Arroyo S., Villalobos-Pietrini R.I., Trujillo P., Saldana V., Melo G., Esquivel S., Castro F., Ocampo H., Torres, J., Hayward-Jones P.M. 2005. Persistent organochlorine pesticide levels in breast adipose tissue in women with malignant and benign breast tumors. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 21 (3): 133-142.
88. Waliszewski S.M., Gómez-Arroyo S., Carvajal O., Villalobos-Pietrini R.I. e Infanzón R.M. 2004. Uso del ácido sulfúrico en las determinaciones de plaguicidas organoclorados. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 20 (4) 185-192.
89. Ware G.W. 1998. Pesticides theory and application. ed. W.H. Freeman and Company. San Francisco.
90. Watanabe T. 1998. Determination of the concentration of pesticides in atmosphere at high altitudes after aerial application. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 60: 669-676.
91. Wayland, J. y E. Laws 1991. "Handbook of Pesticide Toxicology", v. 1, General Principles. Academic Press Inc., Boston.
92. Wigle, D. T.; R. M. Semenciw; K. Wilkins; D. Riedel; L. Ritter; H. Morrison y Y. Mao. 1990. "Mortality Study of Canadian Male Farm Operators: Non-Hodgkin's Lymphoma Mortality and Agricultural Practice in Saskatchewan", *J. Nat. Cancer Inst.* 82 (7): 574-575.

93. World Health Organization (WHO)/UNEP. 1990. "Public Health Impact of Pesticides Used in Agriculture". WHO, Ginebra.
94. Yan, G. and Allen, D. G. 1994. Biosorption of High Molecular Weight Organochlorines in Pulp Mill Effluent. *Wat. Res.* 28 (9): 1933-194.
95. Yáñez, L, Ortiz-Pérez D, Batres L.E., Borja-Aburto V.H. y Díaz-Barriga F.. 2002. "Levels of Dichlorodiphenyltrichloroethane and Deltamethrin in Humans and Environmental Samples in Malarious Areas of Mexico". *Environmental Resources.* 88 (3): 174-81.
96. Young E., Banks C.J. 1998. The removal of lindane from aqueous solution using a fungal biosorbent: the influence of pH, temperature, biomass concentration and culture age. *Environmental Technology.* 19: 619-625.
97. Zeng E.Y., Yu C.C. y Tran K. 1999. In situ measurements of chlorinated hydrocarbons in the water column off the Palos Verdes Peninsula, California. *Environ. Sci. Technol.* 33: 392-398.