

Aproximación teórica a la biosorción de metales pesados por medio de microorganismos

Theoretical approximation to the biosorption of heavy metals using microorganisms

Gregory Mejía Sandoval¹

RESUMEN

La biosorción de metales pesados por medio de microorganismos, es un proceso que utiliza biomasa viva o muerta, para retirar o inmovilizar estos iones metálicos de un medio líquido o sólido; se ha estudiado en detalle desde los años 70. Se ha logrado un amplio conocimiento acerca de los mecanismos físico – químicos del proceso, llevando actualmente las investigaciones a la transformación genética de microorganismos para la optimización del proceso de biosorción. En esta revisión sistemática se describen los mecanismos y modelos matemáticos utilizados para cuantificar el proceso de biosorción, el cual se ha dilucidado a través del conocimiento básico de la sorción en suelos. Se concluye que las investigaciones futuras se deben direccionar al aislamiento de cepas nativas, a la transformación genética de las mismas y a los procesos de escalado, para la obtención de un producto biotecnológico eficiente en su labor biorremediadora.

ABSTRACT

The biosorption of heavy metals using microorganisms is a process that uses living or dead biomass to remove or immobilize these metallic ions in a solid or liquid medium. This has been studied in detail since the 1970s. A wide range of knowledge has been achieved regarding the process's physical-chemical mechanisms, leading to the current investigations regarding genetic transformation of the microorganisms for optimizing the biosorption process. In this systematic revision I describe the mechanisms and mathematical models used to quantify the biosorption process, which has been elucidated through the basic knowledge of soil sorption. I conclude that future investigations must be directed at isolating native strains, transforming these genetically, and at scaling processes, in order to obtain a bio-technological product that is efficient in its bio-remedial task.

KEY WORDS:

biosorption, heavy metals, bioremediation.

¹ Grupo de investigación INCA-CES. Universidad CES. Correspondencia: gmejia@ces.edu.co
(Recibido el 01 de diciembre de 2005 y aceptado el 31 de enero de 2006)

INTRODUCCION

Los metales pesados están involucrados directa o indirectamente en gran parte de las actividades humanas, especialmente en los sectores industriales, agrícolas, mineros y urbanos. Actualmente dichas actividades se están acrecentando aceleradamente, aumentando al mismo tiempo sus residuos sólidos y líquidos, multiplicándose la concentración de iones metálicos en los sistemas bióticos terrestres, acuáticos y aéreos. Esto es uno de los principales problemas ambientales a nivel nacional y mundial, debido a que su acumulación y biomagnificación a través del tiempo en los sistemas bióticos y abióticos, afecta toda la cadena trófica en un ecosistema (superando ampliamente las concentraciones permitidas para ecosistemas sensibles, Cd ⁺²: 0.01 mg/l y Cr ⁺⁶: 0.05).

En el hombre, los metales pesados pueden producir ulceraciones en la piel, irritaciones gastrointestinales, promover la aparición de cáncer y otras enfermedades degenerativas e inducir mutaciones genéticas, afectando así su descendencia.

Generalmente los metales pesados se remueven por medio de procesos físico-químicos, los cuales son muy costosos e ineficientes cuando éstos están en bajas concentraciones, por lo anterior se han buscado alternativas biotecnológicas que permitan su remediación por medio de organismos vivos como bacterias, algas y hongos, con el fin de lograr alta eficiencia en la remoción de estos iones metálicos (> 99 %) y bajos costos.

Estos sistemas biorremediadores se han logrado implantar en grandes industrias y empresas mineras mundiales después de muchas investigaciones. En nuestro país se han reportado pocos estudios que generen un escalado de un sistema biotecnológico para la biorremediación de metales pesados; por lo tanto es limitado el acceso a los beneficios de este tipo de tecnologías.

En Colombia existen extensas áreas rurales contaminadas por metales pesados, debido a residuos líquidos y sólidos de diferentes industrias (curtiembres, minería, siderúrgicas, etc.), presentándose así una importante merma en las áreas destinadas a proyectos agropecuarios. Debido a la explotación demográfica, se requiere optimizar y aprovechar cada metro cuadrado de las áreas potenciales a ser utilizadas en la producción agrícola y pecuaria. Por ende se deben aunar esfuerzos para recuperar zonas contaminadas y explotarlas productivamente.

1. METALES PESADOS

1.1 GENERALIDADES

Los metales pesados son elementos con densidades, pesos atómicos y números atómicos superiores a 5 gr/cm³, 44.956 y 20 respectivamente, excepto los elementos de los grupos alcalino, alcalinotérreo, lantánidos y actínidos. Los metales pesados se pueden clasificar en esenciales (Co, Cu, Fe, Mn, Mo, Zn, V, etc), los cuales cumplen alguna función biológica a concentraciones traza y en no esenciales (Cr, Cd, Hg, Pb, As, Sb, etc), cuando no cumplen ninguna función biológica conocida.

Los iones metálicos hacen parte de la geosfera, por lo tanto se encuentran presentes de forma natural en la corteza terrestre (yacimientos) y son extraídos por el hombre para su fundición y posterior uso industrial. Las principales causas de acumulación natural en los ecosistemas son: la erosión, la actividad volcánica y los incendios forestales, que de la misma manera cumplen ciclos de acumulación y remediación, sin presentarse un efecto tóxico y/o nocivo para los ecosistemas.

El proceso de transformación de los metales pesados abarca desde su extracción de los yaci-

mientos, hasta la fundición y el refinado de estos, para obtener los metales de interés y convertirlos en bienes de consumo, que una vez utilizados son desechados. En cada una de estas etapas se liberan metales al ambiente; así, la minería expone las rocas metálicas a meteorización acelerada, lixiviación y escorrentía; la fundición y el refinado, liberan importantes cantidades como productos secundarios. Las descargas de las industrias de aplicación, transformación, residuos sólidos urbanos y lodos procedentes de plantas de tratamiento de aguas residuales, contienen una importante carga de diferentes iones metálicos ^(13, 26).

El aporte atmosférico se da principalmente por la combustión de materias primas energéticas fósiles como carbón, fuelóleo, gasolina, etc ^(57, 87).

Por lo tanto las actividades humanas son las principales causantes de la contaminación producida por la acumulación de estos elementos. Debido a sus características especiales, los metales pesados se convierten en potentes contaminantes ambientales; algunas de estas características son: su estabilidad, lo cual los hace persistentes y residuales en los ecosistemas, afinidad por grupos tiolicos (- SH -), presentes en la mayoría de las enzimas de cualquier organismo vivo, son biodisponibles en medio acuoso y tienen la capacidad de bioconcentrarse en los organismos acuáticos (peces, crustáceos, algas, etc) y terrestres (plantas), afectando toda la cadena alimenticia de los ecosistemas ^(13, 26).

Los metales pesados en los ecosistemas pueden ser detectados en su estado natural o complejados con sales. En las aguas superficiales pueden existir en forma de coloides y/o partículas, apareciendo como hidróxidos, óxidos, silicatos, sulfuros o adsorbidos en minerales del grupo de las arcillas, sílice y materia orgánica. También se pueden encontrar en fase disuelta (debido a la baja solubilidad de estos elementos, las concentraciones presentadas son

muy bajas en forma iónica o complejos organometálicos), la cual es dependiente del pH, del tipo de sorbentes en los que se encuentran adsorbidos, y por último del estado de oxidación de las fases minerales y el ambiente redox del sistema ^(6, 34, 53).

1.2 EFECTOS BIOLÓGICOS DE LOS METALES PESADOS

Debido a la movilidad de estos elementos en los ecosistemas acuáticos naturales (aguas superficiales y subterráneas) y a su toxicidad para el sistema biótico, los iones metálicos en general son considerados a nivel mundial como los contaminantes inorgánicos más importantes en el ambiente, por su carácter recalcitrante y poder de biomagnificación, sus concentraciones pueden llegar a ser tóxicas, planteando graves problemas para la perennidad de los ecosistemas y la salud del hombre.

La concentración de metales pesados que se pueden acumular en el cuerpo humano, varía según el ambiente donde el hombre viva y la exposición que se tenga a éstos (alimentación, agua, trabajo, etc.). Se ha demostrado la acumulación de estos iones metálicos (como Hg, Cr, Cd, Pb, As, V, etc.) en el tejido sanguíneo de madres en gestación y en el cordón umbilical de los nacimientos de estas madres. Además, los metales pesados se acumulan igualmente en las diferentes células del cuerpo (cerebro, hígado, riñón, corazón, páncreas, tejido muscular, huesos, sangre, etc.) complejados en unos péptidos llamados metalotieninas, libres en el interior celular, propiciando así un aumento en la reacción de Fenton, o también complejados en las diferentes macromoléculas orgánicas constituyentes de las diferentes células. La dinámica de estos efectos es directamente proporcional a las concentraciones acumuladas a través del tiempo en el cuerpo humano o en organismos vivos, debido a la continua exposición a los metales pesados ^(39, 65, 69, 75, 77).

Desde el punto de vista toxicológico son importantes por ser responsables de un gran número de intoxicaciones agudas y crónicas, pudiendo causar hasta la muerte. Por esta razón se consideran importantes dentro de las enfermedades ocupacionales ^(13, 26, 34).

También se han comprobado efectos genotóxicos en diferentes células de tejidos animales y vegetales, expuestas a metales pesados en el tiempo. En células vegetales fuera de los efectos genotóxicos, la exposición reiterada a diferentes concentraciones de iones metálicas conlleva a una drástica reducción en el crecimiento de las raíces, tallo y hojas, además de un grave efecto en la división celular en los diferentes tejidos vegetales. Se comprobó en plantas de *Tradescantia* y *Arabidopsis* un efecto mutagénico en plantas expuestas a altas concentraciones de metales pesados tales como As, Pb, Hg, Cd y Cr. Igualmente en las células de los diferentes tejidos animales se ha comprobado la genotoxicidad debido a la exposición continua a los metales pesados ^(36, 40, 42, 58, 71, 78).

Cuando se presenta toxicidad aguda debido a la exposición crónica a iones metálicos, en niños se pueden presentar síntomas como hiperactividad, cambios en la función sensora y en las habilidades cognitivas. En *Drosophila*, expuestas a diferentes concentraciones de Pb, Hg y Cd, se ha comprobado una degeneración de la función motora y sináptica, y en la cognición, debido a la alteración genética provocada por la acumulación crónica estos metales ^(2, 42, 55, 71).

Respirar niveles altos de Cr⁺⁶ puede causar irritación de la nariz, hemorragias nasales, úlceras y perforaciones en el tabique nasal; ingerir Cr⁺⁶ puede producir malestar estomacal, úlceras, convulsiones, daño en el hígado y riñón, y hasta la muerte. El contacto con la piel puede causar ulceraciones de esta. La EPA (Agencia de Protección Ambiental) y la OMS (Organización mundial de la Salud) han demostrado que el

Cr⁺⁶ es carcinogénico en seres humanos. En bacterias y algas se ha demostrado que el Cr⁺⁶ afecta la producción de lípidos, clorofila, crecimiento celular y aumenta la actividad de la superóxido dismutasa, en respuesta al estrés oxidativo generado por la intoxicación de este ion metálico; produciendo así cambios a nivel morfológico y metabólico ^(42, 75).

La toxicocinética del Cd⁺² tiene una vida media de 10 – 30 años en humanos. La sintomatología aguda produce vomito, diarrea, dolores musculares, dolores abdominales, daño hepático, insuficiencia renal y es nefrotóxico. Produce la enfermedad de Itai-itai. En bacterias produce un aumento en la expresión de metalotieninas ^(83, 59).

En los organismos acuáticos y terrestres se bioacumulan produciendo enfermedades y afecciones que llegan a producir la muerte (dependiendo del tipo de organismo y su sensibilidad a los metales pesados). En peces y crustáceos, puede ser nefrotóxico y afecta el sistema respiratorio. Por el poder de recalcitrancia y biomagnificación de los iones metálicos, estos afectan toda la cadena trófica ^(26, 54, 62).

1.3 MONITOREO DE METALES PESADOS EN RELLENOS SANITARIOS Y ALGUNAS INDUSTRIAS

La composición de los residuos sólidos urbanos (RSU) varía notablemente entre las diferentes ciudades del mundo, como el porcentaje de metales que llegan a un relleno sanitario (1.62 – 6 %, peso seco), de materia orgánica (30 – 64 %), de plásticos (2.8 – 12 %), de papel y cartón (10 – 30 %), vidrio (1.1 – 10 %), textil (2 – 9 %) y varios (2.1 – 10 %) (Agudelo, 1994 ; CIFCA, 1980). La concentración de metales pesados en los lixiviados de los rellenos sanitarios también varía en los rellenos sanitarios de las diferentes ciudades del mundo, como Cd (0.008-17 mg/l), Cu (0.05-9.9 mg/l), Cr (1.48-586 mg/l), Pb (0.1-14.59 mg/l) ^(1, 24).

En el relleno sanitario de Medellín, Curva de Rodas, se tienen concentraciones en lixiviados, por encima de los valores admisibles de vertido a fuentes naturales, como el Cd (9.125-86 mg/l valor medio y máximo), Cu (1169.63-3800 mg/l), Pb (33.927-308 mg/l), Cr ⁺⁶ (586.03-1450 mg/l) y Hg (0.59-170 mg/l) (Agudelo, 1994) ⁽¹⁾.

En estudios realizados por el Departamento de Energía de Estados Unidos, en 18 plantas industriales y plantas generadoras de energía y en 91 rellenos sanitarios, se encontró que en más del 50 % de las plantas generadoras de energía y en el 35 % de los rellenos sanitarios aparece contaminación de suelos por metales pesados y radionucleidos. Así mismo, en el 60 % de las plantas y el 50 % de los rellenos sanitarios se detectó contaminación de las aguas subterráneas por estos mismos elementos ⁽⁶⁴⁾.

Un monitoreo realizado en España, durante el periodo comprendido entre 1994-1997, en un ecosistema acuático aledaño al relleno sanitario de residuos sólidos urbanos (RSU) Miramundo de Cádiz, mostró un aumento significativo en la concentración de cobre (3.708 – 33.249 mg/l) y plomo (4.083 – 10.818 mg/l) en este ambiente natural ⁽⁶⁷⁾.

De igual manera reportes sobre lodos de depuradoras de aguas residuales presentan concentraciones considerables de metales pesados. Aunque estos cumplen con los valores límites para disposición agraria, se debe tener en cuenta que la disposición de estos lodos se realiza en rellenos sanitarios de RSU o en tierras agrícolas, convirtiéndose en una fuente permanente de acumulación importante de estos elementos en el tiempo (kg/ha-año). Por ejemplo se han realizado determinaciones de Ni (3-20 mg/kg), Pb (0.5-8.5 mg/kg) y Hg (5-65 mg/kg), que al ser depositados en los rellenos sanitarios aumentan la concentración de estos metales en los lixiviados del mismo ^(32, 74).

Para tener una idea del proceso de acumulación en los suelos (que por erosión y lixiviación, llegan a las fuentes de agua) y de bioacumulación, se realizó un estudio de los niveles ambientales de metales pesados en las proximidades de una planta cementera ubicada en el Municipio de Santa Margarida i els Monjos (Barcelona, España), allí se encontraron bajos niveles de metales pesados en suelo y hierba, que cumplían con las concentraciones ambientalmente sostenibles y que no representan riesgos adicionales para la población que habita en la zona bajo la influencia ambiental directa de la cementera; pero que a mediano o largo plazo puede afectar el sistema biótico de la zona (debido a la bioacumulación y biomagnificación). Algunos metales encontrados fueron, Cd (0.3-0.02 mg/kg), Cr (10.3-0.38 mg/kg), As (6.2 para suelo y 0.64 mg/kg en hierba), Hg (0-0.13 mg/kg), Cu (27.6-5.52 mg/kg) y Pb (16.4-0.77 mg/kg) ⁽²¹⁾.

En Colombia se han realizado algunos estudios sobre determinación de metales pesados en algunos ecosistemas acuáticos y en lixiviados de algunos rellenos sanitarios, tales como en el Río Negro (Posada y Palacio, 1998), en la sabana de Bogotá (Rodríguez y Giraldo, 1997 ; Cubillos, 1997), en el Río Medellín (Rodríguez y Giraldo, 1997) y en los ríos del norte del Departamento del Cauca (Pérez et al, 1998). Algunos metales presentaron concentraciones mayores que las admisibles para la vida acuática, como el Cd: 0.0015-0.3 mg/l (concentración admisible para la vida acuática: 0.0002 mg/l), Cu: 0.0042-0.85 mg/l (0.002 mg/l), Pb: 0.0265-0.072 mg/l (0.001 mg/l) y Zn: 1.4-0.0590 mg/l (5 mg/l) ^(10, 52).

2. ESTRATEGIAS PARA LA REMOCION DE METALES PESADOS

Los metales pesados no pueden degradarse, solo transformarse y/o retirarse del medio. Por esto las soluciones actuales de remediación de los iones metálicos requieren de altos costos y un gran avance tecnológico ⁽³³⁾.

Los métodos utilizados en la remediación de metales pesados son de dos tipos principalmente:

2.1 FÍSICO – QUÍMICOS.

2.1.1 Precipitación química.

Consiste en la retención de metales pesados haciéndolos insolubles con la adición de lechada de cal, hidróxido sodico y otros compuestos que suben el pH ^(14, 26).

2.1.2 Membranas líquidas.

Esta técnica se centra en el estudio de los fenómenos de transporte asociados a la permeación de los metales en la membrana líquida ^(14, 26).

2.1.3 remoción por carbono activado.

Los carbones activados presentan una considerable capacidad de adsorción de diversos compuestos, tanto en fase gaseosa como líquida, principalmente gracias a su estructura porosa altamente desarrollada que les confiere una gran superficie específica. Por esta razón, es interesante su aplicación en la remoción de iones metálicos pesados ^(13, 26).

2.2 BIOLÓGICOS O BIORREMEDIACION

La biorremediación, es un proceso de catálisis biológica espontáneo o controlado, que busca remediar o eliminar la contaminación ambiental (Glazer y Nikaido 1998). Es utilizada comúnmente para disminuir el contenido de químicos orgánicos de suelos, aguas superficiales, aguas residuales urbanas e industriales y lodos aceitosos de refinerías petroleras. Las técnicas de biorremediación se enmarcan en cuatro categorías: tratamiento *in-situ*, compostaje, landfarming y biorreactores. Los tres procesos de biorremediación más importantes son:

2.2.1 Fitorremediación.

Consiste en el uso de plantas verdes para contener, remover o neutralizar compuestos orgá-

nicos, metales pesados o radionucleidos encontrados en la rizosfera. Un ejemplo de la fitorremediación la constituye el uso de la especie *Thlaspi caurulencens* en suelos contaminados con zinc y cadmio. Lombi *et al.* (2001) (reportado por Torres, 2003) encontraron que el uso de esta especie lograba eliminar más de 8 mg/Kg de cadmio y 200 mg/Kg de zinc, representado estos valores el 43 y 7 por ciento de estos metales en un suelo agrícola, respectivamente ⁽⁷⁹⁾.

2.2.2 biorremediación animal.

Existen animales, como los crustáceos, que actúan como agentes descontaminantes, ya que pueden desarrollarse en medios con fuerte toxicidad y poseen en su interior microorganismos capaces de retener los metales pesados ⁽⁷⁹⁾.

2.2.3 biorremediación por medio de microorganismos.

Los microorganismos pueden inmovilizar iones metálicos por vía activa, como las bacterias que usan sulfatos como aceptor terminal de electrones y activamente producen y excretan un ion sulfito, el cual forma un complejo insoluble con iones metálicos presentes en la solución, causando la precipitación de éstos. En contraste, la biosorción es un proceso pasivo, que se puede dar tanto en biomasa viva como en biomasa muerta.

En la práctica existen tres categorías generales de procesos biotecnológicos para el tratamiento de residuos que contienen metales tóxicos: la biosorción, la precipitación extracelular y la captación a través de biopolímeros purificados y de otras moléculas especializadas, derivadas de células microbianas; estos procesos no son excluyentes el uno del otro, involucrando fenómenos físico-químicos y biológicos ⁹. Actualmente las industrias de fundición y minería, han implementado estas tecnologías para el control en las descargas al ambiente ^(4, 29, 51).

3. SORCION DE IONES METÁLICOS

3.1 DEFINICION

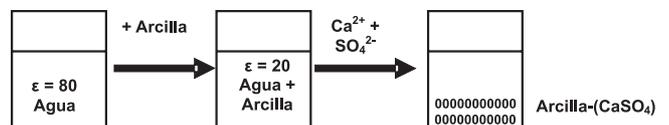
Las sustancias húmicas y las arcillas tienen la capacidad de unir aniones y cationes (como metales suaves o fuertes); este proceso es denotado como adsorción o sorción; la distinción entre ambos términos está basada en los mecanismos de unión de éstos. En la adsorción, una especie química puede ser adsorbida por una superficie, electrostáticamente; entre tanto en la sorción, una especie química puede ser acumulada en la superficie de los minerales a través de la interacción electrostática, de interacciones hidrofóbicas y/o precipitación. La sorción también se puede definir como la transferencia de iones de una fase en solución a una fase sólida.

Las superficies minerales pueden catalizar la precipitación de iones, por medio de algunos mecanismos, tales como las simultáneas sorciones de aniones y cationes, donde la actividad de dos especies iónicas (anión y catión) llega al punto de saturación con respecto a la del mineral dado, permitiendo así la precipitación en la superficie. Otro mecanismo de precipitación iónica está basado en la incapacidad de la superficie del mineral para excluir los iones, por ejemplo si la constante dieléctrica de la solución es mayor en comparación con la superficie del mineral se incrementa la fuerza de atracción entre iones con cargas opuestas; en este caso la falla de la superficie sólida

para excluir el anión asociado, permite la precipitación.

Un ejemplo del concepto anterior es: si la constante dieléctrica ($k = \frac{\epsilon}{\epsilon_0}$, adimensional) del agua pura es 82 y luego de que un sorbente (arcilla) es inmerso en el agua, la constante es menor de 20 y asumiendo que la superficie es afín por el Ca^{2+} y existe en solución un anión como el SO_4^{2-} , el sorbente une al anión y el catión se asocia con el anión quedando Sorbente- $(\text{CaSO}_4)_n\text{H}_2\text{O}$, el cual se precipita fácilmente.

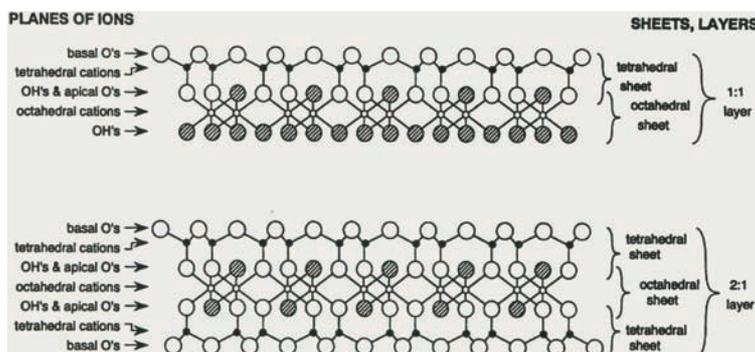
Figura 1. Ejemplo de precipitación del CaSO_4 .



La reacción de los cationes con la superficie de los minerales puede ser mediante complejos con la esfera interna o con la externa (modelos estructurales de los complejos minerales y orgánicos, en su interior y en el exterior) y el tipo de reacción es por medio de interacciones electrostáticas. (Ver Figuras 2, 3 y 4).

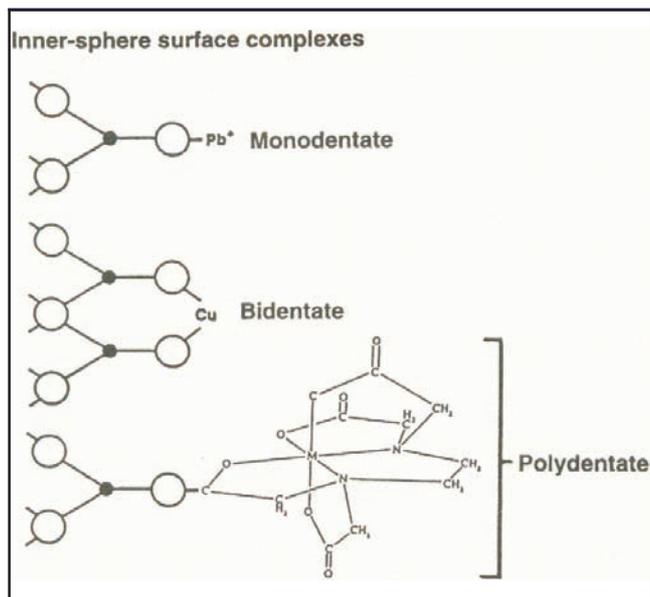
En la Figura 2, observamos el modelo estructural general de una arcilla cualquiera, conformada por capas con una distribución espacial ordenada de los diferentes átomos que la conforman (arcilla: estructura mineral), en especial los átomos de oxígeno (O) y los hidroxilos (OH).

Figura 2. Modelos estructurales de arcillas 1:1 y 2:1 ⁽²³⁾.



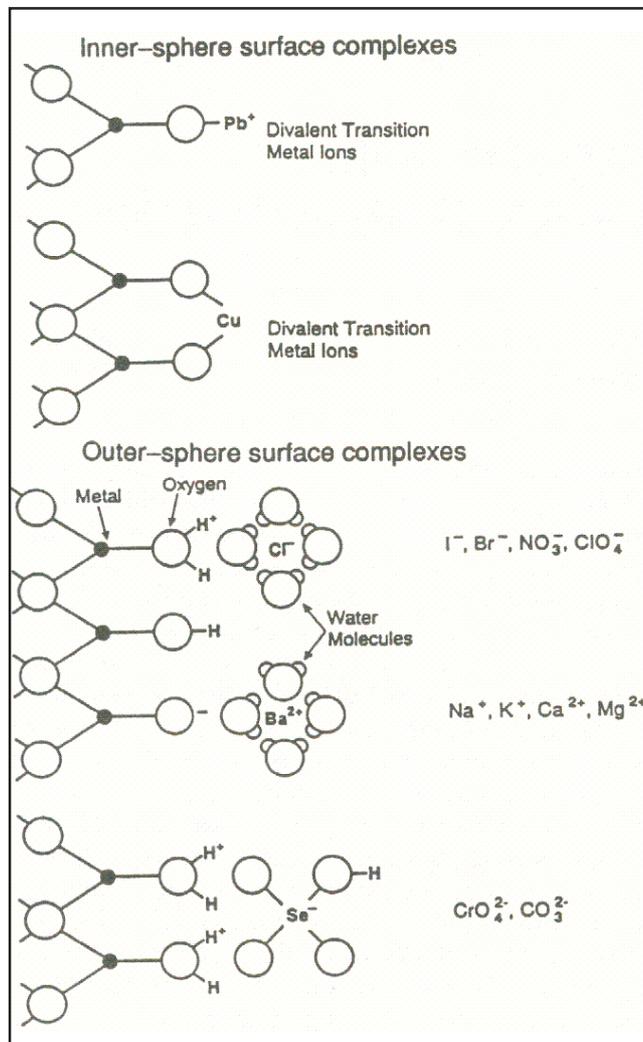
Tres modos de reacción pueden identificarse: monodentada, bidentada y polidentada. Generalmente el esquema monodentado es presentado con la unión del catión en un solo punto, la bidentada presenta la unión del catión en dos y la polidentada en tres o más puntos de unión, estos tipos de uniones están esquematizadas en la Figura 3. Los dos primeros modos de reacción son comunes en las superficies minerales, mientras que la estructura polidentada es común en superficies orgánicas; un prerequisite para el complejo polidentado es el potencial que tienen las superficies orgánicas para someterse a reconfiguraciones durante el acomplejamiento.

Figura 3. Esquema de esfera interna y formación de complejos (sorci3n de cationes) ⁽²³⁾.



En la Figura 4, observamos que los complejos de superficie en la estructura exterior de las arcillas, los cuales interaccionan con las moléculas de agua por medio de puentes de hidrógeno y a su vez los iones (I^- , Br^- , Na^+ , K^+ , CrO_4^{2-} , etc.) están hidratados cerca de la superficie de la arcilla.

Figura 4. Esquema de esfera externa y formación de complejos (sorci3n de cationes y aniones) ⁽²³⁾.

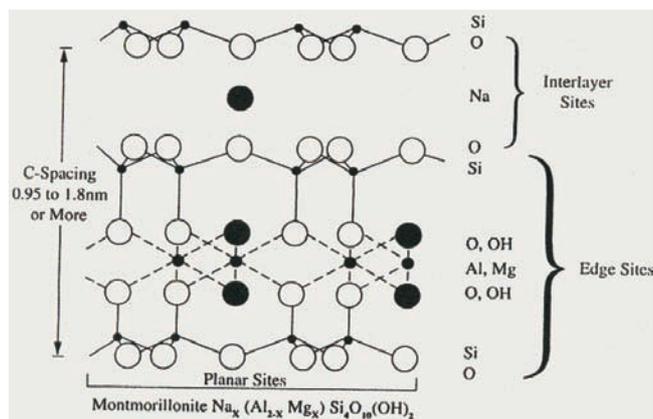


3.2 MECANISMO: GRUPOS FUNCIONALES DE SUPERFICIE

Los componentes de las superficies minerales responsables de la sorci3n son los grupos funcionales, quedando cargados negativamente debido a la desprotonaci3n a un pH determinado (de acuerdo al grupo funcional y al tipo de molécula en si). Existen tres grupos funcionales potenciales para que se de el proceso de sorci3n en las arcillas; el primer grupo es el $-Al-OH$ (octahedral) o aluminol, con un pKa alrededor de 5, el segundo es el silanol ($-Si-OH$, tetrahedral) con un pKa alrededor de 9, y el ter-

cero es el intermedio $-\text{Si}-\text{Al}(\text{OH})_2$ o sitio ácido de Lewis (el OH está entre una lamina tetrahedral y otra octahedral) con un pKa entre 6 – 7. Todos estos grupos funcionales están distribuidos en tres diferentes sitios en la estructura de las arcillas. El primer sitio es conocido como "planar", y es representado por las cavidades de siloxano expuestas. El segundo sitio es conocido como "fin" y es representado por aluminol silanol y grupos funcionales $-\text{OH}$ intermedios. El tercer tipo se conoce como "intercapa" y es representado por el espacio existente entre las cavidades de siloxano adyacentes (ver Figura 5).

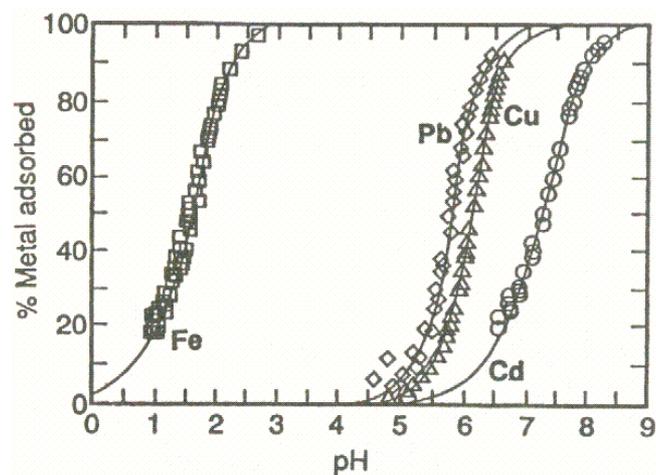
Figura 5. Estructura de un tipo de arcilla (Montmorillonita), mostrando el sitio planar, los sitios finales y de intercala ⁽²³⁾.



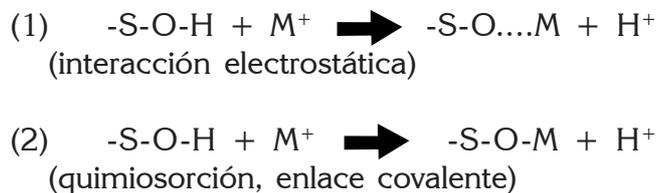
La ecuación de Henderson-Hasselbalch puede explicar el proceso de sorción desde el punto de vista de desprotonación y protonación de los grupos funcionales. Por ejemplo el grupo funcional $-\text{Al}-\text{OH}$ (aluminol) luego de sufrir una desprotonación queda como $-\text{Al}-\text{O}^-$, el cual atrae cationes y forma complejos como $-\text{Al}-\text{O} \cdot \text{nH}_2\text{OM}$, donde M es el metal acomplejado. De acuerdo con la ecuación de Henderson-Hasselbalch una superficie con este grupo funcional con un pKa de 5, significa que a pH 5 la mitad de la superficie esta desprotonada y por lo tanto cargada negativamente, estando a la mitad de su potencial de sorción máximo. Con

un aumento de pH en 2 unidades con respecto al pKa, la superficie está a su máximo potencial de sorción y con una disminución de 2 unidades en el pH, la superficie está totalmente protonada y su potencial de sorción es cero. En un decrecimiento en el pH mayor de dos unidades, se logra el efecto de sorción de aniones, como $-\text{Al}-\text{OH}_2^+$ que puede formar complejos con Cl^- , y SO_4^{2-} ; los grupos $-\text{Al}-\text{OH}$ y $-\text{Al}-\text{Si}-\text{OH}$ tienen esa característica, llamada potencial reverso. En la Figura 6, podemos observar la relación directa que existe entre el pH y el porcentaje de iones metálicos adsorbidos por un sorbente específico.

Figura 6. relación entre el pH y la adsorción de un metal por un sorbente ⁽⁸⁴⁾.

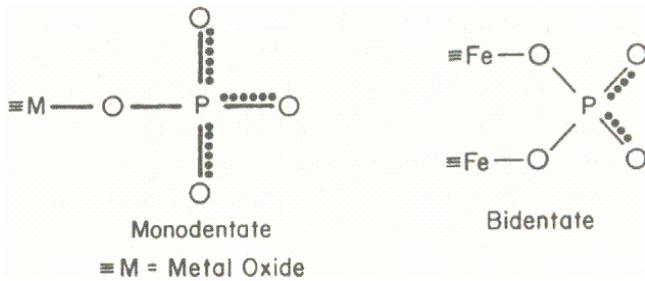


Dos reacciones que describen el proceso de sorción por medio de interacciones electrostáticas y por quimiosorción son:



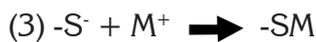
Por ejemplo el grupo fosfato forma complejos monodentados o bidentados (ver Figura 7).

Figura 7. Esquema de sorción de un metal por un grupo fosfato (68).



3.3 MODELOS DE SORCIÓN EN EQUILIBRIO

El modelo de sorción en equilibrio considera al suelo como un material homogéneo y por tanto las reacciones de sorción son reversibles y se basa en la siguiente reacción general:



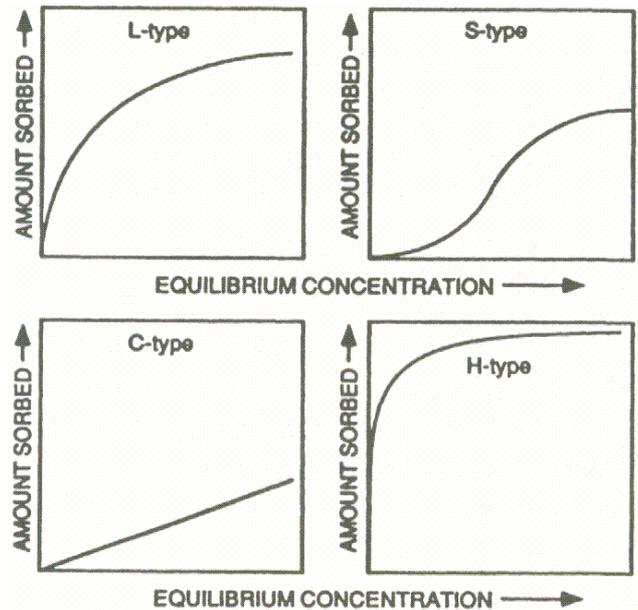
Donde S es el sorbente, M el metal y SM el complejo de sorción (sorbente – metal).

Donde la reacción de equilibrio puede ser expresada como:

$$(4) K_m = \frac{[SM]}{[S^-][M^+]}$$

Las dos técnicas más usadas para modelar los procesos de sorción en equilibrio son: la aproximación de Freundlich y la aproximación de Langmuir. Ambas involucran isothermas de sorción, las cuales describen la relación entre la concentración disuelta de la especie química a sorber (mg/l, mg/l, meq/l o mmol/l) y la cantidad sorbida por el sorbente; las unidades son de especie sorbida por unidad de masa de sorbente (mg/kg, mg/kg, meq/kg o mmol/kg); se asume que el proceso se da bajo condiciones de temperatura y presión constantes. Las isothermas de sorción se han clasificado en cuatro tipos, dependiendo de su forma (ver Figura 6).

Figura 8. Tipos de isothermas de sorción (23).



- Tipo L. Describe una gran afinidad entre el sorbente y el sorbato, usualmente indica quimiosorción (fosfatos unidos a metal-óxidos, MPO_4).
- Tipo S. Describe las interacciones entre sorbente y sorbato (metales unidos a arcillas).
- Tipo C. Describe fraccionamiento, sugiriendo una interacción entre un sorbente hidrofóbico y un sorbato hidrofóbico (pesticidas – materia orgánica).
- Tipo H. Describe una fuerte quimiosorción, el cual es un caso extremo de isothermas tipo L (fosfato – óxido de hierro).

3.3.1 aproximación de Freundlich.

Los suelos son sistemas con múltiples componentes (líquido, sólido y una fase gaseosa) constituyéndose en sí mismo en un estado dinámico y siempre tendiendo a mantener el equilibrio. La variación de una o varias de las fases afecta las otras directamente, llegando a un nuevo estado de equilibrio. La ecuación de Freundlich involucra un proceso de sorción en equilibrio, considerando la siguiente reacción:



donde $-S$ denota una superficie de algún mineral, C denota alguna sustancia química (metal), en equilibrio con $-S$, $1/n$ es una constante de linealización empírica y $-SC$ denota el complejo sorbato-sorbente. El equilibrio de la reacción anterior está dado por la ecuación 6:

$$(6) K_D = -SC/C^{1/n}$$

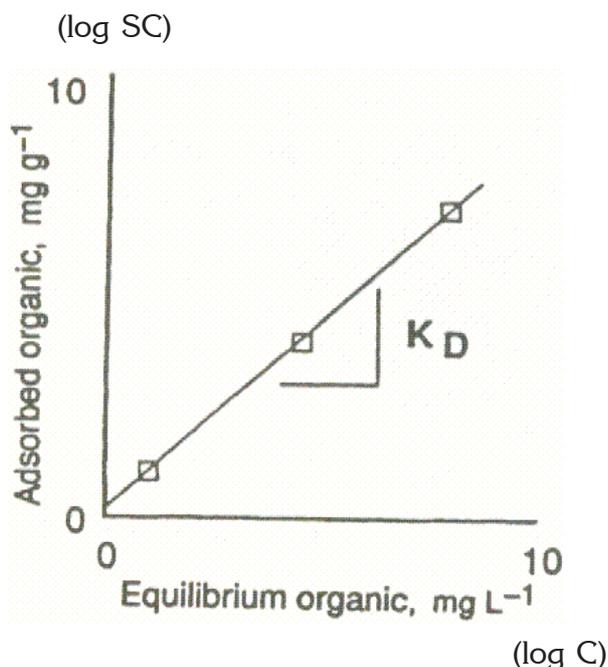
Donde K_D es el coeficiente de distribución. Si despejamos el complejo $-SC$, nos queda la ecuación 7:

$$(7) -SC = K_D (C^{1/n})$$

Graficando $-SC$ contra C , nos mostrará una curva. Pero si linealizamos, tomando logaritmos a ambos lados de la ecuación 7, produce una gráfica lineal con K_D como intercepto y $1/n$ como pendiente (ver Figura 7).

$$(8) \text{Log-SC} = \log K_D + 1/n \log C$$

Figura 9. Linealización de Freundlich (23).



La gráfica linealizada de Freundlich (tipo C), representa una aproximación empírica para predecir la distribución de una especie química en la fase líquida o en la fase sólida. Este modelo puede ser usado para predecir la lixiviación de un herbicida en particular o de un metal pesado en el suelo.

3.3.2 aproximación de Langmuir.

Este modelo incorpora algunas asunciones:

- El número de superficies de sorción es aproximada (no se sabe el número exacto de superficies de sorción).
- La sorción incluye una monocapa.
- La sorción es independiente de la cobertura superficial.
- Todos los sitios de sorción están representados por grupos funcionales similares.
- Las isothermas son de tipo L.

La reacción de Langmuir es:



Donde $-S$ y C son variables iguales a las de la ecuación de Freundlich.

donde la ecuación que representa el equilibrio es:

$$(10) K_L = (-SC)/(-S)(C)$$

Despejando $-SC$ de la ecuación 10:

$$(11) -SC = K_L (-S)(C)$$

$$(12) -S = (S_T) - (-SC)$$

Si S_T denota el número total de sitios de sorción, entonces la ecuación 7 reemplazada en la ecuación 6, da como resultado la ecuación 10, la cual presenta una gráfica tipo L, donde la asíntota es S_{Type} :

$$(13) -SC = K_L S_T C / (1 + K_L C)$$

3.4 MODELO DE SORCIÓN DE NO-EQUILIBRIO

Los modelos de sorción de iones y compuestos orgánicos e inorgánicos consideran al suelo como un material homogéneo y a la sorción en si como un proceso único, reversible y en equilibrio. Sin embargo existen datos experimentales que evidencian la no validez de estos supuestos. Muchos estudios en columnas de suelo con transporte de pesticidas y utilizando los modelos de equilibrio (Freundlich y Langmuir), mostraron sustanciales desviaciones entre lo calculado y lo medido, para el efluente, observando picos retardados y colas pronunciadas en las curvas de sorción, indicando esto que el proceso de sorción/desorción ocurre simultáneamente ^(16, 37, 44, 46, 63).

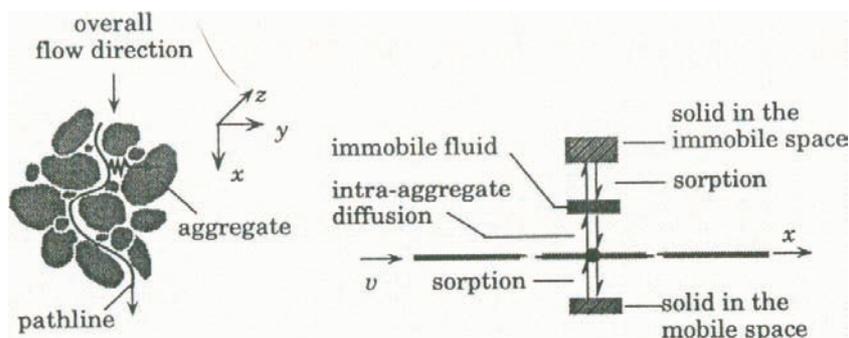
Una asunción del modelo de no-equilibrio asume un modelo "TS" (two-sites), en el que la fase sólida del suelo esta compuesta por dos tipos de fracciones de sorción: la tipo 1, en la cual la sorción es instantánea y la tipo 2, en la cual la sorción es dependiente del tiempo, estando relacionada la fracción tipo uno con el material mineral (minerales del suelo) y la fracción tipo dos con el material orgánico (moléculas orgánicas del suelo). Este modelo falla cuando se describe la liberación final del sorbato en un rango de tiempo amplio ^(85, 86).

Otro supuesto del proceso de sorción en no-equilibrio es el "proceso de difusión", conocido también como difusión intra-partícula (movimiento

de agua dentro de los agregados); el cual enfatiza en el proceso de sorción como un gran número de sitios de sorción en serie (longitud de los efectos de sorción), expresado en una ecuación de difusión. Para resolver esta ecuación la sorción es visualizada como un proceso de transferencia de masa de las moléculas de sorbato a través de los intersticios de las partículas sorbentes, hipotetizadas como esferas de cada grano de material mineral u orgánico. Sin embargo esta es una aproximación que esta lejos de la realidad en la aplicación práctica, debido a la natural heterogeneidad en la geometría, tamaño y composición de las partículas del suelo ^(49, 72, 85, 86).

El modelo de sorción de no-equilibrio es complicado, debido a los procesos simultáneos que se dan en la estructura de una matriz sólida inmersa en muchas diferencias, tanto en geometría como en composición (multiprocesos de no-equilibrio). Un acoplamiento entre los modelos de TS y el proceso de difusión puede dar buenos resultados, teniendo en cuenta que el proceso se da en dos regiones, una de flujo rápido (inter-agregados), referida al flujo entre agregados del suelo, a otra región de inmovilización (intra-agregados), referida al flujo dentro de cada uno de los agregados (ver Figura 8). La modelación matemática de este proceso esta basada en modelos estadísticos, que involucran procesos individuales en TS y de difusión; también aproxima el modelo acoplado (TS-difusión), teniendo en cuenta las propiedades físicas del suelo, como el volumen de poros y velocidades internas de flujo ^(8, 72, 85, 86).

Figura 10. Esquema de flujo de un soluto a través de un agregado (a); conceptualización del proceso físico – químico acoplado ⁽⁸⁵⁾.



Este modelo de sorción de no-equilibrio utiliza distribuciones probabilísticas que consideran simultáneamente la heterogeneidad de las propiedades hidráulicas, físicas y químicas de los suelos, con una representación convectiva estocástica, describiendo variables como la distribución del tiempo de residencia de un soluto en la matriz del suelo, representando específicamente la variabilidad en las velocidades distribuidas en la matriz. Esto seguido de una convolución integral representando los procesos espontáneos y simultáneos debido a las propiedades físico – químicas de los suelos (específicas para cada uno).

4. BIOSORCIÓN DE METALES PESADOS POR MEDIO DE MICROORGANISMOS

4.1 DEFINICIÓN DEL PROCESO DE BIOSORCIÓN

El concepto biosorción de metales pesados, se refiere a la captación de iones metálicos por medio de una biomasa viva o muerta (la diferencia es el poder tóxico de los metales, que puede afectar cuando se trabaja con biomasa viva), a través de mecanismos físicos y químicos, como la adsorción y el intercambio iónico. Cuando se utiliza biomasa viva, los diferentes procesos metabólicos indispensables para el desarrollo de cualquier organismo vivo pueden contribuir en el proceso. El proceso básico de biosorción es igual al proceso de sorción (explicado en el capítulo 3), y utiliza los mismos modelos matemáticos para cuantificar la remoción de un metal, en particular de una solución contaminada con éste (modelos de Freundlich y Langmuir).

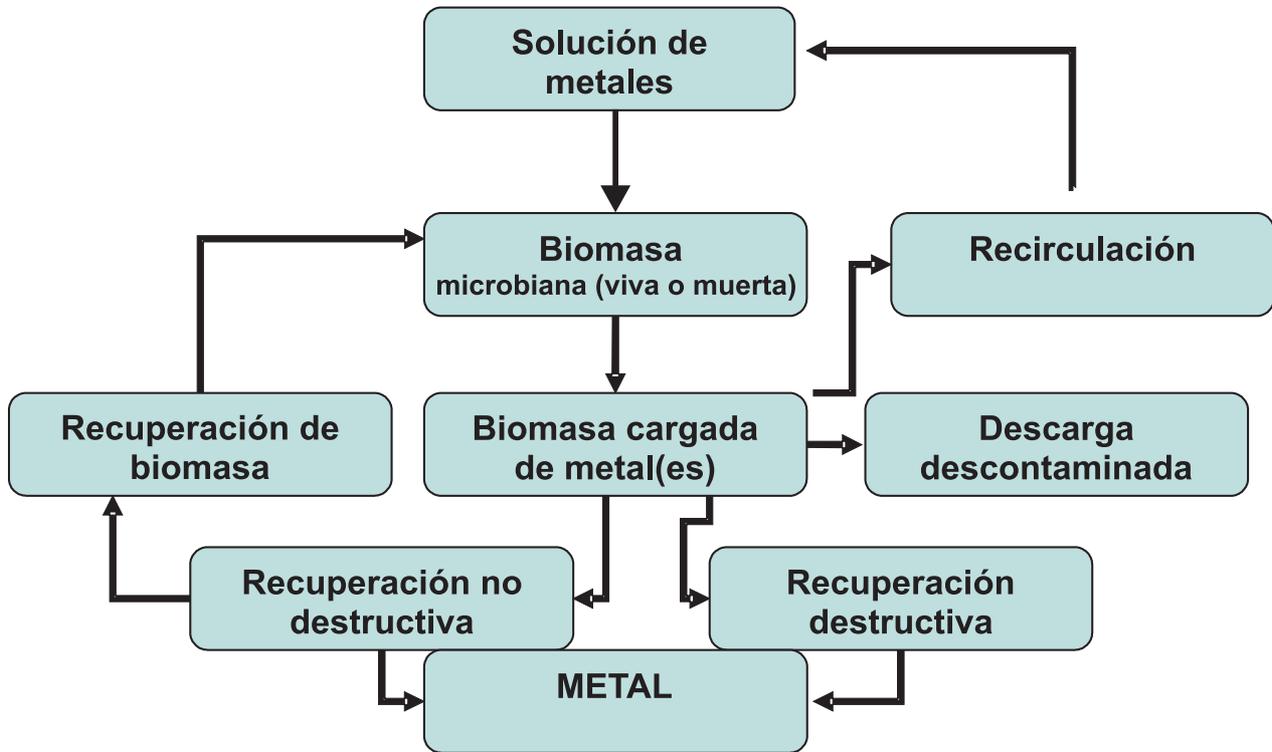
La biosorción involucra una fase sólida (biosorbente, como las membranas o paredes celulares) y una fase líquida (solvente, generalmente es agua) en el cual están la(s) especie(s) metálica(s) a ser biosorbida(s) (sorbato). Debido

a la gran afinidad del biosorbente por el sorbato, este último es atraído hacia el sólido siendo atrapado por diversos mecanismos, como las interacciones con los diferentes grupos funcionales que se encuentran en las superficies celulares de los microorganismos (no necesariamente requiere actividad biológica, biomasa muerta). Los potenciales sitios de unión en las superficies celulares son los hidroxilos, sulfhidrilos, aminas, amidas, grupos imidazol, carboxilos, fosfatos, y tioésteres, entre otros ^(9, 35, 41, 80, 82, 84). Igualmente se debe proporcionar un pH adecuado, que permita la desprotonación de los grupos funcionales ionizables y poder llevarse a cabo las interacciones iónicas.

El proceso de biosorción es continuo, hasta que se establece un equilibrio entre el sorbato disuelto y el sorbato biosorbido por la biomasa. El tipo y la calidad del biosorbente (biomasa viva o muerta) están dadas por la cantidad de sorbato que puede atraer y retener en un instante determinado. En un proceso biotecnológico de recuperación y descontaminación de un medio acuoso contaminado con metales pesados, los microorganismos que actúan como biosorbentes son puestos en contacto con el medio acuoso contaminado y una vez que esta biomasa ha removido los iones metálicos del medio acuoso, se tiene la opción de recuperar la biomasa viva e introducirla en un nuevo ciclo de biorrecuperación o biorremediación (se utilizan químicos suaves para bajar el pH y retirar los metales, sin destruir las células bacterianas). En caso de que no importe la integridad funcional de la biomasa o se trabaje con biomasa muerta, el o los metales se pueden retirar por métodos más drásticos (incineración). (Ver Figura 9).

Los sistemas que utilizan células vivas pueden emplear mezclas de microorganismos y de plantas superiores, como por ejemplo la mezcla de algas y bacterias en un proceso de biorremediación de efluentes mineros, obteniéndose un porcentaje de biorremediación mayor al 99 % en Cu, Cd, Zn, Hg y Fe ⁽³⁰⁾.

Figura 11. Esquema de los principios básicos en un proceso de biosorción de metales pesados de soluciones acuosas contaminadas, utilizando microorganismos.

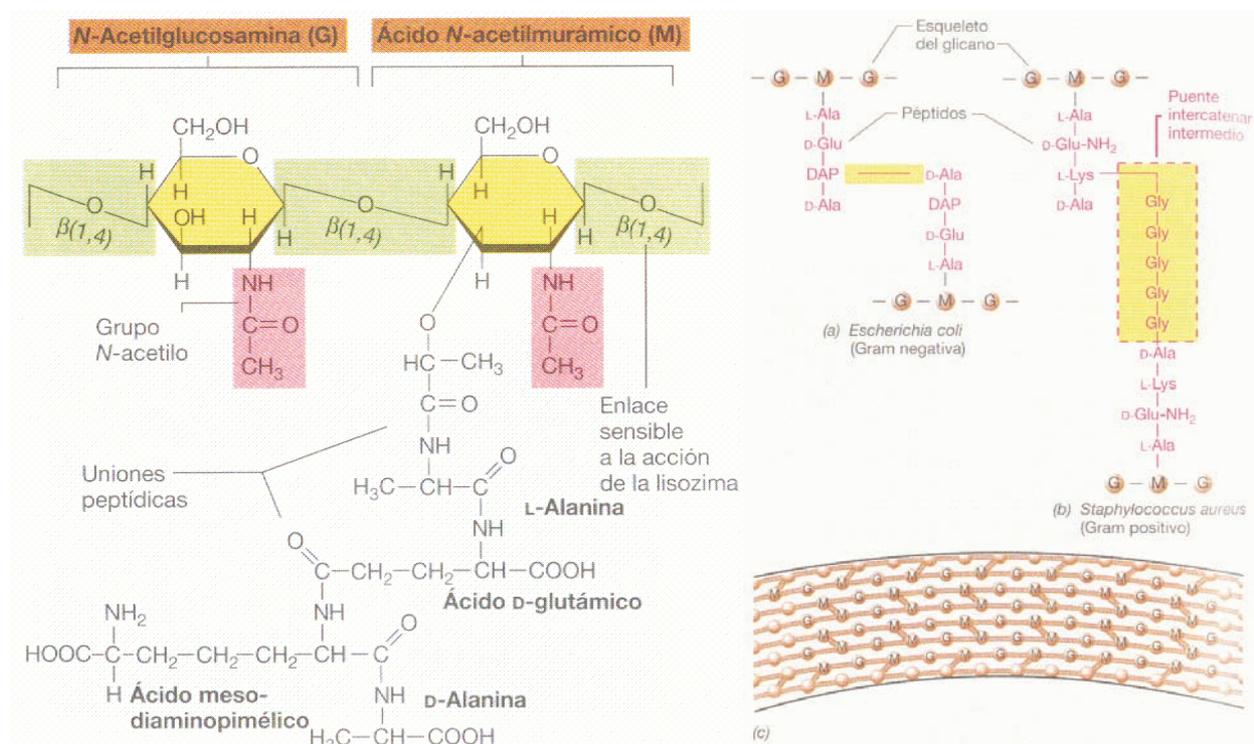


Los microorganismos que presentan pared celular son muy eficientes en los procesos de biosorción, debido a que esta pared es una estructura muy compleja, conformada por péptidos y carbohidratos, que a su vez forman una red de polímeros orgánicos llamados peptidoglucanos. En detalle el peptidoglucano está conformado por unidades repetitivas de dos derivados de azúcares N-acetilglucosamina y N-acetilmurámico, y de oligopéptidos conformados por L-alanina, D-alanina, D-glutámico y lisina. Como podemos observar en la Figura 10, el peptidoglucano está conformado por una alta densidad de grupos funcionales ionizables, los cuales al desprotonarse a un pH determinado tienen la capacidad de unir los metales pesados (cationes). Además, algunas bacterias tienen la capacidad de segregar expolisacáridos y proteínas, denominadas en conjunto glucocalix, acumulándose en el exterior de la pared celular, teniendo grupos funcio-

nales ionizables, potenciales para la unión de iones metálicos. Algunas de estas proteínas son, LamB, OmpA, y PAL ^(18, 45, 81, 84).

Al interior de las células se encuentra un grupo de pequeñas proteínas llamadas metalotieninas (alrededor de 60 aminoácidos) ricas en cisteína, que unen metales pesados tales como el Cd, Zn, Hg, entre otros. Estas metalotieninas tienen la capacidad de ser inducidas en situaciones de estrés, exposición a metales pesados, drogas anticancerígenas, glucocorticoides entre otras, actuando así como un mecanismo de defensa en contra de la toxicidad producida por las especies reactivas del oxígeno, metales pesados y otros tipos de compuestos orgánicos ^(43, 45, 76, 82). Estas proteínas de bajo peso molecular constituyen el principal mecanismo de defensa de las células eucarióticas en contra de la contaminación por iones metálicos.

Figura 12. Estructura del peptidoglicano⁽⁵⁰⁾.



4.2 BIOSORCIÓN DE METALES PESADOS POR ALGUNOS MICROORGANISMOS

Desde finales de los 60's se han venido investigando organismos (plantas, microorganismos, hongos y algas) que son potencialmente eficientes en la biorremediación de metales pesados. Los estudios realizados por Andersen y Lundgren (1969), mostraron la producción de enzimas bacteriales para la oxidación del hierro. Friedman y Dugan (1968) determinaron la concentración y acumulación de iones metálicos en la bacteria *Zoogloea*. Din y Suzuki (1967) estudiaron el mecanismo de oxidación del Fe^{+2} por la bacteria *Ferrobacillus ferrooxidans*^(3, 20, 28).

En los 80's se profundizó sobre el mecanismo de acción de las bacterias para transformar y/o biosorber iones metálicos; se empezó a investigar más organismos con potencial biorremediador. Doyle et al (1980) estudiaron la

selectividad de *Bacillus subtilis* por algunos iones metálicos, y D'Souza en 1983 (citado por Volesky, 1995), investigó la reducción del hierro y el manganeso por bacterias fotosintéticas. A partir de 1986 se estudiaron bacterias, como *Pseudomonas*, diferentes tipos de algas y de hongos como *Penicillium*, *Rhizopus* y levaduras como *Saccharomyces cerevisiae*^(22, 31, 35, 38, 73, 84).

Además se empezó a investigar sobre los péptidos involucrados en la retención de iones metálicos, diseñando muchas secuencias de aminoácidos (principalmente secuencias ricas en cisteína, glicina e histidina) para tal fin, y luego expresando los genes que codifican para esos péptidos en bacterias, aumentando así su potencial de biosorción. El mejor modelo de estudio de estos péptidos ha sido *Escherichia coli*, aunque también se han transformado cepas de *Saccharomyces cerevisiae* y *Ralstonia eutropha*^(27, 45, 47, 61, 81).

Algunos organismos reportados como eficientes para la biorremediación de metales pesados son: *Bacillus subtilis* (Cu, Pb, Mn, Ni, Zn, Fe), *Bacillus licheniformis* (Cu, Zn, Cr, Fe), biomasa de *Bacillus* spp (Cu, Zn, Cr, Fe), *Citrobacter* (Cd, Pb), *Saccharomyces cerevisiae* (Cd, Cu, Co, Zn, Cr), *Rhizopus arrhizus* (Cd, Cu, Pb, Hg, An, Cr), *Penicillium* spp (Cd, Cu, Pb, Hg, Zn, Cr), *Diatomeas* (Zn), *Euglena* (Ni), *Chlorella* (Pb) ^(5, 9, 25, 31, 38, 68, 84).

En Colombia se realizó un estudio en el ICP (Instituto Colombiano del Petróleo), utilizando *Citrobacter* como eficiente biorremediadora de Cd ⁺², por medio de la secreción de la enzima fosfatasa, la cual acompleja y precipita el metal ⁽⁶⁸⁾.

4.3 MICROORGANISMOS TRANSFORMADOS GENÉTICAMENTE

Los primeros estudios en transformaciones genéticas con el propósito de aumentar la eficiencia como biosorbente de una bacteria en particular, involucro la expresión intracelular de metalotieninas en células eucarióticas. Metalotieninas del espacio periplásmico de células eucariotas en humanos fueron expresadas en *E. coli*, obteniéndose un aumento de 3 a 5 veces más biosorción que la cepa nativa ⁷⁰. Pero a medida que se aumentaban las concentraciones de iones metálicos en el periplasma, estas concentraciones se hacían tóxicas para la bacteria. Así, se empezaron a realizar estudios para expresar metalotieninas y que éstas se ubicaran en la superficie celular, evitando así la acumulación nociva de metales pesados en el citoplasma celular.

Se expresaron diferentes tipos de oligopéptidos como LamB, OmpA, MTâ y PAL en *E. coli*, *R. metallidurans*, *Ralstonia eutropha* y *Pseudomonas putida*, los cuales se ubicaban en la superficie celular, encontrándose un aumento considerable en la captación de los metales pesados ^(18, 19, 48, 81, 82).

Conociendo en detalle la conformación de aminoácidos de las diferentes metalotieninas funcionales para unir iones metálicos, se evolucionó en la creación de oligopéptidos biosorbentes de metales pesados, basados en la secuencia de aminoácidos de las metalotieninas (sobre todo las metalotieninas de células eucarióticas humanas). Estos ligandos peptídicos de iones metálicos se diseñaron con altos contenidos en su estructura primaria de cisteína o histidina, aminoácidos que tienen alta capacidad de unir metales. Jugando con diferentes secuencias de estructuras primarias, en un alto porcentaje con cisterna o histidina, se crearon oligopéptidos específicos para unir Cd ⁺² y Hg ⁺², expresados en *E.coli* ^(19, 81, 82).

4.4 MODELOS DE BIOSORCIÓN

Los modelos de biosorción son los mismos modelos utilizados en sorción en equilibrio (ver ecuaciones 10, 11 y 12). Generalmente, en las investigaciones se caracterizan las isothermas de biosorción por medio de los modelos de Freundlich y Langmuir, así se puede tener una mejor visión de la especificidad y selectividad de un biosorbente por un metal en específico ^(11, 17, 56, 60).

Otra forma de la ecuación de Langmuir es:

$$(14) \quad C_f / q = (1 / q_{m\acute{a}x})b + C_f / q_{m\acute{a}x}$$

Donde Cf: concentración del metal en la solución (mg/l); q: biosorción del metal (mg/g); b y $q_{m\acute{a}x}$: constantes empíricas.

Otra forma de la ecuación de Freundlich es:

$$(15)$$

Donde q: biosorción del metal (mg/g); Cf: concentración del metal en la solución (mg/l); Kf y k: constantes empíricas.

Se debe tener en cuenta que los modelos matemáticos en el proceso de biosorción, comparados con los del proceso de sorción, son iguales; solo cambian los términos de las variables en las ecuaciones, para expresarlos en un lenguaje más utilizado en biología.

5. CONSIDERACIONES GENERALES Y CONCLUSIONES

A partir de las investigaciones y el entendimiento de los procesos de sorción en los suelos se ha dilucidado el proceso de biosorción de ocurrencia natural en los microorganismos. A medida que se ha detallado en el entendimiento de los mecanismos del proceso, se ha aprovechado la naturaleza del mismo para utilizarlo en beneficio del hombre y del medioambiente, como biorremediador de metales pesados que contaminan un ambiente determinado (suelo y/o agua). En la actualidad se tiene un conocimiento detallado de los mecanismos físico – químicos de la biosorción y los procesos moleculares inmersos que la hacen en los microorganismos, llegando al punto de optimizar en un alto porcentaje el proceso, por medio de transformaciones genéticas realizadas en bacterias, expresando en la superficie y en el interior celular diferentes tipos de metalotieninas.

Por ejemplo, Kotrba et al (1999), encontraron un incremento del 80 % en la capacidad de biosorción en una cepa de *Escherichia coli* transformada genéticamente, con capacidad de sintetizar péptidos ricos en secuencias repetitivas de glicina y cisteína. Sousa et al (1996), mediante la transformación genética de una cepa de *Escherichia coli* con capacidad de sintetizar un híbrido de la proteína LamB (proteína de membrana) el cual consistió en la proteína LamB unida a péptidos compuestos por secuencias repetitivas de histidina, lograron aumentar en un 400 % la capacidad de biosorción de la cepa nativa de *Escherichia coli* ^(45, 76).

Los modelos matemáticos de cuantificación en la biosorción son los mismos que se utilizan en la modelación del proceso de sorción en suelos (modelos de Freundlich y Langmuir) asumiendo el proceso como un modelo en equilibrio. Estos modelos son adaptables a la utilización de biomasa viva o muerta, aunque se deben centrar esfuerzos en diseñar modelos matemáticos más representativos en una escala real (procesos biotecnológicos), debido a que la biorremediación se da en medios (suelo y agua) que son modelos dinámicos en el tiempo inmediato (*p.e.* las aguas residuales).

La evolución en el conocimiento y desarrollo de la biosorción en microorganismos ha generado un verdadero proceso biotecnológico basado en el conocimiento básico y en el mejoramiento del proceso a nivel molecular, en condiciones *in vitro*, para así obtener un producto biotecnológico optimizado y eficiente para la biorremediación de metales pesados en suelos y agua. Se deben también direccionar las investigaciones al aislamiento y estudio de cepas nativas, potenciales para los procesos biorremediadores a través de la biosorción.

En Colombia se ha trabajado muy poco a nivel experimental en el campo de la biosorción. Solo el Instituto Colombiano del Petróleo ha realizado procesos de precipitación enzimática del cadmio, utilizando bacterias nativas del género *Citrobacter*; por medio de la fosfatasa ácida (utilizada como sorbente), enzima secretada por la bacteria ⁽⁶⁸⁾. Se debe generar un proyecto que lleve a la optimización de un proceso biotecnológico óptimo para la biosorción de metales pesados, iniciando con el aislamiento de cepas nativas del género *Bacillus sp*, evaluando posteriormente su capacidad de biosorción, para luego explorar la posibilidad de optimizar el proceso por medio de transformaciones genéticas y así generar un escalado que permita obtener un producto comercial eficiente y económico en el proceso de descontaminación de metales pesados.

La generación de un proceso biotecnológico en la biorremediación de suelos a partir de la biosorción de metales pesados por medio de microorganismos sería beneficioso en la reactivación de tierras para la producción agropecuaria. Teniendo en cuenta que el proceso de biorremediación debe estar acompañado de otros procesos biotecnológicos, como la recuperación de las propiedades físicas, químicas y biológicas de la matriz edáfica, perdidas en el proceso de contaminación.

6. GLOSARIO

Arcilla: Sustancia mineral, impermeable y plástica, formada principalmente por silicato de aluminio. El tamaño del grano es inferior a 0.002 mm

Biorremediación: Reparación de un daño ambiental y/o ecológico, por medio de organismos vivos, logrando reducir el riesgo a niveles aceptables.

Constante dieléctrica: Parámetro que describe las propiedades eléctricas de un medio. Es adimensional.

Contaminación: La presencia en el ambiente de uno o más contaminantes o de cualquier combinación de ellos que cause desequilibrio ecológico.

Contaminante: Toda materia o energía en cualquiera de sus estados físicos y químicos, que al incorporarse o actuar en la atmósfera, agua, suelo, flora, fauna o cualquier elemento natural, altere o modifique su composición y condición natural.

Degradación: proceso en el cual un compuesto orgánico puede ser transformado, bajo ciertas condiciones ambientales y por métodos físicos, químicos o biológicos.

Ecosistema: Unidad funcional utilizada en ecología para referirse a todos los seres vivos y sus alrededores, incluyendo las interacciones recíprocas entre los organismos y el medio que los rodea.

Escorrentía: Agua que fluye directamente desde la superficie del suelo a las corrientes, ríos y lagos.

Lixiviación: Proceso por el cual los nutrientes, minerales y contaminantes son arrastrados por el agua infiltrada en los suelos.

Relleno sanitario: Fracción de suelo seleccionada por estrictos estudios geológicos y de impacto ambiental, utilizada para la disposición final de los residuos sólidos urbanos.

Remediación: Reparación de un daño ambiental y/o ecológico, por medio de técnicas físico-químicas, logrando reducir el riesgo a niveles aceptables. La forma e intensidad de la intervención quedará establecida en función del tipo y detalle de la evaluación de riesgo realizada en el sitio.

Sistema Abiótico: Sistema en el cual sus componentes constitutivos son materia no viva.

Sistema Biótico: Todo lo viviente. Un sistema o asociación biótica comprende todos los organismos vivos presentes en un área determinada.

Sorbato: Ion o molécula que es potencialmente capaz de unirse a un sorbente.

Sorbente: Material orgánico o inorgánico capaz de unir iones o moléculas.

Sustancias húmicas: Compuestos orgánicos ácidos existentes en los suelos, debido a la degradación de la materia orgánica por medio de microorganismos.

Tratamiento: Es la acción de transformar los residuos (líquidos o sólidos) o sus propiedades con el fin de eliminar o evitar los riesgos no deseados a la salud del hombre y al equilibrio de los ecosistemas.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Agudelo García, Rubén Alberto. Tratabilidad de lixiviados producidos en rellenos sanitarios. Universidad de Antioquia, Facultad de Ingeniería. Tesis de Maestría en Ingeniería Ambiental. Medellín. 1994.
2. Akins J. M. et al. Evaluation of *drosophila melanogaster* as an alternative animal for studying heavy metal toxicity. *Toxicologist*, Feb; 11(1):39. 1991.
3. Andersen KJ, Lundgren DG. Enzymatic studies of the iron-oxidizing bacterium, *Ferrobacillus ferrooxidans*: evidence for a glycolytic pathway and Krebs cycle. *Can Journal Microbiol*, 15(1):73-79, junio. 1969
4. Atkinson, B. W. ; F. Bux. ; H.C. Kassan. Consideration for application of sorption technology to remediate metal-contaminated industrial effluents. *Water S.A.* 24:129-135. 1998.
5. Bio-land. Género *Bacillus*. Web: www.red6.org/bioland/nutricompoustmo.htm. Revisado el 15 de noviembre de 2004.
6. Brower Byrnes, Jennifer. et al. Comparison of ion-exchange resins and biosorbents for the removal of heavy metals from plating factory wastewater. *Environmental Science and Technology*, 31(10):2910-2914. 1997
7. Brown, Stanley.. Metal-recognition by repeating polypeptides. *Nature Biotechnology*, 15:269-272. 1997.
8. Bolt, G. H. Soil chemistry: B. Physico-chemical models. Ed. Elsevier Scientific Publishing Company. Oxford. 527 p. 1982.
9. Cañizares Villanueva, Rosa Oliva. biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 42:131-143. 2000.
10. CEPIS. Manual de evaluación y manejo de sustancias toxicas en aguas superficiales, sección 6, control de sustancias toxicas. Diciembre. México. 1998.
11. Chu, K. H. Improved fixed bed models for metal biosorption. *Chemical Engineering Journal*, 97:233-239. 2003.
12. CIFCA. Tres casos de impacto ambiental: Aeropuertos, Hidroeléctrica y Relleno Sanitarios de RSU. Cuadernos del CIFCA, Madrid. 1980.
13. Cortuelo Minguez, Luis M. ; Marqués Gutiérrez, María Dolores. Los metales pesados en las aguas (I), su origen. Acción de agentes biológicos. *Ingeniería Química*. 31 (356) p. 263-266, mayo. 1999.
14. Cortuelo Minguez, Luis M. Los metales pesados en las aguas (II), Acciones químicas. *Ingeniería química*. 31 (357) p. 263-266, mayo. 1999.
15. Cubillos González, Luz Miryam. Estudio de la contaminación de suelos de la Sabana de Bogotá por metales pesados. Memos de investigación # 367. Universidad de los Andes, Bogotá. 1997.
16. Dao T. H ; Lavy T. L. Atrazine adsorption on soil as influenced by temperature, moisture and electrolyte concentration. *Weed Science*, 26:303-308. 1978.
17. Davis, Thomas A. et al. A review of the biochemistry of heavy metal biosorption by

- brown algae. *Water Research*, 37:4311-4330. 2003.
18. De Lorenzo, Victor ; Valls, Marc. Exploiting the genetic and biochemical capacities of bacteria for the remediation of heavy metal pollution. *Microbiology Reviews*. 26:327-338. 2002.
 19. Dereck R. Lovley ; Lloyd, Jhon R. Microbes with a mettle for Bioremediation. *Nature biotechnology*, 18:600-603. 2000.
 20. Din, G.A , Suzuki I. Mechanism of Fe⁺² cytochrome c reductase of *Ferrobacillus ferrooxidans*. *Can, Journal Biochemistry*, 45(10):1547-1556, octubre. 1967.
 21. Domingo L, José ; Schuhmacher, Marta. Niveles ambientales de metales y dioxinas en las proximidades de una planta cementera. *Revista Técnica: Residuos*, # 61; p. 90-98, Julio-agosto. 2001.
 22. Doyle, R.J. ; Matthews T. H. ; Streips, U. N. Chemical basis for selectivity of metal ions by the *Bacillus subtilis* cell wall. *Journal Bacteriology*, 143:471-480. 1980.
 23. Evangelou, V. P. Environmental soil and water chemistry: principles and applications. Ed. John Wiley & Sons, Inc. New York. 563 p. 1998.
 24. Fantelli, María. Explotación de rellenos sanitarios (I). *Revista técnica: Residuos*, # 60, mayo-junio. 2001.
 25. Filall, B. K. et al. Waste water bacterial isolates resistant to heavy metals and antibiotics. *Current Microbiology*, 41:151-156. 2000.
 26. Förstner, U. ; Wittmann, G. T. W. Metal pollution in the aquatic environment. Ed. Springer-Verlag. 2^{da} ed. New York. 1983.
 27. Fraser, James A. et al. A gene from *Aspergillus nidulans* with similarity to URE2 of *Sacharomyces cerevisiae* encodes a glutathione S-transferase which contributes to heavy metal and xenobiotic resistance. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(6):2802-2808. 2002.
 28. Friedman, B. A., Dugan, P. R. Concentration and accumulation of metallic ions by the bacterium *Zoogloea*. *Development Industrial Microbiology*, 9:381-388. 1968.
 29. Gadd, G. M. y C. White. Microbial treatment of metal pollution – a working biotechnology?. *Trends Biotechnology*. 11:259-273. 1993.
 30. Gale, N. L. ; Wixson, B.G. Removal of heavy metals from industrial effluents by algae. *Development Industrial Microbiology*, 20:259-273. 1993.
 31. Galun, M. et al. Removal of metal ions from aqueous solutions by *Penicillium* biomass: Kinetic and uptake parameters. *Water Air and Pollution*, 33:359-371. 1987.
 32. Gemma Puente, Miguel, et al. extracción de metales pesados en lodos de depuradora de aguas residuales. *Revista Técnica: Residuos*, # 46:74-79, enero-febrero. 1999.
 33. Glazer N, Alexander ; Nikaido, Hiroshi. *Microbial Biotechnology*. Ed. W.H. Freeman and Company. 2^{da} ed. New York. 582 – 590. 1998.
 34. Gutiérrez lopez, Julio. et al. Técnicas de biorrecuperación in situ en acuíferos contaminados por metales pesados. Instituto Geológico y Minero de España. Oficina de Proyectos de Valencia. 2000.
 35. Greene, Benjamin. et al. Interaction of gold (I) and gold (III) complexes with algal biomass. *Environmental Science Technology*, 20:627-632. 1986.

36. Harper J. F. heavy metal pimps in plants. Government reports announcements & index, Issue 22. 15-24. 2000.
37. Huang, P.M. et al. Components and particle size fractions involent in atrazine adsorption by soil. *Soil Science*, 138:20-24. 1984.
38. Hutchins R, S. et al. Microorganism in reclamation of metals. *Annual Review Microbiology*, 50:753-789. 1986.
39. Jugo S. Metabolism of toxic heavy metal in growing organism: a review. *Environmental research*, 13(1):36-46. 1977.
40. Knasmóuller S, et al. detection of genotoxic effects of heavy metal contaminated soils with plant bioassays. *Mutation research*, 420(1-3):37-48, diciembre. 1998.
41. Kapoor, A. y Viraraghavan, T. Removal of heavy metals from aqueous solutions using immobilized fungal biomass in continuous mode. *Water Research*, 32(6):1968-1977. 1998.
42. Karin M. Interactions of heavy metals ions with the human genome. *Crisp Data Base National Institute of Health*, Mayo. 1998.
43. Kondoh, Masuo. et al.. Classical conditioning of metallothionein synthesis in mice. *Journal of health science*, 50(4):413-416. 2004
44. Kookana, R.S. et al. Time dependent sorption of pesticides during transport in soils. *Soil science*, 154:214-225. 1992.
45. Kotrba, Pavel. et al. Enhanced bioaccumulation of heavy metals ions by bacterial cells due to surface display of short metal bindings peptides. *Applied and environmental and microbiology*. 65 (3); p. 1092-1098, marzo. 1999.
46. Lavy, T. L. Micromovement mechanism of s-triazines in soil. *Soil Science*, 32:377-380. 1968.
47. Lovley, Derek y Lloyd, Jhon R. Microbes with a mettle for bioremediation. *Nature Biotechnology*, Vol. 33, Junio. 2000.
48. Lu, Yi ; Valentine S. Joan. Engineering metal-binding sites in proteins. *Structural Biology*. 7:495-500. 1997.
49. McBride, Murray B. *Environmental chemistry of soils*. Ed. Oxford University Press. Oxford. 406 p. 1994.
50. Madigan, Michael T. et al. *Biología de los microorganismos*. Ed. Prentice May. Madrid (España). 72-73. 2001.
51. Martin, Alexander. *Biodegradation and bioremediation*. Ed. Academic Press. New York. 302 p. 1994.
52. Ministerio de Salud. Decreto 475 del 10 de marzo de 1998, por la cual se expiden las normas técnicas de la calidad del agua potable. Presidencia de la República. Colombia.
53. McCullough, J. et al. *Bioremediation of metals and radionucleids. What is and how it works*. Office Biological and Environmental Research of the U.S. Department of Energy's Office of Science. Revisado el 20 de noviembre de 2004. Web: www.ibl.gov/NABIR/primer. 1999.
54. Moreno Garrido, Ignacio. acumulación de Cu y Zn por células microalgales marinas de *Nannochloropsis gaditana* (Eustigmatophyceae) inmovilizadas en alignato de calcio. *Ciencias Marinas*, 28(1):107-119. 2002.
55. Nagymajtaenyi L. et al. Developmental neurotoxic effects of environmental pollutants

- (heavy metals + organophosphates) in animal experiments. *Neurotoxicology*, 18(3):876. 1997.
56. Nourbakhsh, Nurbas M. et al. Biosorption of Cr^{+6} , Pb^{+2} and Cu^{+2} ions in industrial waste water on *Bacillus* sp. *Chemical Engineering Journal*, 85:351-355. 2002.
 57. Nriagu O, Jerome and Pacyna M, Jozef. Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals. *Nature*, 333(6169):134-139. 1988.
 58. Ocker H. D. Total content distribution of heavy metals in cereals and cereal products. *Ber Landwirtschaft*, 55(4):769-808. 1977.
 59. Olabarrieta, I, et al. Efecto in vitro del cadmio en dos diferentes modelos de células animales. *Toxicology in vitro*. 15:511-517. 2001.
 60. Pagnanelli, F. et al. Mechanism modeling of heavy metal biosorption in batch and membrane reactor systems. *Hydrometallurgy*, 71:201-208. 2003.
 61. Pazirandeh, Meheran. et al. Development of bacterium-based heavy metal biosorbents: enhanced uptake of cadmium and mercury by *Escherichia coli* expressing a metal binding motif. *Applied and Environmental Microbiology*. 64 (10); p. 4068-4072, octubre. 1998.
 62. Pérez H, E. et al. Niveles de Cd, Cu, Pb y Zn en los ríos del norte del Departamento del Cauca. En: *Unicauca Ciencia*. # 3, septiembre; p. 3-11. Universidad del Cauca, Popayán. 1998.
 63. Pignatello, J. J. Sorption dynamics of organic compounds in soils and sediments, in reactions and movement of organic chemicals in soils. *SSSA Special Publication*, No 22, 45-80. 1989.
 64. Riley, R.G. et al. Chemical contaminants on DOE lands and selection of contaminants mixtures for subsurfaces research. Department of Energy, Washington D.C. DOE/ER-0547T. 1992.
 65. Roane, T. M ; pepper, I. L. Microbial response to environmentally toxic cadmium. *Microbial Ecology*. 38; p. 358 – 354. 2000.
 66. Rodríguez, José Álvaro ; Giraldo Gomez, Eugenio. Estudio preliminar de sustancias potencialmente tóxicas de interés ambiental Colombia. *Memos de investigación # 387*. Universidad de los Andes, Bogotá. 1997.
 67. Rodríguez Barroso, M. R. et al. Calidad de las aguas próximas a un relleno sanitario: Experiencias en un relleno sanitario de RSU en Cádiz. *Revista Técnica: Residuos*, 32(373):219-227. 2000.
 68. Rodríguez M, R. et al. Precipitación enzimática del cadmio utilizando bacterias nativas del género *Citrobacter*. *Ciencia, Tecnología y Futuro*. 1 (3); p. 123-133. 1997.
 69. Romero R. A ; Salgado O ; Marcano L. Impact social factors and heavy metal pollution on the incident of anencephaly at the eastern coast of lake Maracaibo, Venezuela. *Trace Elements and Electrolytes*, 1581:34-38. 1998.
 70. Romeyer, F. M. et al. Bioaccumulation of heavy metals in *Escherichia coli* expressing an inducible synthetic human metallothionein gene. *Journal Biotechnology*, 8:207-220. 1988.
 71. Ruden DM. Toxicogenomics of lead, mercury and cadmium. *Crisp Data Base National Institute of Health*, Junio. 2003.

72. Selim, Magdi H. ; MA, Liwang. Nonequilibrium in soils: Modeling and application. Ed. Ann Arbor Press. Michigan. 492 p. 1998.
73. Silver, Simon ; Phung, Le T. Bacterial heavy metal resistance: New Surprises. Annual Review Microbiology, 50:753-789. 1996.
74. Soler, Pedro ; Polo, Alfredo. Problemática de los metales pesados en los lodos de depuradoras. Revista Técnica: Residuos, # 40:20-27. 1998.
75. Sonta S, et al. Investigation on the storage of heavy metals in human fetuses and mother. Congenital Anomalies, 41(3):265-6. 2001.
76. Sousa, Carolina. Et al. Enhanced metal adsorption of bacterial cells displaying poly-his peptides. Nature Biotechnology, 14:1017-1020. 1996.
77. Sugita M. The biological half-time of heavy metals: the existence of a third, "slowest" component. International Archives of Occupational and Environmental Health, 41(81):25-40. 1978.
78. Steinkellner H, et al. genotoxic effects of heavy metals: comparative investigation with plant bioassays. Environmental and molecular mutagenesis, 31(2):183-91. 1998.
79. Torres Rodríguez, Duillo. El papel de los microorganismos en la biodegradación de compuestos tóxicos. Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Ecosistemas, año 12, No 2, mayo-agosto. 2003.
80. Urrutia Mera M. et al. The membrana-induced proton motive force influences the metal binding ability of *Bacillus subtilis* cell walls. Applied and Environmental Microbiology, December 3838-3844. 1992.
81. Valls, Marc. et al. Engineering a mouse metallothionein on the cell surface of *Ralstonia eutropha* CH34 for immobilization of heavy metals in soil. Nature Biotechnology, Vol. 18, Junio. 2000.
82. Valls y De Lorenzo, Victor.. Exploiting the genetic and biochemical capacities of bacteria for the remediation of heavy metal pollution. FEMS Microbiology Reviews 26:327-338. 2002
83. Valverde, Mahara, et al. Es capaz el acetato de plata y el cloruro de cadmio producir daño en el DNA?. Mutagénesis. 16(3), pp 265-270. 2001.
84. Volesky, B. ; Holan R, Z. Biosorption of heavy metals. Biotechnology Progress. 11, 235-250. 1995.
85. Waged R. J ; Chen W. Coupling sorption rate heterogeneity and physical nonequilibrium in soils. Physical Nonequilibrium in Soils, Modeling and Applications. Ann Harbor Press, 1-37. 1998.
86. Wilson G. V. et al. Hydraulic and physical nonequilibrium effects on multiregion flow. Physical nonequilibrium in soils, modeling and applications. Ann Harbor Press, 38-52. 1998.
87. Zehner, Rosa. Identificación, evaluación, control, mitigación y biorremediación de riesgos medioambientales. Programas de remediación para actividades hidrocarbúricas. Memorias del II Congreso de Seguridad Industrial y Medio Ambiente de la Industria Petrolera, Quito. 200