

Biodegradación de Bifenilos Policlorados (BPCs) por Microorganismos.

Graciela M.L. Ruiz-Aguilar.*

RESUMEN

Uno de los problemas que enfrenta México en la actualidad es el tratamiento de los residuos peligrosos que generan los diversos procesos industriales. Dentro de estos residuos se encuentran los bifenilos policlorados (BPCs), que se han convertido en un grave problema ambiental. En este artículo se presentan algunos de sus efectos en el ambiente y en el ser humano, así como las alternativas de tratamiento empleando microorganismos que se están estudiando para disminuir su presencia del medio ambiente.

ABSTRACT

One of the problems that Mexico faces is the treatment of hazardous materials generated by different industrial processes. Polychlorinated biphenyls (PCBs) are pollutants of great concern because of their impact on human health and the environment. This paper is a review of PCB's effects on the environment and human health, and also shows that diverse fungi have been used to reduce their presence in the environment.

Recibido: 19 de Abril 2004
Aceptado: 19 de Mayo de 2005

INTRODUCCIÓN

Los BPCs se encuentran ampliamente distribuidos en el medio ambiente de todo el mundo, son persistentes y se acumulan en la cadena alimentaria. La población en general está expuesta a los BPCs a través de los alimentos. Los lactantes están expuestos a través de la leche materna. Se han registrado dos importantes casos de intoxicación humana en el Japón (accidente de Yusho, 1968) y en la provincia de Taiwan (accidente de Yu-Cheng, 1979) (Harukuni y Masakazu, 1985; OMS, 1993). Los principales síntomas de los pacientes de Yusho y Yu-Cheng se han atribuido con frecuencia a contaminantes de las mezclas de BPCs, en particular a los dibenzofuranos policlorados (DFPCs). Sin embargo, los causantes de algunos de los síntomas, principalmente de los efectos respiratorios crónicos, pueden haber sido los metabolitos de metilsulfona de algunos compuestos del grupo de los BPCs (Harukuni y Masakazu, 1985; OMS, 1993).

Entre las fuentes actuales de liberación de los BPCs figuran la volatilización de vertederos que contienen transformadores, condensadores y otros residuos con BPCs, aguas residuales, fangos cloacales, derrames y desechos de dragado, y la eliminación inadecuada (o ilegal) en zonas abiertas. Se puede producir contaminación durante la incineración de desechos industriales y municipales. La explosión o el sobrecalentamiento de transformadores y condensadores pueden liberar cantidades significativas de BPCs al entorno local.

En los últimos años, muchos países industrializados han adoptado medidas para controlar y limitar el flujo de BPCs hacia el medio ambiente. El factor decisivo que ha llevado a estas restricciones ha sido probablemente una recomendación de la Organización de Cooperación y Desarrollo Económico (OCDE) (OMS, 1976; CIIC, 1978; OCDE, 1982). Desde entonces, los 25 países miembros de la OCDE han limitado la fabricación, la venta, la importación, la exportación y el uso de BPCs, además de establecer un sistema de etiquetado de estos productos.

Palabras clave:

BPC; Bifenilos; Degradación; Hongo; Bacteria.

Keywords:

PCB; Biphenyls; Degradation; Fungus; Bacteria.

La eliminación de los BPCs en el medio ambiente depende del grado de cloración del bifenilo. En general, la persistencia de los BPCs aumenta con el grado de cloración. Por las características de estabilidad que presentan los BPCs, resulta difícil su disposición y tratamiento, los procesos utilizados con mayor frecuencia son los métodos físicos (Kaštánek *et al.*, 1995), quími-

* Unidad de Estudios Superiores de Salvatierra, Universidad de Guanajuato. Privada de Arteaga s/n, Salvatierra, Gto. México. Tel.: +52 (466) 663-2132. Fax: +52 (466) 633-3413. Correo electrónico: gruiza2001@hotmail.com

cos (Hutzinger *et al.*, 1974), y biológicos (Abramowicz, 1990; Zharikov *et al.*, 2002); de ellos, los de empleo más común son la incineración (Im *et al.*, 2002; Kim *et al.*, 2004b) y la desorción térmica (procesos físicos), este último, utilizado para el tratamiento de suelos contaminados con BPCs (Acharya y Hay, 2000; Norris *et al.*, 1998; Risoul *et al.*, 2002). Se han aplicado algunos métodos biológicos (biorestauración) a nivel investigación y a escala piloto, resultando en una tecnología potencial para el mejoramiento del ambiente (Harkness *et al.*, 1993; Zharikov *et al.*, 2002).

Dentro de los sistemas de remoción biológica, los principales estudios se han desarrollado preferentemente empleando bacterias (Quensen *et al.*, 1990; Fiebeg *et al.*, 1993; Wolf-Rainer *et al.*, 2002; Kim *et al.*, 2004a). El empleo de hongos para la degradación de los BPCs es relativamente escaso y específicamente se ha utilizado a *Phanerochaete chrysosporium* como modelo (Bumpus *et al.*, 1985; Dietrich *et al.*, 1995; Eaton, 1985; Fernández-Sánchez *et al.*, 2001; Valli y Gold, 1991). Los microorganismos degradan los bifenilos monoclorados, diclorados y triclorados de manera relativamente rápida, y más lentamente los bifenilos tetraclorados. La tasa de biodegradación es preferente a los compuestos que contienen átomos de cloro en posiciones *para* (Abramowicz, 1990; Commandeur *et al.*, 1993; Furukawa *et al.*, 1978, Safe, 1984).

El presente artículo es una revisión sobre el efecto de la presencia de los BPCs en el ambiente, las implicaciones de sus usos y de la posibilidad de su tratamiento con microorganismos.

DEFINICIÓN Y CONFORMACIÓN DE LOS BPCs

Los BPCs son una familia de compuestos producidos comercialmente por la cloración progresiva del bifenilo en presencia de cloruro férrico y/o yoduro férrico (Abramowicz, 1990; OMS, 1993). Los BPCs se pueden obtener por diferentes vías: fenilación de sustratos aromáticos (generalmente por radicales libres, formando clorobifenilos no simétricos); por reacciones de condensación arilo (produce clorobifenilos simétricos) y por sustitución directa sobre un sistema de bifenilos desarrollado previamente (Hutzinger *et al.*, 1974). La fórmula química de los BPCs se representa como $C_{12}H_{10-n}Cl_n$, donde n es el número de átomos de cloro en la molécula (entre 1 y 10) (OMS, 1993). La cloración del bifenilo puede reemplazar de 1 a 10 átomos de hidrógeno por cloro (Figura 1), lo que permite teóricamente la formación de 209 posibles compues-

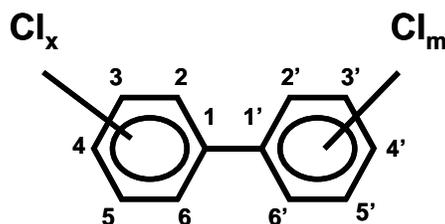


Figura 1. Posible distribución de los átomos de cloro en los dos anillos de bifenilo.

tos de BPCs, variando en el número y en la posición de los cloros (Abramowicz, 1990; Hutzinger *et al.*, 1974; OMS, 1993).

Los BPCs se clasifican como homólogos e isómeros. Los BPCs homólogos son aquéllos que difieren en el número de cloros en la molécula; mientras que los isómeros, son los que varían en la distribución del mismo número de cloros (Quensen *et al.*, 1990). Los isómeros individuales y homólogos son generalmente referidos como congéneres.

Los BPCs manufacturados comercialmente tienen diferentes nombres comerciales, por ejemplo Aroclor, Askarel, Clophen, Santotherm, entre otros (Hutzinger *et al.*, 1974). Cada uno de los productores tiene su propio sistema para identificar sus productos. En la serie Aroclor, se utiliza un código de cuatro dígitos: los primeros dos dígitos representan al bifenilo (12), mientras que los dos últimos indican el porcentaje en peso del contenido de cloro en la mezcla; por ejemplo, el Aroclor 1260 es una mezcla de BPC con un 60 % de cloro. Las excepciones a esta regla son: Aroclor 1242 contiene sólo el 1 % de los compuestos con 5 ó más átomos de cloro y el Aroclor 1016 contiene el 41 % de cloro en peso, pero el contenido de penta-, hexa- y heptaclorobifenilo, se redujo considerablemente. Los otros productos comerciales emplean un código donde se muestra el número promedio de átomos de cloro en los compuestos; por ejemplo, Clophen A60, Phenochlor DP6 y Kanechlor 600, son bifenilos con un promedio de cerca de 6 átomos de cloro por molécula (equivalente al 59 % de cloro por peso). En 1980, Ballschmiter y Zell propusieron un sistema numérico para los congéneres de BPCs, el cual fue adoptado por la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC, siglas en inglés).

PRODUCCIÓN DE LOS BPCs

Se dispone de muy poca información a nivel mundial, sobre la producción de los BPCs (OMS, 1993).

Los BPCs se produjeron comercialmente en los Estados Unidos por la Monsanto Chemical Company desde 1929 hasta 1977, cuando se dejaron de manufacturar. La máxima producción de Aroclors alcanzó en 1970, un total de 42 500 ton; los cuales fueron usados como fluidos dieléctricos, plastificantes, fluidos hidráulicos, lubricantes y líquidos para transferencia de calor. Durante este año, el 65 % de la producción fue del 42 % para el tipo clorado, 25 % para el menos clorado y el resto para los más clorados (OMS, 1993). En 1974, la Monsanto Chemical Company produjo un poco más de 20 000 ton de mezclas de Aroclor (ATSDR, 1996).

Al final de los 80's, la cantidad total de BPCs producidos fue de 1 054 800 ton, de las cuales, aproximadamente la mitad se empleó en transformadores y capacitores. El descubrimiento de la presencia de los BPCs en el ambiente y su aparente asociación a los daños a la salud, provocó una protesta pública, la cual culminó con la regulación de los BPCs bajo la Toxic Substances Control Act (TSCA), PL 94-469. En 1976, el Congreso de los Estados Unidos, designó a la EPA como la responsable en regular la manufactura, procesamiento, distribución en el comercio y uso de los BPCs. La descarga de los efluentes que contienen BPCs es regulada y el uso de materiales que contienen BPCs todavía en uso es restringido (ATSDR, 1996).

EFFECTOS DE LOS BPCs EN LOS SERES VIVOS

Los BPCs se acumulan en el tejido adiposo de los seres humanos y de los animales, causando efectos tóxicos a ambos, particularmente en el caso de exposiciones repetidas. La patología se manifiesta sobre todo en la piel y el hígado, aunque también afectan al tracto gastrointestinal, el sistema inmunitario y al sistema nervioso. Los DFPCs, que se encuentran como contaminantes en mezclas comerciales de BPCs, contribuyen de manera significativa a la toxicidad de ellas. A partir de los datos disponibles, no se pueden establecer niveles de exposición a los BPCs que puedan considerarse de garantía absoluta de inocuidad (Golden *et al.*, 2003).

Los efectos de las mezclas de los BPCs en los microorganismos son muy variables y mientras que algunas especies presentan efectos adversos con concentraciones de 0.1 mg/l, otras no se ven afectadas por concentraciones de 100 mg/l. Los efectos en diferentes especies no dependen de manera sustancial del grado de cloración de las mezclas. No existe una clara

relación entre el grado de cloración o las condiciones medio ambientales y la toxicidad, incluso en organismos estrechamente relacionados (ATSDR, 1996).

Los mecanismos por los cuales los BPCs son tóxicos no se han determinado de manera precisa (ATSDR, 2000). Los BPCs no se consideran genotóxicos (ATSDR, 2000) y no existe evidencia de que los BPCs reaccionen con el DNA *in vivo* (Whysner *et al.*, 1998). Los estudios realizados con ratas expuestas a BPCs, no permiten establecer una relación en la producción de tumores en humanos (Golden *et al.*, 2003). Estos estudios sugieren que los BPCs inducen el foci positivo de GSTP e inhibe las uniones gap (Santomauro *et al.*, 1999). Además se encontró que la acumulación de hierro genera daños oxidativos y proliferación espontánea de células (Whysner y Wang, 2001). También se encontró la formación de quinonas y de especies que reaccionan en presencia de oxígeno (Brown *et al.*, 2001). Sin embargo no se puede establecer el mecanismo de toxicidad de los BPCs en humanos (Golden *et al.*, 2003).

DISTRIBUCIÓN DE LOS BPCs EN EL MEDIO AMBIENTE

Estudios recientes explican que la principal fuente de exposición en el medio ambiente en general, parece ser la redistribución de los BPCs que previamente se han introducido en él, derivado de su volatilización del suelo y del agua para pasar a la atmósfera, con el posterior transporte por el aire y su eliminación de la atmósfera mediante la sedimentación húmeda o seca, para luego volver a volatilizarse. Dado que los ritmos de volatilización y degradación de los BPCs varían según los compuestos, esta redistribución produce una alteración en la composición de las mezclas de BPCs presentes en el medio ambiente (ATSDR, 2000).

Los BPCs del agua se adsorben en los sedimentos y en la materia orgánica, las concentraciones de los BPCs en los sedimentos y en la materia en suspensión son más elevadas que en las masas de agua correspondientes. Una fuerte adsorción, en el sedimento, especialmente en el caso de BPCs con un grado elevado de cloración, disminuye la tasa de volatilización, por lo que pueden actuar como sumideros del medio ambiente y como depósito de estos compuestos para los organismos. La baja solubilidad y la fuerte absorción de los BPCs en las partículas del suelo limitan la lixiviación. Los compuestos con menor grado de cloración tienen una tendencia mayor a la lixiviación que los más clorados. La transferencia de los BPCs del suelo a

la vegetación tiene lugar principalmente por adsorción en la superficie externa de las plantas terrestres, los desplazamientos que tienen lugar son escasos (ATSDR, 2000).

BIODEGRADACIÓN DE LOS BPCs

La biodegradación es uno de los tratamientos que se utilizan para reducir la presencia de los BPCs en el ambiente. La biodegradación o transformación se define como la actividad de un sistema biológico sobre alguna sustancia y cuya consecuencia es la modificación de la estructura (Madigan *et al.*, 2004). La transformación de BPCs se realiza por dos procesos: aerobio y anaerobio. Los aerobios atacan oxidativamente, rompiendo el anillo y destruyendo los compuestos. Los anaerobios, por otro lado, remueven los cloros del anillo bifenílico sin afectar la estructura del bifenilo (decloración). Los bifenilos menos clorados (Cl<4) han sido mineralizados aeróbicamente por varios consorcios microbianos en estudios de laboratorio.

Los bifenilos altamente clorados (Cl>5), son menos fáciles de degradar bajo condiciones aerobias (Safe, 1984). Algunas reacciones bioquímicas han demostrado que las enzimas involucradas en los procesos de transformación de BPCs generan un fraccionamiento isotópico del carbono e hidrógeno (Wolf-Rainer *et al.*, 2002). Se ha demostrado que los procesos biológicos sólo pueden afectar los compuestos enantioméricos quirales de unos 90 congéneres de BPCs y que involucran diferentes procesos de biotransformación (Wolf-Rainer *et al.*, 2002).

BIODEGRADACIÓN AEROBIA DE LOS BPCs

Biodegradación por bacterias

El uso de bacterias para el tratamiento de los BPCs ha sido estudiado más extensamente que el empleo de hongos (Abramowicz, 1990; Fiebeg *et al.*, 1993; Furukawa *et al.*, 1978; Quensen *et al.*, 1990; Rojas-Avelizapa *et al.*, 1999; Wolf-Rainer *et al.*, 2002; Kim *et al.*, 2004a). La degradación microbiológica por bacterias de varios isómeros y congéneres de BPCs por cultivos mixtos y por cepas puras incluyen *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Acinetobacter*, entre otras

(Abramowicz, 1990; Fiebeg *et al.*, 1993; Furukawa *et al.*, 1978; Quensen *et al.*, 1990; Rojas-Avelizapa *et al.*, 1999; Nakhia *et al.*, 2002; Kim *et al.*, 2004a). El grado de transformación depende de la estructura del sustrato y del microorganismo empleado; sin embargo, un estudio detallado sobre un número de congéneres de BPCs (C₁₂H₉Cl - C₁₂H₅Cl₅), sugiere las siguientes correlaciones (Safe, 1984) (Tabla 1): a) la velocidad de degradación de BPCs generalmente disminuye cuando incrementa la cloración en los anillos; b) para BPCs con número desigual de cloros en cada uno de los anillos del bifenilo, se degradan preferencialmente, los del anillo menos sustituido; c) los BPCs con una sustitución 2,4'-dicloro son altamente susceptibles a un rompimiento del anillo en la posición *meta* con la consecuente acumulación del metabolito ácido fenilhexadienóico; d) las posiciones 2,3 son muy sensibles a una oxidación que genera al *cis*-2,3-dihidro-2,3-dihidroxi como metabolito intermediario; e) los congéneres, en muchos casos, con 2 y/o 3 posiciones sustituidas en ambos anillos no son realmente sensibles a la degradación metabólica; y f) el metabolismo para cada BPC es diferente para diferentes microorganismos.

El ataque de las bacterias al BPC involucra la adición inicial de O₂ a la posición 2,3 por una enzima dioxigenasa, con la subsecuente deshidrogenación a catecol seguido por el rompimiento del anillo (Figura 2) (Furukawa, 2000). En el primer paso, la bifenil

Tabla 1.

Compuestos clorados degradados por bacterias (Abramowicz, 1990; Commandeur *et al.*, 1995; Higson, 1992).

Microorganismo	Compuesto clorado	Producto	% Degradación	Referencia
<i>Acinetobacter</i>	Aroclor 1254	No hay datos	35	Abramowicz
<i>eutrophus</i> H850	Aroclor 1242	No hay datos	25-78	(1990)
<i>A. eutrophus</i> H850	2-,2,4-, 2,5-, 2,3-, 6-	Bios-diol	No hay datos	Bedard <i>et al.</i> , (1987)
y <i>Pseudomonas</i> sp. LB400	y 2,4,5-CB y 2,4,5,2',4',5'-CB	2',4',5'-tricloroacetofenona	No hay datos	Bopp (1986) y Arnett <i>et al.</i> , (2000)
<i>Acinetobacter</i> sp. P6	TetraCB, algunos penta- y hexaCB	Acido clorobenzóico	No hay datos	Furukawa (1982)
	Aroclor 1254 (10 ppm)	No hay datos	17-32	
	Aroclor 1242	No hay datos	70	
<i>Alcaligenes</i> sp. JB1	Tri-, tetra-, penta- y hexaCB (mezclas)	No hay datos	92-99.5	Commandeur <i>et al.</i> , (1995)
<i>Arthrobacter</i> sp. M5	4-CB	4-clorobenzoato	No hay datos	
<i>Corynebacterium</i> sp. MB1	Aroclor 1242	No hay datos	Degradación total de algunos congéneres	Bedard <i>et al.</i> , (1987)
<i>Pseudomonas</i> sp. y P6			10-50	Mondello (1989)
<i>Pseudomonas</i> sp. LB400	Aroclor 1242	No hay datos		
<i>Pseudomonas</i> sp. MB86	4-CB	4'-clorobenzoato	No hay datos	Barton y Crawford (1988)

oxigenasa (codificada por los genes *bphA*) introduce a la posición 2,3 del anillo no clorado o menos clorado del bifenilo, hidroxilos, produciendo un *cis*-dihidrodiol. La bifenil dioxigenasa incluye una proteína hierro-azufre (PFA), la cual se cree que interactúa directamente con el sustrato para introducir el oxígeno, una ferredoxina y una ferredoxina reductasa. La diol deshidrogenasa (codificada por *bphB*) deshidrogena el dihidrodiol a 3-fenil catecol. Este es dividido en la posición 1,2 por una fenil catecol dioxigenasa (codificada por *bphC*) para generar ácido-2-hidroxi-6-oxo-6-fenilhexa-2,4-dienóico (AHOFD). Una hidrolasa (codificada por *bphD*) hidroliza el ácido a ácido benzóico y en ácido-2-hidroxi-2,4-pentadienóico. La vía procede hasta acetil CoA por la acción de una hidratasa (codificada por *bphX1*), una adolasa (codificada por *bphX3*) y una CoA acilasa (codificada por *bphX2*). En 1990, Bedard propuso dos hipótesis sobre que la dioxigenasa no fue bloqueada por los sustituyentes *orto*-cloro. Posteriormente, ambas hipótesis fueron demostradas por Haddock *et al.*, (1995) con la bifenil-2,3-dioxigenasa de *Pseudomonas* sp. LB400. Se han clonado los genes *bph* responsables de la degradación de BPCs en una gran variedad de bacterias (Furukawa, 2000).

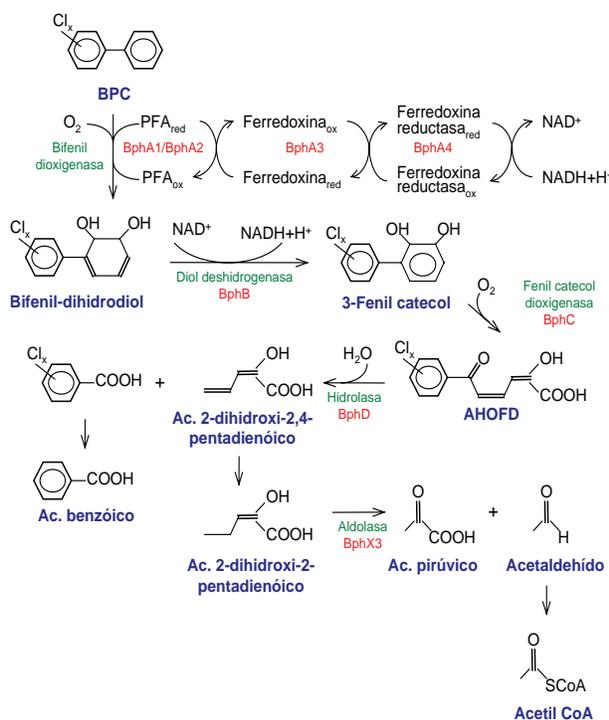


Figura 2. Vía general de degradación de BPCs por bacterias (Focht, 1995. ox= Estado oxidado; red = Estado reducido).

Biodegradación por hongos

Existen pocos reportes sobre la degradación de BPCs por hongos. El hongo filamentoso *Aspergillus niger*, estudiado por Dmochewitz y Ballschmitter (Dmochewitz y Ballschmitter, 1988), puede degradar algunos congéneres encontrados en Clophen A30 (un promedio de tres cloros por bifenilo). Sin embargo, los hongos ligninolíticos con mucho, son los más promisorios microorganismos para la degradación de contaminantes ambientales. El mejor estudiado de estos microorganismos es *Phanerochaete chrysosporium*. Este hongo es el principal degradador de lignina en la naturaleza. Las mismas enzimas involucradas en la degradación de lignina se sugiere que son las responsables del ataque a los BPCs por la producción de radicales hidroxilo. En los estudios realizados por Thomas *et al.*, (1992) con 2,2',4,4'-tetraclorobifenilos y 2-clorobifenilos, no se encontró una correlación entre la velocidad de degradación y la síntesis de ligninasas o peroxidasa dependiente de manganeso, indicando que un sistema enzimático desconocido podría ser el responsable de la oxidación inicial de los BPCs. En la Tabla 2 se muestra una lista de los compuestos clorados probados para ser degradados por *Phanerochaete chrysosporium*.

Los resultados demuestran que *Phanerochaete chrysosporium* es capaz de realizar una degradación completa de BPCs altamente clorados, pero sólo se ha observado actividad enzimática a muy bajas concentraciones (250 ppb de Aroclor 1254, 5,5 ppb o 19 nM de 3,4,3',4'-tetraCB) (Bumpus *et al.*, 1985; Eaton, 1985). Por otro lado el uso de este hongo en suelos contaminados con BPCs resultó en eficiencias de remoción entre el 13 % y 100 % para los diferentes congéneres presentes en el suelo en un periodo de 45 días (Fernández-Sánchez *et al.*, 2001). Otros hongos también utilizados para la biodegradación de BPCs son *Trametes versicolor* y *Lentinus edodes*, estos hongos eliminaron del 29 % al 70 % de los congéneres presentes en un extracto de un suelo contaminado en presencia de Tween 80 (Ruiz-Aguilar *et al.*, 2002).

Valli y Gold (1991), propusieron una vía general para la degradación oxidativa de compuestos aromáticos clorados, la cual inicia con una decloración-4-oxidativa tanto por lignina peroxidasa o por la peroxidasa dependiente de manganeso, presumiblemente seguido por la obtención de un producto *p*-quinona. Posteriormente, la regeneración de un sustrato para peroxidasa por reducción y metilación. En la vía propuesta, ambos átomos de cloro son removidos por reacciones oxidativas antes de que el rompimiento del anillo tome lugar. Además, de una decloración oxidativa cataliza-

da por una peroxidasa, seguida por la reducción de un producto quinona, resulta en la introducción de grupos fenólicos, lo que facilita la apertura del anillo. Se ha encontrado que los hongos, al igual que las bacterias, degradan preferentemente bifenilos menos clorados y bifenilo (Thomas *et al.*, 1992; Keum y Li, 2004).

no es degradado completamente por la comunidad anaerobia; b) la toxicidad del compuesto modelo se reduce; c) las condiciones *in situ* pueden establecerse de manera relativamente fácil para una dechloración en muchos ambientes que contienen contaminantes, por ejemplo, principalmente, el establecimiento de condiciones anaerobias, las cuales ocurren después de la saturación de agua de suelos y sedimentos.

Tabla 2.

Compuestos clorados degradados por *P. chrysosporium* (Eaton, 1985; Higson, 1992; Thomas, 1992; Yadav *et al.*, 1995).

Compuesto	Concentración	Degradación %	Condiciones	Referencia
[¹⁴ C] Aroclor 1254	0.3000 ppm	7.0	Cultivos limitados en nitrógeno	Eaton (1985)
3,4,3',4'-tetracloro	0.0363 ppm	2.0		Bumpus y Aust (1986)
2,4,5,2',4',5'-hexacloro [U- ¹⁴ C] bifenilo	0.0450 ppm	1.7		
[¹⁴ C] Aroclor 1242	0.0400 ppm	20.5		
[¹⁴ C] Aroclor 1254	0.0400 ppm	18.0		Bumpus <i>et al.</i> , (1987)
Bifenilo, Aroclor 1242 y 1254		Degradación		
Tetra- y hexaCB marcados		Poca formación de ¹⁴ CO ₂		
2,2',4,4'-tetraCB	40.0000 nM	9.0		Thomas <i>et al.</i> , (1992)
	5.3000 μM	0.9		
		Conversión a CO ₂		
4-Cl-[¹⁴ C]bifenilo		2-6	Sin fuente de nitrógeno o carbono	Pieper (1992)
Aroclor 1242		60.9	Sedimentos de río	Yadav <i>et al.</i> , (1995)
Aroclor 1254		30.5		
Aroclor 1260		17.6		

Biodegradación anaerobia de los BPCs

El aislamiento anaerobio de cultivos puros degradadores de BPCs no ha sido posible (Wolf-Rainer *et al.*, 2002). Sin embargo, se ha trabajado con consorcios de microorganismos anaerobios de BPCs, que mostraron dechloraciones selectivas. Los procesos de transformación anaerobios de BPCs, caen en dos categorías: *o*, *m*, *p*-dechloraciones, con la reactividad del congénere dependiente del potencial de reducción y *m*, *p*-dechloraciones, donde la forma molecular es más importante. Los BPCs actúan como donadores de electrones y el cloro es liberado como un subproducto; no hay destrucción del esqueleto carbonado (Higson, 1992).

La dechloración reductiva tiene como ventajas (Tiedje *et al.*, 1993) las siguientes: a) el grado de cloración se reduce volviendo el producto más susceptible a la mineralización por microorganismos aerobios, si

La producción estequiométrica de BPCs que contienen pocos cloros ha demostrado la sustitución del hidrógeno por el cloro. Los microorganismos anaerobios utilizan el cloro como un aceptor final de electrones, involucrando la adición del electrón al enlace carbono-cloro, seguido por la pérdida del cloro y la subsiguiente pérdida del hidrógeno (Figura 3). El compuesto del cual el hidrógeno es eliminado finalmente, es desconocido y el principal potencial donador de electrones incluye al agua, al hidrógeno o a un compuesto orgánico. La disponibilidad del hidrógeno en sistemas microbianos anaerobios podría ser la principal fuente de equivalentes de reducción. En la Tabla 3 se muestran algunos experimentos realizados con consorcios bacterianos anaerobios para la degradación de BPCs, la mayoría de estos consorcios se obtuvieron de sedimentos de ríos contaminados.

También se ha demostrado la dependencia de los microorganismos hacia ciertos compuestos para efectuar la degradación anaerobia de los BPCs. Un cultivo con un microorganismo con secuencia 16S rDNA similar a la de *Dehalococcoides ethenogenes*, que genera *o*-dechloraciones, depende de la presencia y dechloración

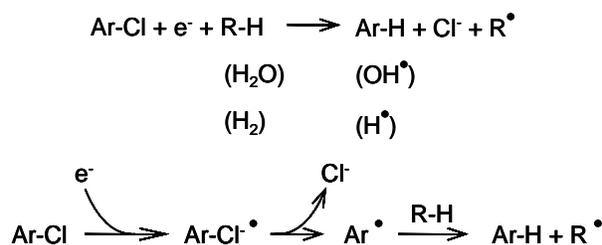


Figura 3. Posible mecanismo de dechloración reductiva de BPCs catalizada por microorganismos anaerobios (Abramowicz, 1990).

Ar = Compuesto aromático; R = Compuesto desconocido.

Tabla 3.

Degradación anaerobia de BPCs por consorcios bacterianos anaerobios (Abramowicz, 1990; Campos, *et al.*, 1995; Fava, 1996a; Hartkamp-Commandeur, 1996; Higson, 1992; Quensen, *et al.*, 1990).

Origen del sedimento	Compuesto	Degradación (%)	Observación	Referencia
No hay datos	2-CB 3-CB	89 11		Farwell <i>et al.</i> , (1975)
Río Hudson	Aroclor 1242		Acumulación de o-clorados, mono-, di- y TriCB	Brown <i>et al.</i> , (1980)
Lago Silver	Aroclor 1260	90-98	Hexa- y heptaCB Aparición de tri- y TetraCB	
Río Hudson	Aroclor 1242 y 1248 (700 ppm)	53	Como cloro total Aparición de 2-CB (63 %) e incremento del 1 al 14 % de 2,2'- y 2,6-diCB	Quensen <i>et al.</i> , (1988)
Río Hudson	Aroclor 1242 y 1248 (500 ppm base seca)	80-90	Tetra- y pentaCB Acumulación de o-, mono- y diCB	Tiedje <i>et al.</i> , (1988)
Río Hudson sin tratamiento		33-63	Congéneres (375 mg/Kg sedimento en peso seco)	Rhee <i>et al.</i> , (1989)
Río Hudson Lago Silver	Aroclor 1242 Aroclor 1260		Declaración de las 4 principales mezclas de Aroclor y transformación de los congéneres más clorados a congéneres menos clorados	Quensen <i>et al.</i> , (1990)
Cultivo anaerobio metanogénico mesofílico	Aroclor 1260	15-57	Reducción biológica a 22 días de incubación	Campos <i>et al.</i> , (1995)
Consortio bacteriano y <i>Pseudomonas sp.</i> CPE1 (ECO3) y 2 bacterias degradadoras de ácido clorobenzóico	Aroclor 1221	55.5 89.5	Cloro total En promedio, en presencia de Tritón X-100 (0.066 % v/v)	Fava, (1996a)
Cultivo mixto de microorganismos anaerobios y los de un sedimento del río Rhine	DecaCB		Genera nona-, hepta-, hexa-, penta-, tetra- y triCB	Hartkamp-Commandeur, <i>et al.</i> , (1996)
Río Rhine	2,2',3,3',4,4'- y 2,2',3,3',6,6'-hexaCB		Declaración penta- y tetraCB, no se detectaron bifenilos de menor cloración	
Cultivo anaerobio y sedimentos del río Rhine	HexaCB		Formación de penta-, tetra- y triCB. No se detectaron mono- o no clorados bifenilos	

del 2,3,5,6-tetraclorobifenilo (Cutter *et al.*, 2001). Por otro lado se ha encontrado un cultivo microbiano con una secuencia similar a la anterior (designado DF-1) capaz de atacar congéneres de BPCs con dos cloros laterales, eliminándolos (Wu *et al.*, 2002).

Al efectuar una comparación entre biodegradaciones de BPCs altamente clorados (Aroclor 1254 y 1260) entre los sistemas aerobios y anaerobios, se encontró que las eficiencias de remoción anaerobias de BPCs fueron entre 12 % y 24 % más bajas que las de los tratamientos aerobios (Naknhia *et al.*, 2002). Sin embargo, para lograr una concentración menor a las 50 ppm de BPC totales se requerirá periodos de tratamiento mayores a los 2 meses (Naknhia *et al.*, 2002).

Biodegradación anaerobia - aerobia de los BPCs

Se ha propuesto que la combinación de un proceso anaerobio, con uno aerobio podría aumentar la transformación de los BPCs (Evans *et al.*, 1996; Reardon *et al.*, 2000). El tratamiento anaerobio inicial convierte a los compuestos altamente clorados a BPCs menos clorados. Estos últimos, serían atacados por los microorganismos aerobios para su completa degradación (Evans *et al.*, 1996; Reardon *et al.*, 2000).

En 1996, Evans y colaboradores, propusieron realizar primero una declaración anaerobia al adicionar microorganismos aislados de los sedimentos del río Hudson contaminados con BPCs a un suelo con un bajo contenido de carbono orgánico contaminado con Aroclor 1248 (Evans *et al.*, 1996). Posteriormente airearon el suelo y le adicionaron bifenilo para inocularlo con *Pseudomonas sp.* LB400 y realizar un proceso aerobio. Se encontró una reducción de BPCs del 70 % en el proceso secuencial, obteniendo productos con pocos cloros y con un tiempo de vida media corto. Los productos de la etapa anaerobia fueron di- y tri-CB, de los cuales, todos los di-CB desaparecieron durante la etapa aerobia, junto con algunos tri-, tetra- y penta-CB que estaban presentes. En ese mismo estudio, pero realizado un tratamiento en condiciones aerobias y sin un tratamiento anaerobio previo, se encontró un 67 % de la degradación de los BPCs presentes, pero los productos de la transformación fueron tetra- y penta-CB (Evans *et al.*, 1996).

CONCLUSIONES

La biodegradación de los BPCs por microorganismos resulta una buena alternativa para eliminar su presencia del medio ambiente. El empleo tanto de bacterias como de hongos resulta atractivo para ser utilizado en los procesos de restauración de suelos y efluentes. Los niveles de degradación que se han ob-

tenido en el laboratorio y planta piloto resultan interesantes para continuar investigando y llevar los procesos a escalas mayores. Se han desarrollado con el apoyo del gobierno y de la iniciativa privada diferentes proyectos de investigación con la finalidad de disminuir su concentración en el ambiente, pero los esfuerzos se han visto limitados en ocasiones, por la falta de programas e incentivos de apoyo por parte del sector privado y gubernamental para su completo establecimiento. Es urgente crear medidas que limiten la generación y uso de este tipo de residuos peligrosos con el fin de disminuir su impacto en el medio ambiente.

REFERENCIAS

- Abraham, W-R., Nogales, B., Golyshin, P.N., Pieper, D.H. y Timmis, K.N. (2002) Polychlorinated biphenyl-degrading microbial communities in soils and sediments, *Current Opinion in Microbiology*, 5(3), 246-253.
- Abramowicz, D.A. (1990). Aerobic and anaerobic biodegradation of PCBs: A review, *Critical Rev Biotechnol*, 10(3), 241-251.
- Acharya, P. y Hay, G.H. (2000). Thermal desorption - the technology of choice for most soil remediation in 2000 and beyond, *Proceedings of the International Conference on Incineration and Thermal Treatment Technologies*, Portland, OR, United States, May 8-12, 2000, 588-595.
- ATSDR (1996). Toxicological profile for polychlorinated biphenyls, in: *Draft for public comment (update)*, US Department of Health & Human Services. Washington, DC.
- ATSDR (2000). Toxicological profile for polychlorinated biphenyls, in: *Draft for public comment*, US Department of Health & Human Services. Washington, DC.
- Brown, J.F., Fish, K.M., Mayes, B.A., Silkworth, J.B., Halmiton, S.B. y Whysner, J. (2001). PCB effects on epigenetic carcinogenic processes, in: *PCBs: recent advances in environmental toxicology and health effects*, Editores Robertson L.W. y Hansen L.G., University Press of Kentucky, Lexington, pp. 329-336.
- Bumpus, A.J., Tien, M., Wright, D. y Aust, D.S. (1985). Oxidation of persistent environmental pollutants by a white rot fungus, *Science* 228, 1434-1436.
- Campos, M.D., Fernández, G., Rios, E. y Poggi, H.M. (1995). Determinación de la toxicidad aguda (*Daphnia magna*) y degradabilidad anaerobia del bifenilo policlorado 1260, in: *First International Meeting on Microbial Ecology*, Mayo 8-12, pp 160. CINVESTAV-IPN, México.
- CIIC (1978). Polychlorinated biphenyls and polybrominated biphenyls, International Agency for Research on Cancer, in: *IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemical to Humans*, Vol 18, pp 43-103. Lyon, Francia.
- Commandeur, L.C.N., Van Eyseren, H.E., Opmeer, M.R., Gavers, H.A.J. y Parsons, J.R. (1995). Biodegradation kinetics of highly chlorinated biphenyls by *Alcaligenes* sp. JB1 in an aerobic continuous culture system, *Environ Sci Technol* 29(12), 3038-3043.
- Cutter, L.A., Watts, J.E.M., Sowers, K.R. y May, H.D. (2001). Identification of a microorganism that links its growth to the reductive dechlorination of 2,3,5,6-chlorobiphenyl, *Environ Microbiol* 3, 699-709.
- Demnerova, K., Stiborova, H., Leigh, M.B., Pieper, D., Pazlarova, J., Brenner, V., Macek, T., Mackova, M. (2003). Bacteria degrading PCBs and CBs isolated from long-term PCB contaminated soil, *Water, Air, & Soil Pollution: Focus*, 3(3), 47-55
- Dietrich, D., Hickey, W.J. y Lamar, R. (1995). Degradation of 4,4'-dichlorobiphenyl, 3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl, and 2,2',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*, *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 3904-3909.
- Dmochewitz, S. y Ballschmiter, K. (1988). Microbial transformation of technical mixtures of polychlorinated biphenyls (PCB) by the fungus *Aspergillus niger*, *Chemosphere*, 17,111.
- Eaton, D.C. (1985). Mineralization of polychlorinated biphenyls by *Phanerochaete chrysosporium*: a ligninolytic fungus, *Enzyme Microbiol Technol* 7, 194-196.
- Evans, B.S., Dudley, C.A. y Klasson, K.T. (1996). Sequential anaerobic-aerobic biodegradation of PCBs in soil slurry microcosms, *Appl. Biochem. Biotechnol.* 57/58:885-894.
- Fava, F. (1996), Aroclor 1221 aerobic dechlorination by a bacterial co-culture: role of chlorobenzoic acid degrading bacteria in the process, *Chemosphere* 32(8), 1477-1483.
- Fernández-Sánchez, J.M., Rodríguez-Vázquez, R., Ruiz-Aguilar, G. y Alvarez, P.J.J. (2001). PCB biodegradation in aged contaminated soil: interactions between exogenous *Phanerochaete chrysosporium* and indigenous microorganisms, *J. Environ. Sci. Health A* 36(7), 1145-1162.
- Fiebeg, R., Schutze, D., Erlemann, P., Slawinski, M. y Dellueg, H. (1993). Microbial degradation of polychlorinated biphenyls in contaminated soil, *Biotechnol Lett* 15(1), 93-98.
- Fotch, D.D. (1995). Strategies for the improvement of aerobic metabolism of polychlorinated biphenyls, *Curr Op Biotechnol*, 6, 341-346.
- Furukawa, K. (2000). Biochemical and genetic bases of microbial degradation of polychlorinated biphenyls (PCBs), *J Gen Appl Microbiol* 46(6), 283-296.

- Furukawa, K., Tonomura, K. y Kamibayashi, A. (1978). Effect of chlorine substitution on the biodegradability of polychlorinated biphenyls, *Appl. Environ. Microbiol.* 36(2), 223-227.
- Golden, R., Doull, J., Waddell, W. y Mandel, J. (2003) Potential human cancer risks from exposure to PCBs: a tale of two evaluations, *Critical Reviews in Toxicology* 33(5), 543-580.
- Haddock, J.D., Horton, J.R. y Gibson, D.T. (1995). Dihydroxylation and dechlorination of chlorinated biphenyls by purified biphenyl 2,3-dioxygenase from *Pseudomonas* sp. Strain LB400, *J. Bacteriol.* 177, 20-26.
- Harkness, M.R., McDermott, J.B., Abramowicz, D.A., Salvo, J.J., Flanagan, W.P., Stephens, M.L., Mondello, F.J., May, R.J., Lobos, J.H., Carroll, K.M., Brennan, M.J., Braccio, A.A., Fish, K.M., Warner, G.L., Wilson, P.R., Dietrich, D.K., Lin, D.T., Morgan, C.B. y Gately, W.L. (1993). In situ stimulation of aerobic PCB biodegradation in Hudson river sediments, *Science* 259, 503-507.
- Hartkamp-Commandeur, L.C.M., Gerritse, J., Govers, H.A.J. y Parsons, J.R. (1996). Reductive dehalogenation of polychlorinated biphenyls by anaerobic microorganisms enriched from dutch sediments, *Chemosphere* 32(7), 1275-1286.
- Harukuni, U. y Masakazu, A. (1985). Past and current dermatological status of Yuso patients, *Environmental Health Perspectives* 59(11), 11-15.
- Higson, E.K. (1992). Microbial degradation of biphenyl and its derivatives, *Adv Appl Microbiol* 37, 135-164.
- Hutzinger, O., Safe, S. y Zitko, V. (1974). *The chemistry of PCBs*, CRC Press Inc., USA.
- Im, S.H., Kannan, K., Giesy, J.P., Matsuda, M. y Wakimoto, T. (2002), Concentrations and Profiles of Polychlorinated Dibenzo-p-Dioxins and Dibenzofurans in Soils from Korea, *Environmental Science and Technology*, 36(17), 3700-3705.
- Kaštánek, F., Kuncová, G., Demnerová K., Pazlarová, J., Burkhard, J. y Maléterová, Y. (1995). Laboratory and pilot-scale sorption and biodegradation of polychlorinated biphenyls from ground water, *International Biodeterioration and Biodegradation*, 287-300.
- Keum, Y.S. y Li, Q. X. (2004). Fungal laccase-catalyzed degradation of hydroxy polychlorinated biphenyls, *Chemosphere* 56, 23-30.
- Kim, A.A., Pestsov, G.V., Yadgarov, Kh.T., Dzhumaniyazova, G.I., Zonov'ev, P.V., Dzhuraeva, G.T., Abdugarimov, A.A. y Gins, V.K. (2004a). Microorganisms degrading polychlorinated biphenyls, *Appl Biochem Microbiol* 40(1), 60-62.
- Kim, K.S., Hirai, Y., Kato, M., Urano, K., y Masunaga, S. (2004b). Detailed PCB congener patterns in incinerator flue gas and commercial PCB formulations (Kanechlor), *Chemosphere*, 55(4), 539-553
- Madigan, M.T., Martinko, J.M. y Parker, J. (2004). *Brock. Biología de los microorganismos*, 10a. ed., Pearson Prentice Hall. España. 668-669.
- Nakhia, G., Kochany, J. y Lugowski, A. (2002). Evaluation of PCBs biodegradability in sludges by various microbial cultures, *Environmental Progress* 21(2), 85-93.
- Norris, G., Al-Dhahair, Z. y Birnstingl, J.G.A., (1998). A case study of the remediation of soil contaminated with polychlorinated biphenyls (PCBs) using low temperature thermal desorption, *Contaminated Soil '98, Proceedings of the International FZK/TNO Conference on Contaminated Soil, 6th*, Edinburgh, May 17-21, 1998, 2, 1079-1081.
- OCDE (1982). Report on the implementation by member countries of the decision by the council on the protection of the environmental by control of polychlorinated biphenyls, Organization of Economic Co-operation and Development, *Env Chem* 81, 2.
- OMS (1976). Polychlorinated biphenyls and terphenyls, en *Environmental Health Criteria* 2, World Health Organization, pp 85. Geneva.
- OMS (1993). Polychlorinated biphenyls and terphenyls, en *Environmental Health Criteria* 140, 2da. Edición, World Health Organization, Geneva.
- Quensen III, J.F., Boyd, S.A. y Tiedje, J.M. (1990). Dechlorination of four commercial polychlorinated biphenyls mixtures (Aroclors) by anaerobic microorganisms from sediments, *Appl Environ Microbiol* 56(8), 2360-2369.
- Reardon, K.F.; Rogers, J.D.; DuTeau, N.M. (2000) *Sequential anaerobic-aerobic treatment of polychlorinated biphenyls in soil microcosms*, Book of Abstracts, 219th ACS National Meeting, San Francisco, CA, March 26-30, 2000.
- Risoul, V., Renaud, V., Trouve, G. y Gilot P.T. (2002). A laboratory pilot study of thermal decontamination of soils polluted by PCBs. Comparison with thermogravimetric analysis, *Waste management* (New York, N.Y.), 22(1), 61-72.
- Rojas-Avelizapa, N.G., Rodríguez-Vázquez, R., Enríquez-Villanueva, F., Martínez-Cruz, J. y Poggi-Varaldo, H.M. (1999). Transformer oil degradation by an indigenous microflora isolated from a contaminated soil, *Res. Conserv. Recyc.* 27, 15-26.
- Ruiz-Aguilar, G.M.L., Fernández-Sánchez, J.M., Rodríguez-Vázquez, R. y Poggi-Varaldo, H. (2002). Degradation by white-rot fungus of high concentrations of PCB extracted from a contaminated soil. *Advances in Environmental Research* 6, 559-568.

- Safe, S.H. (1984). Microbial degradation of organic compounds, in: *Degradation of polychlorinated biphenyls*, Vol 13, Marcel Dekker Inc. pp 361-369. New York, USA.
- Santomauro, L., Corsi, P., Leone, A., Brescia, G., Roncali, L., Nico, B., Pisoni, M., Brizzi, F., Assennato, G. y Elia, G. (1999). Effects of Aroclor 1254 on intercellular communication in human keratinocytes, *Med Lav*, 90(3), 497-512.
- Thomas, D.R., Carwell, K.S. y Georgiu, G. (1992), Mineralization of biphenyl and PCBs by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*, *Biotechnol Bioeng* 40(11), 1395-1402.
- Tiedje, M.J., Quensen III, J.F., Chee-Sandford, J., Schimel, J.P. y Boyd, S.A. (1993). Microbial reductive dechlorination of PCBs, *Biodegradation* 4, 231-240.
- Valli, K. y Gold, M.H. (1991). Degradation of 2,4-dichlorophenol by the lignin-degrading fungus *Phanerochaete chrysosporium*, *J. Bacteriol.* 173(1), 345-352.
- Valli, K. y Gold, M.H. (1991). Degradation of 2,4-dichlorophenol by the lignin-degrading fungus *Phanerochaete chrysosporium*, *J Bacteriol* 173(1), 345-352.
- Whysner, J. y Wang, C.X. (2001). Hepatocellular iron accumulation and increased cell proliferation in polychlorinated biphenyl-exposed Sprague-Dawley rats and the development of hepatocarcinogenesis, *Toxicol Sci* 62, 36-45.
- Whysner, J., Montandon, F., McClain, R.M., Downing, J., Verna, L.K., Steward, R.E. y Williams, G.M. (1998). Absence of DNA adduct formation by Phenobarbital, polychlorinated biphenyls, and chlordane in mouse liver using the ³²P-postlabeling assay, *Toxicol Appl Pharmacol* 148(1), 14-23.
- Wolf-Rainer, A., Balbina, N., Golyshin, P.N., Pieper, D.H. y Timmis, K.N. (2002). Polychlorinated biphenyl-degrading microbial communities in soils and sediments, *Curr Opinion Microbiol* 5, 246-253.
- Wu, Q.Z., Watts, J. y May H. (2002). Identification of a bacterium that specifically catalyzes the reductive dechlorination of polychlorinated biphenyls with double flanked chlorines, *Appl Environ Microbiol* 68, 807-812.
- Yadav, J.S., Wallace, R.E. y Reddy, C.A. (1995), Mineralization of mono- and dichlorobenzenes and simultaneous degradation of chloro- and methyl-substituted benzenes by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*, *Appl Environ Microbiol* 61(2), 677-680.
- Zharikov, G. A., Varenik, V. I., Borovick, R. V., Dyadishev, N. R., Kapranov, V. V., Kiselyova, N. I., Kovalyov, V. P. y Rybalkin, S. P. (2002). Ecologically safe technology for bioremediation of soils polluted by toxic chemical substances, *NATO Science Series*, 1: Disarmament Technologies, 37, 101-186.