



INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TUXTLA GUTIÉRREZ

Informe técnico de residencia profesional

INGENIERÍA BIOQUÍMICA

PROYECTO DE RESIDENCIA PROFESIONAL

**“CONCENTRACIÓN MÁXIMA TÓXICA DE BIFENILOS
POLICLORADOS SOBRE LOMBRIZ (*Eisenia foetida*)**

Laboratorio de Biotecnología

FECHA DE INICIO

27/ENERO/2013

FECHA DE TÉRMINO

26/JUNIO/2013

ASESOR INTERNO

Dra. Rocío Meza Gordillo

REVISORES

Dr. Humberto Castañón González

Dr. Federico Gutiérrez Miceli

PRESENTA

Gutiérrez Martínez Zaila Jaffellet

NÚMERO DE CONTROL

08270015

Tuxtla Gutiérrez Chiapas a 26 de junio del 2013

INDICE

I. INTRODUCCIÓN	3
II.- JUSTIFICACIÓN	4
III.- OBJETIVOS	5
3.1.- OBJETIVO GENERAL	5
3.2.- OBJETIVOS ESPECÍFICOS	5
IV.- CARACTERIZACIÓN DEL ÁREA	6
V.-PROBLEMÁTICA A RESOLVER	6
VI.-ALCANCES Y LIMITACIONES	6
6.1 ALCANCES	6
6.2 LIMITACIONES	7
VII.-FUNDAMENTO TEÓRICO	7
7.1 BIFENILOS POLICLORADOS	7
7.2 PELIGROSIDAD DE LOS BPC	8
7.3 ELIMINACIÓN DE BPC'S	10
VIII.-PROCEDIMIENTO Y DESCRIPCIÓN DE ACTIVIDADES REALIZADAS	11
8.1 Adición y homogenización del Decaclorobifenilo	11
8.1.1.- Adición de lombrices al Sistema	11
8.2.- Preparación de la muestra para la cuantificación de BPC's en el sustrato	11
8.3 Preparación de la muestra para la cuantificación de BPC's en la lombriz	12
IX.- RESULTADOS	13
X.- DISCUSIÓN	15
XI.- CONCLUSIÓN	17
XII.- RECOMENDACIONES	17
XIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	18

I. INTRODUCCIÓN

Los **policlorobifenilos (BPC)** o **bifenilos policlorados** son una serie de compuestos organoclorados, presentan desde aspecto aceitoso hasta resinas duras y transparentes o cristales blancos, dependiendo del grado de cloración de la molécula. Casi siempre se presentan como mezclas. (Ruíz, 2003).

Los BPC's fueron manufacturados como Aroclors (USA), Kanechlors (Japón), y Sovols (Unión Soviética Rusa). Su producción fue prohibida en 1976 por el Congreso de Estados Unidos de Control de Sustancia Tóxicas Ac, (TSCA) debido a sus efectos adversos en la salud y en el medio ambiente. (Ruíz, 2003).

Por sus características anti-inflamables, la mayoría de los aceites dieléctricos con BPC's se usaron fundamentalmente en áreas con alto riesgo de incendio, tales como plantas industriales, en transporte colectivo de tracción eléctrica (tranvías) y en la industria petroquímica, específicamente en: transformadores eléctricos, condensadores de alta y baja tensión, electromagnéticos, interruptores automáticos de media y alta tensión, reguladores de tensión, motores eléctricos refrigerados con líquido, cables eléctricos con óleo, fluidos, aislantes, balastos de lámparas fluorescentes, sistemas hidráulicos y lubricantes en equipos de minas y barcos, plaguicidas, y algunos agroquímicos. (Ruíz, 2003).

Su distribución en el medio ambiente es muy grande debido a que se encuentra en niveles residuales en peces, entre otras especies acuáticas, y terrestres, incluyendo a los seres humanos, esta contaminación con BPC's se debe a que su uso ha sido prohibido a nivel mundial y fueron desechados en cualquier área ocasionando lo antes mencionado. Los intentos para lograr la eliminación de BPC's han contribuido a que se distribuyan en todo el medio ambiente provocando un problema en el medio ambiente. (Ruíz, 2003).

Para la degradación de los BPC's existe un método orgánico y biológico, utilizando lombrices de tierra, los que han sido hasta hoy organismos primordiales para lograr que se degrade la materia orgánica, dichos organismos se encuentran ampliamente distribuidos en el suelo, por lo que los investigadores han estudiado y demostrado que las lombrices pueden adaptarse a cualquier medio, y bio acumular BPC's en diferentes concentraciones esto puede deberse a las enzimas que dichos microorganismos tienen que les da la capacidad de degradar compuestos, materias orgánicas entre otros. (Ruíz, 2003).

II.- JUSTIFICACIÓN

Las lombrices de tierra son los organismos primordiales utilizados en la descomposición de materia orgánica vegetal, sus poblaciones aumentan en relación a la disponibilidad de la materia orgánica. Debido a su amplia presencia en el suelo, son consideradas organismos muy útiles para la evaluación de la contaminación del suelo, algunos residuos químicos pueden bioacumularse en estos organismos y se pueden distribuir a los tejidos de otros animales, también se tiene preocupación por el destino de la larga duración como contaminantes como las dioxinas y los BPC's, en este caso los BPC's son tóxicos y tienen la propiedad de causar cáncer es por eso que se está utilizando el medio orgánico, utilizando concentraciones de 100ppm, 150ppm, 200ppm y 1000ppm pero han resistido dichas concentraciones lo que indica que habría que estudiar más a fondo que es lo que hace más capaces a las lombrices de degradar dicho contaminante.

Las lombrices tienen un papel en la vigilancia biológica, ya que los xenobióticos químicos pueden bioacumularse o bioconcentrarse, y esa cualidad sirve para medir los niveles de metales pesados y compuestos orgánicos persistentes (Tharakan, 2005).



III.- OBJETIVOS

3.1.- OBJETIVO GENERAL

Evaluar la concentración máxima tóxica de bifenilos policlorados presentes en lombriz (*Eisenia foetida*).

3.2- OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ◆ Evaluar el efecto que tienen los BPC'S sobre las lombrices.
- ◆ Montar un sistema de vermicomposta.
- ◆ Evaluar el efecto del sistema de vermicomposteo sobre las diferentes concentraciones de los BPC'S mediante cromatografía de gases.

IV.- CARACTERIZACIÓN DEL ÁREA

El proyecto se llevó a cabo en el laboratorio de biotecnología, localizado en el Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, ubicado en Carretera Panamericana Km 1080.

El Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez es una institución dedicada a formar de manera integral profesionistas de excelencia en el campo de la ciencia y la tecnología con actitud emprendedora; respeto al medio ambiente y apego a los valores éticos, así como también es una institución de excelencia en la educación superior tecnológica del sureste, comprendida con el desarrollo socioeconómico sustentable de la región, siendo una de las más importantes del estado de Chiapas.

El laboratorio de biotecnología cuenta con tres áreas: siembra, preparación de soluciones y pesado de reactivos y muestras. Así también, cuenta con 4 equipos Kjeldahl, un rotavapor, dos campanas de extracción, una balanza analítica, un espectrofotómetro, una agitadora magnética, dos autoclaves, dos bombas de vacío y tres centrífugas.

Preparación de materia: Se ajustó un área de lombricultura, en donde se realizan labores de mantenimiento de las lombrices para su crecimiento y reproducción, las cuales se hallan en recipientes hechos especialmente para la reproducción de las mismas, esta área se halla en el edificio N de la misma institución.

V.-PROBLEMÁTICA A RESOLVER

Este proyecto tuvo la finalidad de determinar la concentración máxima tóxica de bifenilos policlorados sobre lombriz (*Eisenia foetida*), evaluando diferentes concentraciones de BPC's.

Se realizó la determinación por cromatografía de gases la concentración de BPC's después de haber sido agregados a un sistema de vermicomposteo, para evaluar el sistema para su degradación.

VI.-ALCANCES Y LIMITACIONES

6.1 ALCANCES.

Se observó la degradación de BPC's, esto se hizo por medio de cromatografía de gases acoplado a espectrofotometría de masas.

Se utilizó el equipo SOXHLET para la extracción de grasas de la muestra de lombrices, y se evaluó el método de extracción.

6.2 LIMITACIONES.

Por falta de solvente no se logró determinar completamente la concentración de contaminante en las muestras de lombriz con la concentración de 1000 ppm. Además, no se pudo determinar la concentración máxima tóxica debido a que a 1000 ppm y después del experimento, las lombrices se mantienen viables. Tampoco se terminó de realizar la cuantificación de BPC de la muestra obtenida mediante el método Soxhlet por falta de disolvente.

VII.-FUNDAMENTO TEÓRICO

7.1 BIFENILOS POLICLORADOS

Los bifenilos policlorados, son mezclas de hidrocarburos clorados que se han utilizado intensamente desde 1930, en una variedad de usos industriales, incluyendo transformadores y condensadores, en líquidos para intercambio de calor, como aditivos en pinturas, como sellantes en la construcción, en papel de copia y plásticos. Las múltiples aplicaciones industriales de los bifenilos policlorados se deben a que son químicamente muy inertes, resisten al calor, no arden fácilmente, son poco volátiles, y tienen una alta constante dieléctrica y en consecuencia son poco conductores.

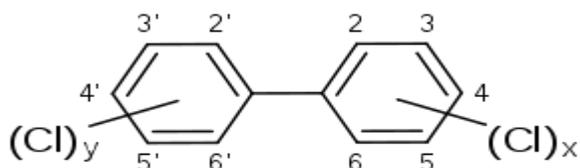


Figura 1.

Existen 209 isómeros de bifenilos policlorados desde los isómeros monoclorados hasta el isómero con 10 átomos de cloro. En general, la solubilidad y la presión de vapor disminuyen al aumentar el número de posiciones cloradas. Los bifenilos policlorados en el medio se asocian con los componentes orgánicos del suelo, en sedimentos en la materia orgánica en suspensión y en tejidos biológicos. Los Policlorobifenilos se volatilizan de la superficie del agua a pesar de su baja presión de vapor, en parte debido a que son hidrofóbicos y en consecuencia, el transporte atmosférico es un componente importante en su distribución en el medio.

La persistencia en el medio de los bifenilos policlorados depende mucho del grado de cloración y aumenta con éste, puede oscilar entre unos pocos días para bifenilos monoclorados sometidos a foto degradación a años, décadas o más para bifenilos más clorados y en entornos menos reactivos.

Los bifenilos policlorados son compuestos con alto punto de ebullición, por lo que son bastante resistentes al calor; son difícilmente oxidables, siendo muy estables químicamente; no conducen electricidad y tienen baja volatilidad a temperaturas normales. No son hidrolizables y debido a la presencia de cloro en su composición, tienen elevados puntos de inflamación y al mezclarse con otros compuestos pueden modificar sus propiedades físicas, químicas y mecánicas. Estas propiedades de los BPC los hicieron ideales para la elaboración de una gama muy amplia de productos industriales y de consumo, habiendo encontrado en la industria eléctrica su principal aplicación. Por su elevada permitividad eléctrica que regula la tendencia del material a polarizarse, estabilidad química y resistencia intrínseca al fuego, fueron utilizadas mayormente en transformadores y en capacitores, incluyendo balastos para lámparas fluorescentes. Al uso de BPC en este tipo de equipos se le conoce como uso o aplicación en sistemas cerrados o no dispersivos.

Algunas de sus características son: Líquidos viscosos, amarillentos, con fuerte olor a hidrocarburo, alta capacidad calorífica, inertes a las acción de todos los ácidos y las bases conocidas.

7.2 PELIGROSIDAD DE LOS BPC

Por sus propiedades físicas, con los años se incrementó el número de usos de los bifenilos policlorados en los que se denominan sistemas abiertos o dispersivos, incluyendo el uso como fluidos de transferencia de calor e hidráulicos; aceites lubricantes y de corte; hule, asfalto, como plastificantes en la formulación de productos poliméricos, pinturas, adhesivos, papel copia sin carbón, aceite de inmersión para microscopios y selladores en la industria de la construcción, entre otras aplicaciones. Por sus características no inflamables, la mayoría de los aceites dieléctricos con BPC se usaron fundamentalmente en lugares con riesgo alto de incendio, tales como en plantas industriales, industria petroquímica y en los sistemas de transporte colectivo de tracción eléctrica, como el Metro y los tranvías.

Por lo general, debido a su alta viscosidad, para utilizarlos en transformadores y otros equipos eléctricos, se mezclaban los BPC con triclorobenceno.

Casi inmediatamente después del inicio de la síntesis de los bifenilos policlorados en el laboratorio, se tuvieron evidencias de la peligrosidad de este tipo de compuestos para la salud humana. En 1899, se identificó una condición patológica de la piel denominada cloracné, una desfiguración dolorosa de la piel que afectaba al personal ocupacionalmente expuesto a compuestos orgánicos clorados. (Ruíz, 2003)

Los bifenilos policlorados son considerados probables carcinógenos humanos por la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC) de la OMS y están incluidos en la categoría "2A"; en tanto que la Agencia para la Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA, por sus siglas en inglés), ha demostrado que los BPC causan cáncer en animales, por ello los ubica en la categoría B2, la cual resulta equivalente a la 2A de la IARC8. Se ha detectado también, que los BPC ocasionan efectos no cancerígenos tales como afectación del sistema inmunológico, del sistema reproductivo, del sistema nervioso, del sistema endocrino y otros efectos en la salud. Los diferentes efectos crónicos a la salud de los BPC pueden estar interrelacionados, puesto que las alteraciones en un sistema pueden tener implicaciones importantes en otros sistemas del organismo humano.

La primera acción gubernamental internacional la emprendió la OCDE en 1973 al emitir la Decisión del Consejo para la protección del ambiente, por la que se requería a sus países miembros a limitar el uso de BPC en aplicaciones "abiertas" y a desarrollar mecanismos para su control. Por su parte, de acuerdo con la EPA, el Congreso de los Estados Unidos en respuesta a la creciente preocupación por los peligros asociados al uso de bifenilospoliclorados y de otros tóxicos, aprobó en 1976 el ToxicSubstances Control Act, TASCAs, en cuya sección. se estableció la prohibición para manufacturar, procesar y distribuir comercialmente los BPC. El TASCAs reglamentó el control "desde la cuna hasta la tumba", es decir, desde su generación hasta su disposición final, de los BPC en los Estados Unidos. La producción de bifenilospoliclorados cesó totalmente en el Reino Unido en 1978 y en los EE.UU. en 1979. Sin embargo, la producción de BPC a gran escala continuó en otras partes del mundo hasta mediados de la década de 1980 (Ruíz, 2003)

En 1995, la Convención de Barcelona sobre Protección del Mar Mediterráneo contra la Contaminación, determinó reducir para el año 2005 las descargas marinas de COP a niveles inofensivos a la salud y a la naturaleza. En ese mismo año, Suecia prohibió el uso de equipo que contuviera BPC. En Noviembre de 1995, como resultado de la Decisión del Consejo 18/32 del PNUMA16, se emitió la Declaración de Washington, firmada por 100 países, acordando un programa mundial de acción para eliminar los COP incluyendo los BPC. Al año siguiente, la Unión Europea adoptó la Directiva EC96/59, llamando a la eliminación de BPC y a su desfasamiento total para el 2010.

Finalmente, con el consenso de 122 países, en mayo del 2001 se adoptó el Convenio de Estocolmo17 sobre contaminantes orgánicos persistentes con el objeto de lograr su eliminación y la minimización de su producción y uso.

México no está exento de la problemática ambiental y de salud que representan los bifenilospoliclorados que aún están presentes en el país, ni de los riesgos que representa el transporte intercontinental de BPC liberados en otras partes del mundo. Consecuentemente, su control debe ser una prioridad de política ambiental.

7.3 ELIMINACIÓN DE BPC'S

Desde la determinación de la toxicidad y de los efectos nocivos de los BPC's sobre el ambiente, han surgido numerosas investigaciones que lleven a la destrucción de estos compuestos, de una manera efectiva y económicamente viable. Se han encontrado diversos métodos de tratamiento de BPC's, e incluso se han constituido empresas dedicadas a la eliminación de estos desechos, y otras ya existentes han diseñado y construido plantas de tratamiento, como el caso de *ShanksWasteSolutions* en Inglaterra, *AcurexWaste Technologies* en Estados Unidos, *Dow ChemicalCompany* en Estados Unidos, entre otras. Sin embargo, ninguno de ellos se ha posicionado como la mejor alternativa en todos los sentidos.

La *Eisenia foetida* es ideal para la lombricultura por las siguientes razones: Los individuos de esta especie son capaces de colonizar una gran cantidad de residuos orgánicos, toleran amplios rangos de temperatura (18-25°C) y humedad (70- 80 %), tienen una alta tasa reproductora, con lo que manteniendo las condiciones adecuadas en poco tiempo multiplicaremos su número y así la cantidad de materia orgánica que son capaces de realizar la composta.

Las lombrices son hermafroditas y es indispensable que haya dos individuos para la reproducción. Alcanza su madurez sexual a los 3 meses de edad. Una vez cumplido este periodo ya está en condiciones de aparearse. Se reproduce con un periodo de 7 días, durante el cual pueden permanecer inmóviles hasta 10-15 minutos que dura el apareamiento (ambiente, 2006).

Las lombrices son organismos claves en la descomposición de la materia orgánica vegetal, sus poblaciones se expanden en relación a la disponibilidad de materia orgánica. Debido a su amplia distribución y la importancia en los sistemas de suelos, son considerados como organismos muy útiles para evaluar la contaminación del medio ambiente del suelo. Residuos de productos químicos pueden bioacumularse en las lombrices de tierra y pueden ser distribuidos por ellos a los tejidos de los animales en niveles tróficos superiores dentro de la red de alimentación, por ello la preocupación de contaminantes como las dioxinas y BPC's, ya que estos xenobióticos pueden bioacumularse y concentrarse.

Las lombrices actúan como un aireador, molino, triturador, degradador químico, estimulador biológico y degradador de residuos mediante múltiples acciones.

VIII.-PROCEDIMIENTO Y DESCRIPCIÓN DE ACTIVIDADES REALIZADAS.

Se acondicionó un área de lombricultura, en donde se realizan labores de mantenimiento de las lombrices para su crecimiento y reproducción, las cuales se encuentran en recipientes hechos especialmente para la reproducción de las mismas, esta área está en el edificio N de la misma institución

8.1 Adición y homogenización del Decaclorobifenilo.

A cada unidad experimental se le agregó 1.5 mL del decaclorobifenilo disuelto en el pentano, homogenizando enseguida, y dejándolo un día para que se evapore el pentano en la campana de extracción para que al otro día se agregaron las lombrices.

8.1.1.- Adición de lombrices al Sistema.

Se introdujeron pesando previamente 3 lombrices en cada frasco conteniendo el sustrato húmedo, incubándolos a temperatura ambiente y manteniendo la humedad entre un 70-80%. Cada frasco tenía pentano y contaminante BPC's.

Se efectuó muestreo a los días 28 y 91 días con un total de 8 unidades experimentales.

Las variables de respuesta fueron:

- ◆ El peso final de las lombrices.
- ◆ El número final de las lombrices y presencia de huevecillos.
- ◆ Concentración de BPC's en las lombrices.
- ◆ Concentración de BPC's en el sustrato.

8.2.- Preparación de la muestra para la cuantificación de BPC's en el sustrato.

1.- A cada unidad experimental se le extrajo las lombrices para posteriormente limpiarlas cuidadosamente con una servitoalla para evitar que le quedaran los restos de tierra en su cuerpo, se pesaron, enseguida separaron y cuantificaron el número de crías, huevecillos, después se guardaron en un frasco bien tapado, y se dejaron 24 horas en la incubadora.

2.- La tierra que sobró se agregó en platos grandes y se metió a la estufa a secar durante 24 horas, posteriormente se pesaron 7.5 gramos de cada unidad experimental y se añadieron a los tubos falcón (2 tubos por cada frasco). A cada tubo se le adicionaron 20 mL de pentano al 98%, se mezclaron en vortex por 5 minutos, a

continuación se sonicaron por 40 minutos y después se centrifugaron por 15 minutos a 4000 rpm, el sobrenadante se colocó en un tubo Falcón de 50 mL y se repitió el procedimiento dos veces más, agregando el sobrenadante final a un tubo de 50 mL. El sobrenadante resultante se dejó evaporar por una campana de extracción por 48 horas, pasado este tiempo se almacenó para posteriormente analizarlo por cromatografía.

8.3 Preparación de la muestra para la cuantificación de BPC's en la lombriz.

Después de haber transcurridos las 24 horas de incubación de las lombrices, fueron colocadas en el mortero, se les añadió nitrógeno líquido para congelarlas y enseguida fueron trituradas, agregándoles sulfato anhidro de sodio para eliminar por completo la humedad de las lombrices logrando con esto que la muestra estuviera más uniforme y compacta. La muestra resultante se agregó en tubos falcón de 50 mL, agregándoles a cada uno 10 mL de pentano al 98%, se mezclaron en el vortex por 5 minutos, se sonicaron por 40 minutos, posteriormente se centrifugaron por 15 minutos a 4000 rpm a 25°C.

El sobrenadante se colocó en tubos Falcón de 50mL, repitiéndose esta actividad dos veces más. El sobrenadante resultante se dejó evaporar por una campana de extracción por 48 horas, pasado este tiempo se guardó para posteriormente analizarlo por cromatografía.

IX.- RESULTADOS.

Tabla1.- PESOS INICIALES DEL 18 DE FEBRERO DEL 2013

PESO	MEDIA
0.38	0.293333333
0.14	
0.36	
0.3	0.276666667
0.29	
0.24	
0.21	0.236666667
0.21	
0.29	
0.26	0.22
0.24	
0.16	
0.22	0.206666667
0.2	
0.2	
0.23	0.24
0.22	
0.27	
0.18	0.213333333
0.24	
0.22	
0.22	0.196666667
0.22	
0.15	

Tabla 2.- PRIMER MUESTREO 18 DE MARZO DEL 2013

PESO INICIAL(g)	PESO FINAL(g)	NUM.INICIAL DE LOMBRIZ	NUM.DE LOMBRICES FINAL	HUEVECILLOS	CRIAS	% BIOMASA
0.29	1.2202	3	3	5	0	421%
0.28	0.8651	3	3	0	0	309%
0.23	1.21	3	3	11	0	526%
0.22	0.6521	3	3	0	0	296%
					X	388%
					σ	1.077621

Tabla 3.-SEGUNDO MUESTREO 17 DE MAYO DEL 2013

PESO INICIAL(g)	PESO FINAL(g)	NUM.INICIAL DE LOMBRIZ	NUM.DE LOMBRICES FINAL	HUEVECILLOS	CRIAS	% BIOMASA
0.21	0.87	3	3	0	2 crías	414%
0.24	0.85	3	3	1	3 crías	354%
0.21	0.71	3	3	0	0	338%
0.19	0.59	3	3	1	0	310%
X						354%
σ						0.439394

Tabla 4.- Porcentaje de biomasa

DIAS	% BIOMASA	NUM.HUEVECILLOS	CRIAS	% SOBREVIVENCIA
30	496%	16	0	100%
91	310%	16	0	100%
30	398%	2	5	100%
91	280%	2	5	100%

X.- DISCUSIÓN.

De acuerdo al tipo de compuestos identificados en la lombriz *Eisenia foetida*, muestra que contiene microorganismos nativos capaces de degradar hidrocarburos, pero si las lombrices se agregan al suelo, mejoran la aireación y estimulan la actividad microbiana, aumentando así la biodegradación; sin embargo pocos estudios han demostrado el uso de bio sólidos y vermicomposteo para remediar suelos contaminados con hidrocarburos aromáticos cíclicos (Contreras-Ramos et al 2006).

Por ello se considera que los microorganismos contenidos en la lombriz han desarrollado mecanismos para la degradación de BPC's, en este sentido puede hablar de ciclos biogeoquímicos de BPC's; es bien conocido numerosas bacterias que pueden degradar BPC's bajo condiciones anaeróbicas -aerobias (Tharakan, 2004).

En otros casos el contaminante puede servir a los microorganismos como una fuente de uno o más elementos esenciales para su crecimiento (carbono, nitrógeno, fósforo). En este escenario la biodegradación está relacionada con el crecimiento de los microorganismos. Para este tipo de degradación las enzimas son normalmente específicas y, por tanto, la tasa de reacción es mucho más rápida. Además, en tales casos la contaminación nos da una ventaja ecológica a los microorganismos que llevan a cabo el proceso de degradación, pues al hallar una fuente de energía su población irá en aumento y, a su vez se incrementará la tasa de degradación (Arbeli, 2009).

Para la estimulación de la degradación de un contaminante se puede considerar la ruta metabólica de la degradación y sus requerimientos; así como la fisiología de la bacteria que produce la degradación. Entre los factores más importantes encontramos: 1) el papel del contaminante en la reacción, e.g. fuente de carbono, donador de electrones, aceptor final de electrones, inhibidor (como en co-metabolismo); 2) sustratos adicionales de la reacción e.g. oxígeno; 3) el donador y aceptor final de electrones para capturar energía; 4) condiciones óptimas para el crecimiento de los microorganismos que degradan el contaminante (potencial rédox, temperatura, pH, etc.) y 5) las características del sitio contaminado (pH, nutrientes, potencial rédox, temperatura, etc.) (Arbeli, 2009).

La biodisponibilidad de compuestos orgánicos se considera una de las más importantes causas que influyen en la tasa de degradación, además de que la baja disponibilidades considerada como un factor importante que hace a un compuesto recalcitrante (Focht, 2003). Este factor podría limitar tanto la degradación aeróbica como la anaeróbica. Adicionalmente, se considera que la baja disponibilidad es uno de los factores primordiales que explican por qué las metodologías que funcionan en el laboratorio, no funcionan en el campo. En este sentido, la adsorción de compuestos orgánicos al suelo con el tiempo va fortaleciéndose y, por lo tanto, la descontaminación de sitios que fueron contaminados años atrás es más compleja y difícil (Arbeli, 2009).

Lo anterior fundamenta los resultados obtenidos en estos experimentos efectuados en 2 muestreos el primero a los 30 días y el segundo a los 91 días.

En experimento 1: A los 30 días se pudo observar que las lombrices se reprodujeron y adquirieron mayor movilidad en estos primeros días, lo que indica que en este tiempo lograron degradar gran cantidad de los BPC's obteniendo un 496% a 398% de biomasa lo que muestra que hubo mayor cantidad de lombrices durante este tiempo, en la tabla 1 se observa la cantidad de lombrices, crías y huevecillos obtenidos en el primer muestreo.

En el experimento 2: A los 91 días se observó que las lombrices se reprodujeron menos, adquirieron menos peso, lo que indica que a un son resistentes a concentraciones elevadas de BPC's y el porcentaje de biomasa disminuyó de 310% a 280%, en la tabla 2 se observa la cantidad de lombrices, crías y huevecillos obtenidos en el segundo muestreo.

A comparación con los experimentos realizados anteriormente, 100ppm, 150ppm, 200ppm, también se pudo apreciar la resistencia de las lombrices y la disminución de BPC's

Para la comprobación de dichos resultados se calculó la desviación estándar, y los valores fueron pequeños, lo que da a conocer que dichos datos antes mencionados son correctos.

Este por lo consiguiente se obtiene la siguiente grafica obtenida en el Cromatógrafo de gases.

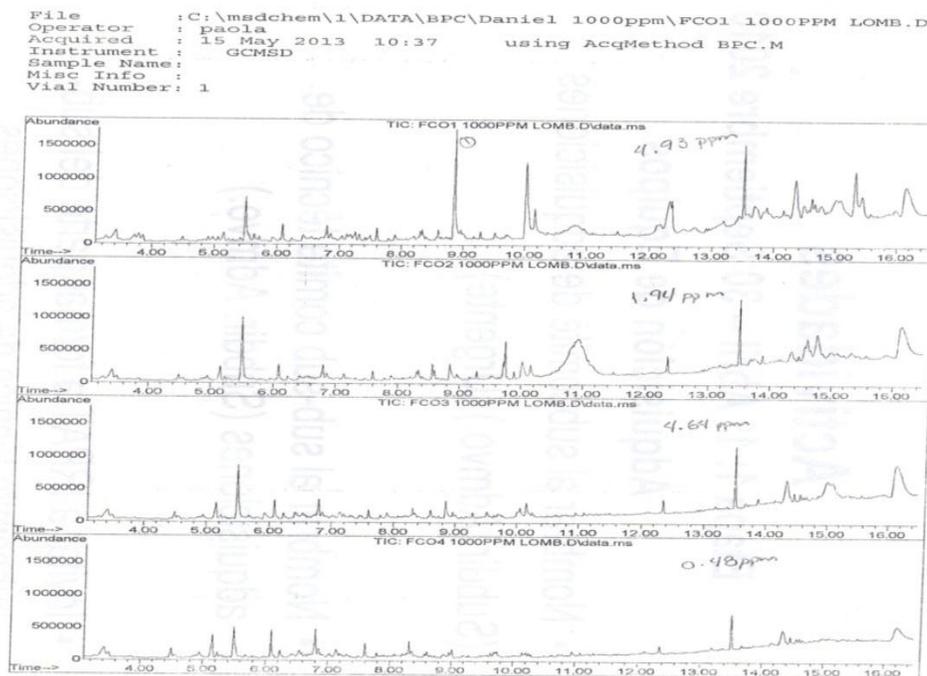


Figura 2.-resultado del análisis efectuado a las muestras de lombriz en el Cromatógrafo (tubo 1, 2, 3,4) se encontró que hay Decaclorobifenilo en la lombriz.

XI.- CONCLUSIÓN.

Se detectó Decaclorobifenilo en bajas concentraciones en las muestras de lombriz que fueron analizadas en el cromatografo de gases.

Por ello se considera que la lombrices de tierra *Eisenia foetida*, son microorganismos extremadamente resistentes conforme se les aplica concentraciones más elevadas de BPC's tienen el potencial para degradar los BPC's, se reproducen en gran cantidad, adquieren movilidad, y engordan.

Lo que indica que aun con la concentración 1000 ppm siguen degradando los BPC's habría que suministrarles concentraciones más elevadas para ver su comportamiento y capacidad de degradar esta concentraciones.

XII.- RECOMENDACIONES

Realizar la cuantificación de BPC en sustrato y lombriz, además de identificar los compuestos de degradación.

XIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Arbeli Ziv. 2009. Biodegradación de compuestos orgánicos persistentes (COP): I. El caso de los Bifenilos policlorados. *Acta biol.*, Vol 14 No, 1, 2009, 55-86.
2. Ambiental, C. p. 2003. Bifenilos Policlorados. Comisión para la Cooperación Ambiental de América del Norte, 2.
3. Ambiente, G. d. 2006. Manual de vermicompostaje Grama. 16.
4. Contreras Ramos S.M, Álvarez Bernal D, Dendooven L. 2006. *Eisenia foetida* increased removal of polycyclic aromatic hydrocarbons from soil. *Environmental Pollution* 141:396-401
5. Cortinas de Nava C. Diagnóstico Nacional de Bifenilos Policlorados en México. Reporte Final. Acosta y Asociados. Proyecto INE-1/01. Diciembre del 2001/ Abril 2003. Preparado para: Instituto Nacional de Ecología No. INE/AD-084/2.
6. Focht DD. Biotransformation of Halogenated Pesticides. En: Haggblom MM, Bossert ID, editors. *Dehalogenation, Microbial Processes and Environmental Application*. Kluwer Academic Publishers; 2003. p. 303-332.
7. Furukawa K, Tonomura K, Kamibayashi A. Effect of Chlorine Substitution on the Biodegradability of Polychlorinated Biphenyls. *Appl Environ Microbiol.* 1978;35:223-227.
8. Hernandez BS, Arensdorf JJ, Focht DD. Catabolic Characteristics of Biphenyl-Utilizing Isolates which Co-metabolize PCBs. *Biodegradation.* 1995;6:75-82.
9. Krupcik J, Koehn A., Petrík J., Leclercq R.A., Ballschmiter K. 1992. On the Use of Reference Standards for Quantitative
10. Pieper DH. Aerobic Degradation of Polychlorinated Biphenyls. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2005;67:170-191.
11. Robles Martínez H.A., Cuevas Rodríguez G., Hernández Castillo D. 2005. Determination of PCBs in transformer oil using gas chromatography with mass spectroscopy and aroclors (A1254:A1260). *Journal of Mexico Chemistry and Society*, 49(3): 263-270

12. Sondossi M, Sylvestre M, Ahmad D. Effects of Chlorobenzoate Transformation on the Pseudomonas Testosteroni Biphenyl and Chlorobiphenyl Degradation Pathway. *Appl Environ Microbiol.* 1992;58: 485-495.
13. Tharakan J.; Addagada A.; Tomlinson D. 2004. Vermicomposting for the bioremediation of PCBs congeners in superfund site media. Conference: international conference on waste management and the environment. 117-124.
14. Tharakan J. 2005. Application of microbes and earthworms for the biological remediation of polychlorinated biphenyl contaminated sludge. Jordan International Chemical Engineering Conference V.
15. VaillancourtFH, Labbe G, Drouin NM, Fortin PD, Eltis LD. The Mechanism-Based Inactivation of 2,3-Dihydroxybiphenyl 1,2-Dioxygenase by Catecholic Substrates. *J Biol Chem.* 2002;277:2019-2027.