

**EVALUACIÓN DE MEZCLAS COMPOST INMADURO/SUELO DE
MORAVIA, Y FUENTES DE NUTRIENTES, PARA LA DEGRADACIÓN DE
LOS PESTICIDAS CLORPIRIFOS, MALATIÓN Y METIL PARATIÓN**

SERGIO AUGUSTO UPEGUI SOSA
Ingeniero Ambiental

UNIVERSIDAD DE MEDELLÍN
FACULTAD DE INGENIERÍAS
MAESTRÍA EN INGENIERÍA URBANA
MEDELLÍN
2010

**EVALUACIÓN DE MEZCLAS COMPOST INMADURO/SUELO DE MORAVIA, Y
FUENTES DE NUTRIENTES, PARA LA DEGRADACIÓN DE LOS PESTICIDAS
CLORPIRIFOS, MALATIÓN Y METIL PARATIÓN**

SERGIO AUGUSTO UPEGUI SOSA
Ingeniero Ambiental

**Trabajo de Investigación para Optar al Título
MAGISTER EN INGENIERÍA URBANA**

Directora
LILIANA ROCÍO BOTERO BOTERO
M.Sc. Biología

**UNIVERSIDAD DE MEDELLÍN
FACULTAD DE INGENIERÍAS
MAESTRÍA EN INGENIERÍA URBANA
MEDELLÍN
2010**

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN

INTRODUCCIÓN

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
1.1 USO DE PLAGUICIDAS A ESCALA MUNDIAL Y REGIONAL.....	3
1.2. INTERACCIÓN DE LOS PESTICIDAS CON EL MEDIO AMBIENTE.....	4
1.2.1. Contaminación del Suelo por Plaguicidas.....	5
1.2.2. Afectaciones sobre la flora microbiana del suelo.....	5
1.2.3. Afectaciones sobre las plantas.....	6
1.3. AFECTACIONES SOBRE LA SALUD DE LAS PERSONAS CAUSADAS POR LOS PESTICIDAS ORGANOFOSFORADOS.....	7
1.3.1. Efectos del Malatión en la Salud Humana.....	8
1.3.2. Efectos del Metil Paratión en la Salud Humana.....	9
1.3.3. Efectos del Clorpirifos en la Salud Humana.....	10
1.4. PROBLEMÁTICA CON LAS TECNOLOGÍAS PARA DISPOSICIÓN Y DESCONTAMINACIÓN DE COMPUESTOS ORGANOFOSFORADOS.....	12
1.4.1. Incineración.....	12
1.4.2. Rellenos Sanitarios.....	12
1.4.3. Tratamientos químicos.....	12
1.4.4. Enzimas.....	13
1.5. PROBLEMÁTICA DE LAS REACCIONES CRUZADAS EN LA IMPLEMENTACIÓN DE TECNOLOGÍAS DE BIORREMEDIACIÓN DE PESTICIDAS ORGANOFOSFORADOS.....	13
1.6. LIMITACIONES OCASIONADAS POR LA DEFICIENCIA DE MATERIA ORGÁNICA EN EL SUELO.....	14
1.7. EFECTO DE LA CARENCIA DE NUTRIENTES Y MICROORGANISMOS EN LA DEGRADACIÓN DE CONTAMINANTES EN EL SUELO.....	14
2. JUSTIFICACIÓN.....	15
2.1. LA CONSERVACIÓN DEL SUELO DENTRO DE LAS POLÍTICAS NACIONALES E INTERNACIONALES.....	15
2.2. DESARROLLO DE TECNOLOGÍAS PARA EL TRATAMIENTO DESUSTANCIAS TÓXICAS.....	16

2.3. SUELO DE MORAVIA COMO MATRIZ MICROBIANA PARA SER USADA EN PROGRAMAS DE BIORREMEDIACIÓN.....	17
2.4. COMPOST INMADURO COMO MATRIZ MICROBIANA PARA SER USADA EN PROGRAMAS DE BIORREMEDIACIÓN.....	17
3. MARCO TEÓRICO.....	19
3.1. PESTICIDAS.....	19
3.1.1. Clasificación de los Pesticidas.....	19
3.1.2. Disponibilidad de los Pesticidas en el Ambiente.....	22
3.1.3. Persistencia de los Pesticidas.....	25
3.1.4. Bioacumulación de los Pesticidas.....	26
3.1.5. Degradación de los pesticidas.....	26
3.2. CLORPIRIFOS.....	30
3.2.1. Propiedades del Clorpirifos.....	30
3.2.2. Degradación del Clorpirifos.....	31
3.2.3. Persistencia del Clorpirifos en el ambiente.....	32
3.3. MALATIÓN.....	32
3.3.1. Propiedades del Malatión.....	34
3.3.2. Degradación del Malatión.....	34
3.3.3. Persistencia en el suelo.....	35
3.4. METIL PARATIÓN.....	35
3.4.1. Propiedades del Metil Paratión.....	35
3.4.1. Degradación del Metil Paratión.....	35
3.4.2. Movilidad del Metil Paratión en el ambiente	36
3.5. BIORREMEDIACIÓN.....	36
3.5.1. Efecto de la actividad microbiana en el proceso de biorremediación.	37
3.5.2. Efecto del pH en los procesos de biorremediación.....	39
3.5.3. Efecto de la materia orgánica en la biorremediación.....	39
3.5.4. Efecto de los nutrientes en la biorremediación.....	40
3.5.5. Efecto de la humedad del suelo en la biorremediación.....	44
3.6. BIORREMEDIACIÓN CON COMPOST.....	45
3.7. SUELO DE MORAVIA.....	46
3.8. EFECTO CRUZADO Ó DEGRADACIÓN CRUZADA.....	47

3.9. MÉTODOS PARA LA EXTRACCIÓN DE PESTICIDAS.....	49
3.9.1. Extracción con agitación.....	49
3.9.2. Extracción por sistema Soxhlet.....	50
3.9.3. Extracción con Ultrasonido.....	50
3.9.4. Extracción de malatión.....	51
3.9.5. Extracción de clorpirifos.....	52
3.9.6. Extracción de metil paratión.....	53
3.9.7. Extracción multiresiduos.....	53
3.10.MÉTODOS DE ANÁLISIS DE PESTICIDAS.....	54
3.10.1. Cromatografía.....	55
4. OBJETIVOS.....	58
4.1. OBJETIVO GENERAL.....	58
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	58
5. METODOLOGÍA.....	59
5.1. SELECCIÓN DE LAS MATRICES UTILIZADAS EN LOS ENSAYOS.....	59
5.1.1. Suelo de Moravia.....	59
5.1.2. Compost.....	60
5.1.3. Mezclas Compost:Suelo.....	60
5.2. CARACTERIZACIÓN FISCOQUÍMICA DE LAS MATRICES.....	61
5.3. CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS PARA LA CUANTIFICACIÓN DEL CLORPIRIFOS, MALATIÓN Y METIL PARATIÓN.....	65
5.4. MÉTODO EXTRACTIVO PARA LA RECUPERACIÓN DE CLORPIRIFOS, MALATIÓN Y METIL PARATIÓN DESDE LAS MATRICES.....	67
5.4.1. Preparación de la Solución para la contaminación de las matrices.....	67
5.4.2. Preparación de las matrices y condiciones de incubación.....	67
5.4.3. Procesos extractivos.....	67
5.4.4. Cuantificación del porcentaje de extracción	68
5.5. ENSAYOS DE BIODEGRADACIÓN DE CLORPIRIFOS, MALATIÓN Y METIL PARATIÓN.....	68
5.5.1. Evaluación del efecto de mezclas Compost/Suelo.....	68
5.5.2. Evaluación de la adición de nutrientes en la biodegradación.....	69

5.6. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD MICROBIANA EN LOS ENSAYOS POR RESPIROMETRÍA.....	70
5.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS.....	71
6. RESULTADOS Y ANÁLISIS.....	72
6.1. CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DE LAS MATRICES.....	72
6.2. CUANTIFICACIÓN DE CLORPIRIFOS, MALATIÓN Y METIL PARATIÓN... 74	
6.2.1. Curva de Calibración.....	74
6.2.2. Selectividad del Método.....	75
6.2.3. Límites de Detección y Cuantificación.....	77
6.3. EXTRACCIÓN DE CLORPIRIFOS, MALATIÓN Y METIL PARATIÓN DESDE LAS MATRICES.....	78
6.3.1. Extracción desde la Matriz 100:0 (Compost:Suelo).....	78
6.3.2. Extracción desde la Matriz 75:25 (Compost:Suelo).....	79
6.3.3. Extracción desde la Matriz 50:50 (Compost:Suelo).....	80
6.3.4. Extracción desde la Matriz 25:75 (Compost:Suelo).....	81
6.3.5. Extracción desde la Matriz 0:100 (Compost:Suelo).....	82
6.3.6. Análisis general del procedimiento de extracción de los pesticidas....	83
6.4. BIODEGRADACIÓN DE CLORPIRIFOS, MALATIÓN Y METIL PARATIÓN	85
6.4.1. Efecto de la Adición de Nutrientes.....	85
6.4.2. Efecto de la Composición de las Matrices.....	95
7. CONCLUSIONES.....	117
8. RECOMENDACIONES.....	118
9. BIBLIOGRAFÍA.....	119

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de los pesticidas de acuerdo con su toxicidad.....	22
Tabla 2. Persistencia promedio de los pesticida.....	26
Tabla 3. Propiedades del Clorpirifos.....	31
Tabla 4. Propiedades del Malatión.....	34
Tabla 5. Propiedades del Metil Paratión.....	35
Tabla 6. Caracterización de las Matrices.....	72
Tabla 7. Curva de Calibración del Clorpirifos, Malatión y Metil Paratión...	74
Tabla 8. Recuperación de Clorpirifos, Malatión y Metil Paratión de la matriz 100:0 (C:S).....	78
Tabla 9. Recuperación de Clorpirifos, Malatión y Metil Paratión de la matriz 75:25 (C:S).....	79
Tabla 10. Recuperación de Clorpirifos, Malatión y Metil Paratión de la matriz 50:50 (C:S).....	80
Tabla 11. Recuperación de Clorpirifos, Malatión y Metil Paratión de la matriz 25:75 (C:S).....	81
Tabla 12. Recuperación de Clorpirifos, Malatión y Metil Paratión de la matriz 0:100 (C:S).....	82
Tabla 13. Mineralización en los tratamientos control (no contaminados) enriquecidos con nutrientes.....	85
Tabla 14. Efecto de la adición de nutrientes en la degradación del Clorpirifos.....	87
Tabla 15. Efecto de la adición de nutrientes en la degradación del Metil Paratión.....	88
Tabla 16. Efecto de la adición de nutrientes en la degradación del Malatión.....	89
Tabla 17. Ecuaciones de mineralización en las matrices evaluadas.....	95
Tabla 18. Ecuaciones de degradación del Clorpirifos en las matrices evaluadas.....	98
Tabla 19. Ecuaciones de degradación del Metil Paratión en las matrices evaluadas.....	99
Tabla 20. Ecuaciones de degradación del Malatión en las matrices evaluadas.....	100

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fórmula Química del DDT.....	20
Figura 2. Fórmula Química del Paratión.....	21
Figura 3. Interacción de los pesticidas con en el ambiente.....	23
Figura 4. Transformación del Paratión y Malatión a través de la Desulfuración Oxidativa.....	28
Figura 5. Hidrólisis del Malatión por una enzima Carboxilesterasa.....	29
Figura 6. Reducción del grupo nitro a amino en el Paratión por acción enzimática.....	29
Figura 7. Clorpirifos y sus metabolitos de degradación.....	32
Figura 8. Estructura Química del Malatión.....	33
Figura 9. Estructura Química del Malaoxón.....	33
Figura 10. Interacción de los microorganismos con su ambiente.....	42
Figura 11. Matrices utilizadas para los ensayos de degradación.....	61
Figura 12. Cromatografo de Gases empleado para el análisis de las muestras..	65
Figura 13. Proceso extractivo para la recuperación de los pesticidas.....	68
Figura 14. Curva de calibración para el Clorpirifos, Malatión y Metil Paratión...75	
Figura 15. Análisis cromatográfico de acetato de etilo grado cromatográfico....75	
Figura 16. Análisis cromatográfico de una muestra de suelo sin adición de pesticidas.....	76
Figura 17. Análisis cromatográfico de una muestra de compost sin adición de pesticidas.....	76
Figura 18. Análisis cromatográfico de la mezcla de estándares de Malatión, Metil paratión y Clorpirifos en una concentración de 250 ppb.....	77
Figura 19. Recuperación del Clorpirifos, Malatión y Metil Paratión en la matriz 100:0 (C:S).....	79
Figura 20. Recuperación del Clorpirifos, Malatión y Metil Paratión en la matriz 75:25 (C:S).....	80
Figura 21. Recuperación del Clorpirifos, Malatión y Metil Paratión en la matriz 50:50 (C:S).....	81
Figura 22. Recuperación del Clorpirifos, Malatión y Metil Paratión en la matriz 25:75 (C:S).....	82
Figura 23. Recuperación del Clorpirifos, Malatión y Metil Paratión en la matriz 0:100 (C:S).....	83

Figura 24. Mineralización en la matriz 25:75 sin adición de nutrientes, con adición de fósforo y con adición de Fertilizante.....	86
Figura 25. Efecto de la adición de nutrientes en la degradación de Clorpirifos	88
Figura 26. Efecto de la adición de nutrientes en la degradación de Metil Paratión.....	89
Figura 27. Efecto de la adición de nutrientes en la degradación de Malatión	90
Figura 28. Efecto de la contaminación con Clorpirifos, Malatión y Metil Paratión sobre la micro-flora de la matriz 25:75 (C:S).....	91
Figura 29. Degradación del Clorpirifos, Malatión y Metil Paratión en la matriz 25:75 para los tratamientos con nutrientes evaluados.....	92
Figura 30. Mineralización en las matrices 100:0, 75:25, 50:50,25:75,0:100.....	96
Figura 31. Degradación de Clorpirifos en las matrices 100:0, 75:25, 50:50, 25:75 y 0:100 (C:S).....	99
Figura 32. Degradación de Metil Paratión en las matrices 100:0, 75:25, 50:50, 25:75 y 0:100 (C:S).....	100
Figura 33. Degradación de Malatión en las matrices 100:0, 75:25, 50:50, 25:75 y 0:100 (C:S).....	101
Figura 34. Mineralización en la matriz 100:0 con y sin adición de pesticidas....	108
Figura 35. Degradación del Clorpirifos, Metil Paratión y Malatión en la matriz 100:0 (C:S).....	108
Figura 36. Mineralización en la matriz 75:25 con y sin adición de pesticidas....	109
Figura 37. Degradación del Clorpirifos, Metil Paratión y Malatión en la matriz 75:25 (C:S).....	110
Figura 38. Mineralización en la matriz 50:50 con y sin adición de pesticidas....	111
Figura 39. Degradación del Clorpirifos, Metil Paratión y Malatión en la matriz 50:50 (C:S).....	111
Figura 40. Mineralización en la matriz 25:75 con y sin adición de pesticidas....	112
Figura 41. Degradación del Clorpirifos, Metil Paratión y Malatión en la matriz 25:75 (C:S).....	113
Figura 42. Mineralización en la matriz 0:100 con y sin adición de pesticidas....	113
Figura 43. Degradación del Clorpirifos, Metil Paratión y Malatión en la matriz 0:100 (C:S).....	114

RESUMEN

Título del trabajo: Evaluación de mezclas compost inmaduro/suelo de moravia y fuentes de nutrientes para la degradación de los pesticidas clorpirifos, malatión y metil paratión

Autor (s): nombre del autor(s): Sergio Augusto Upegui Sosa.

Título otorgado: Magister en Ingeniería Urbana.

Asesor del trabajo: Liliana Rocío Botero Botero.

Programa de donde egresa: Ingenierías.

Ciudad: Medellín.

Año: 2010.

En el presente trabajo se evaluaron un compost inmaduro, el suelo de Moravia (antiguo botadero de residuos de Medellín que funcionó en la época 1970-1984) y sus mezclas en proporciones: 75/25, 50/50 y 25/75 (Compost inmaduro/suelo de Moravia) como matrices microbianas con potencialidades para la degradación de compuestos organofosforados (clorpirifos, malatión y metil paratión). Adicionalmente, se evaluó el efecto de la adición de nutrientes inorgánicos (fósforo y fertilizante comercial) sobre las cinéticas de degradación de estos compuestos.

Se montaron cultivos a condiciones de laboratorio, consistentes en la contaminación de las matrices (enriquecidas y no enriquecidas con nutrientes inorgánicos) con una solución que contenía los tres pesticidas a concentraciones conocidas; y se evaluó su degradación durante 30 días. Para lo cual se establecieron técnicas para la extracción de los pesticidas y su cuantificación por cromatografía de gases.

Los tratamientos con compost inmaduro, suelo de Moravia y sus mezclas mostraron una creciente degradación de los tres plaguicidas a medida que aumentó la cantidad de suelo de Moravia adicionada, sugiriendo que la microflora de este último posee mayor potencial que el compost inmaduro para la degradación de los tres pesticidas evaluados.

Por su parte, los tratamiento consistentes en la adición de nutrientes inorgánicos no presentaron diferencias significativas en comparación con el control (cultivo no enriquecido con nutrientes), sugiriendo que el uso de estos nutrientes no genera ventajas ni afectaciones sobre los procesos de degradación de los compuestos evaluados.

INTRODUCCIÓN

Los pesticidas fueron introducidos en las prácticas agrícolas con el fin de satisfacer el aumento en la demanda de alimentos producida por la población mundial, por lo cual han sido ampliamente usados para el control de insectos plaga, patógenos, y malezas durante los últimos 50 años. Una parte de los pesticidas llega al suelo inmediatamente después de su aplicación en campo, otra parte lo hace por el escurrimiento de los productos que caen sobre las plantas de los cultivos y las malezas (Anwar et al., 2009). Además del uso en la agricultura, los plaguicidas también entran en contacto con el ambiente por medio de entierros de productos que se prohíben o se declaran vencidos (la mayoría de las veces enterrados sin autorización) ó por la disposición en vertederos mezclados con basura municipal. Todo esto ha generado una gran cantidad de compuestos tóxicos, intermedios y de degradación, que se encuentran contaminando fuentes de agua, el aire, y diferentes perfiles del suelo (Weber, 1994; Castañeda, 2005; Vallejos, 2003), en cualquier caso, los residuos de pesticidas pueden permanecer en el suelo por diferentes períodos de tiempo (según las características del suelo), convirtiéndose en un riesgo de salud pública y ambiental.

La mayoría de los pesticidas tienen un efecto adverso sobre la diversidad funcional de la microflora del suelo y en última instancia sobre la fertilidad del suelo y el crecimiento vegetal, lo cual pone en seria amenaza la sostenibilidad de los suelos agrícolas (Fang et al., 2009; Singh et al., 2002). Por lo anterior, el impacto de los pesticidas sobre la diversidad funcional de la microflora del suelo ha venido aumentando considerablemente el interés público sobre el uso adecuado de estos compuestos.

La biorremediación es una técnica de tratamiento que involucra el uso de microorganismos y sus enzimas para la degradación de sustancias químicas peligrosas presentes en suelo, sedimentos, agua u otros medios contaminados (Saval, 1998). Factores ambientales como las características físicas y químicas del sustrato, estado de los nutrientes, pH y temperatura; y factores bióticos como la densidad de microorganismos, perjudican la implementación de cualquier proceso de biorremediación (Donézar, 1995). En comparación con otras técnicas utilizadas para el tratamiento de los pesticidas (incineración, tratamientos químicos, tratamientos físicos, etc.) la biorremediación presenta una ventaja importante debido a su bajo costo y la mitigación de impactos ambientales negativos. Este bajo costo se debe a varios factores, como son: menor gasto de energía, bajo costo de los nutrientes y operación bajo condiciones in situ; lo que hace que su uso sea muy atractivo para los países en vías de desarrollo, donde los recursos

económicos destinados para el tratamiento de contaminantes es muy limitado (Environmental Protection Agency -EPA-, 1997; Saval, 1998).

Los suelos contaminados suelen tener una actividad microbiana baja, básicamente debido a la falta de condiciones ambientales favorables como: bajas concentraciones de materia orgánica, poco intercambio de oxígeno, escasas de nitrógeno, fósforo, entre otros. Debido a esto, la tecnología de Biorremediación con compost maduro ha sido estudiada como una alternativa fundamentada en la liberación de nutrientes, aumento de poblaciones microbianas y la estimulación de la actividad metabólica de las poblaciones microbianas presentes en suelos con alto grado de contaminación (Environmental Protection Agency -EPA-, 1997; INKOA SISTEMAS S.L., S.F.).

La adición de nutrientes es otra estrategia factible para la estimulación de degradadores naturales, con la ventaja de potenciar e incrementar la velocidad de mineralización de un pesticida. Es por esto que el efecto de la adición de nutrientes sobre la diversidad microbiana del suelo ha sido el objeto de varios estudios como los reportados por Anwar (2009), Xie et al. (2008), Caracciolo et al. (2005) y Topp et al. (1996).

Es necesario encontrar alternativas más adecuadas para el manejo en campo de suelos contaminados con diversos pesticidas, a partir de sustratos con potencialidades nutricionales y/o microbiológicas con el fin de aumentar la eficacia en los procesos actuales de biorremediación.

En el presente estudio se evaluó la capacidad de dos matrices microbianas complejas como son: compost inmaduro y Suelo de Moravia, además del enriquecimiento con nutrientes (Fósforo y Fertilizante comercial), como técnicas potenciales de tratamiento para degradar pesticidas organofosforados. Evaluándose en este caso los pesticidas: Clorpirifos, Malatión y Metil Paratión.

Este trabajo hace parte de un macroproyecto financiado por COLCIENCIAS, encaminado a la búsqueda de alternativas para la biorremediación de suelos contaminados con Metil paratión, y ha sido desarrollado como proyecto de investigación en programas de Doctorado de la Universidad de Antioquia y por investigadores de la Sede de Investigación Univesitaria (SIU).

1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 USO DE PLAGUICIDAS A ESCALA MUNDIAL Y REGIONAL

De acuerdo con Díaz (1996), el 85% de la producción mundial de plaguicidas se utiliza en el sector agrícola, el 10% se utiliza en campañas sanitarias para el control de vectores y el 5% restante en el sector ganadero, en áreas públicas, en casas y en edificios para el control de plagas como insectos y roedores.

Según Jaramillo et al. (2007) y Malato et al. (2000), se estima que menos del 1% de los plaguicidas usados en la agricultura alcanzan los cultivos, mientras que el resto termina contaminando el suelo, el aire, y principalmente el agua. Además, debido a que estos contaminantes son por lo general poco biodegradables, y sólo una pequeña cantidad de los residuos son tratados actualmente (debido a la falta de tecnologías de tratamiento in situ disponibles), se presentan problemas de acumulación con consecuencias no predecibles en un futuro cercano.

Colombia es un país agrícola por excelencia, y el uso de plaguicidas se ha convertido en una necesidad básica en los cultivos de frutas y hortalizas como una herramienta eficaz para controlar enfermedades, insectos, malezas y otros organismos que afectan la producción de cultivos.

Según datos del MAVDT (2007), para ese año se produjeron 25.326.188 Kg de plaguicidas en Colombia, y otros 32.775.043 fueron importados. De acuerdo con el ICA (2000) gran parte de estos compuestos se aplican por vía aérea, y se fumigan más de un millón de hectáreas por año desde 220 pistas pertenecientes a 50 empresas de aviación agrícola. Según CORPOICA (2007) en el país se utilizan los plaguicidas de manera indiscriminada, debido a que una de las prácticas agrícolas más frecuentes es el monocultivo no tecnificado; y además, quienes manejan el producto en el campo poseen por lo general un bajo nivel educativo, lo que ocasiona un incremento en el nivel de riesgo para los agricultores, los consumidores finales y el medio ambiente.

Según cifras publicadas por los lineamientos de política ambiental de plaguicidas, el cultivo de mayor consumo agregado de plaguicidas es el arroz con el 21%; seguido por la papa con el 19%; los pastos con el 14%; el banano con el 7%; la caña de azúcar con el 6% y el café con el 5% (Ministerio del Medio Ambiente, 2000).

De acuerdo con Ardila (1995), en el año de 1991 el consumo de plaguicidas en los principales cultivos de Colombia fue de 9.8 kg/ha, frente a valores en USA para zonas consideradas de alta demanda de plaguicidas de 6.8 kg/ha. Esta situación es explicada por el autor, debido a que en el trópico el nivel de biodiversidad es más alto y por tanto existen más plagas, mayor capacidad de adaptación de las plagas a los controles químicos, mayores riesgos de la actividad productiva y existen ineficiencias en el uso de los plaguicidas (Ministerio del Medio Ambiente, 2000).

En Antioquia, de acuerdo con un estudio citado por Márquez (2001), realizado en cuatro zonas del departamento: Medellín, Norte, Oriente y Suroeste, la demanda intensiva de plaguicidas está ocasionando graves problemas de morbi-mortalidad, efectos colaterales desfavorables, contaminación ambiental, altos costos de producción y baja rentabilidad de los cultivos.

Según el ICA (2000), dentro de los plaguicidas más vendidos en las cuatro zonas estudiadas del departamento, el Malatión comparte con el Clorpirifos y el Dimetoato (Roxión) los primeros lugares de demanda.

1.2 INTERACCIÓN DE LOS PESTICIDAS CON EL MEDIO AMBIENTE

El uso de los plaguicidas en la protección de los cultivos ha generado una gran cantidad de compuestos tóxicos intermedios y de degradación, que frecuentemente se encuentran contaminando fuentes de agua, aire, y diferentes fases del suelo (Castañeda, 2005; Albert, 1998; Weber, 1994).

Los plaguicidas pueden infiltrarse en el suelo, ser transportados por el viento, propagarse por escorrentía ó llegar por lixiviación a las aguas subterráneas y a continuación propagarse por el subsuelo, acabando por penetrar en ríos o lagos. Las características que podrían influir en la lixiviación de los plaguicidas en las aguas subterráneas, son entre otras, el volumen de las precipitaciones, el drenaje del suelo, la profundidad de las aguas subterráneas, el tipo de almacenamiento, la movilidad del plaguicida en cuestión y su degradación (FAO, 2000).

La dispersión por la acción del viento contamina la superficie de la zonas circundantes, mientras que la dispersión por infiltración contamina el suelo debajo del lugar expuesto y puede conllevar a la contaminación de las aguas subterráneas, y finalmente después de ulteriores dispersiones a la contaminación de las aguas superficiales (por ejemplo, en lagos y ríos). La dispersión de plaguicidas aguas abajo en el acuífero crea una zona en la que las

aguas subterráneas quedan contaminadas. Si esas aguas se utilizan para beber o regar, o si se vierten en un río o lago cuyas aguas se utilizan para beber o regar, es importante conocer la concentración de los contaminantes en ellas(FAO, 2000).

1.2.1 Contaminación del Suelo por Plaguicidas

La infiltración de plaguicidas en el suelo ocurre tanto para líquidos como para sólidos. Estos últimos normalmente se propagan en primer lugar por la superficie del suelo, y luego pueden infiltrarse tras haber sido disueltos por la lluvia, quedando de esta manera diluidos en la humedad del suelo (FAO, 2000).

Según Nivia (1993), la pérdida de la fertilidad natural del suelo como consecuencia de la utilización de químicos para la producción de alimentos vegetales, está convirtiendo a los campos agrícolas en depósito de desechos tóxicos por la acumulación continua de agro-venenos.

Además de los métodos de aplicación de los plaguicidas a los cultivos, existen otras formas en las que los plaguicidas entran en contacto con el suelo, de acuerdo con Vallejos (2003), los plaguicidas que se prohíben o se declaran como vencidos u obsoletos, terminan en entierros (la mayoría de las veces sin autorizaciones) o en la disposición en vertederos o basureros mezclados con basura municipal; lo anterior depende de los recursos económicos que destine cada país para la eliminación de estos productos. Cuando los plaguicidas y los envases se entierran repetidas veces en el mismo sitio, la zona puede contaminarse gravemente y volverse inutilizable, de igual modo, si los desechos de plaguicidas se entierran en varios y diversos lugares, a la larga la zona contaminada puede ser mucho mayor(CORPOICA, 2007)

1.2.2 Afectaciones sobre la flora microbiana del suelo.

De acuerdo con Jaramillo et al. (2007), Bolliger(2007), Hetch(1998) y Nivia (1993) los insecticidas son productos poco selectivos y su aplicación afecta bastante a la población de microorganismos de la rizósfera, tanto en conjunto como en especies concretas; actuando como esterilizadores del suelo y destruyendo todo tipo de organismos y microorganismos presentes en el lugar, tanto los organismos patogénicos (plagas), como también los benéficos, lo que provoca marcados cambios cualitativos y cuantitativos en la micro-flora, para lo cual pueden requerirse meses o años para restablecer el equilibrio de nuevo. Según Van Der Wef (1996) y Mediterránea de Agroquímicos (S.F.), una

disminución en un 7% de la microflora puede ser crítico para la productividad del suelo.

Los fungicidas, nematicidas y fumigantes del suelo son los que causan la alteración más drástica del equilibrio microbiológico, porque se aplican como agentes antimicrobianos y exhiben varios grados de especificidad hacia patógenos de plantas residentes en el suelo(Nivia, 1993).

Algunas formulaciones de los pesticidas pueden ser incluso más tóxicas para los microorganismos que sus ingredientes activos por sí solos. Everett & Dickerson (2003) encontraron que una formulación de glifosato fue 100 veces más tóxica para los protozoos ciliados que el glifosato como tal. Igualmente, Cox y Surgan (2006), reportaron que una formulación del insecticida propetamfos fue 100 veces más tóxica para la microflora en sedimentos que el propetamfos solo.

1.2.3 Afectaciones sobre las plantas

Las evidencias de fitotoxicidad en las plantas incluyen: defoliación, amarillamiento foliar, retardos de crecimiento, crecimiento anormal, manchas necróticas sobre algunas partes de las plantas y enanismo. Los pesticidas pueden retardar el crecimiento bien sea de manera aguda (corto plazo) o crónica (largo plazo) al impactar la altura de la planta o la elongación de los tallos, siendo las plantas que sufren estrés (como consecuencia de la falta de humedad, nutrientes, etc.) las más susceptibles a este tipo de daños (Cloyd, 2006).

Es importante destacar también que durante el periodo de germinación y los primeros días de desarrollo de las plántulas ocurren numerosos procesos fisiológicos, en los que la presencia de una sustancia tóxica puede interferir alterando la supervivencia y el desarrollo normal de la planta; siendo por lo tanto una etapa de gran sensibilidad frente a factores externos adversos(Castillo, 2004).

Al igual que sobre la microflora del suelo, el efecto negativo de los pesticidas sobre las plantas no siempre es a causa del ingrediente activo del pesticida, sino que puede deberse a los solventes u otros compuesto de la formulación; incluso a impurezas presentes en el agua utilizada para mezclar el producto (como sales)(Cloyd, 2006).

Según Tang & Song (1996), la degradación térmica de una formulación del fungicida benomil produce un compuesto fitotóxico, esta degradación es

facilitada por el contacto del almidón (uno de sus ingredientes inertes) con el agua. Kohmann (1999), citado por Cox & Sorgan (2006), encontró que un ingrediente inerte en un producto insecticida basado en permetrín redujo la tolerancia al frío en plántulas de píceas (*Picea abies*).

Los ingredientes inertes de las formulaciones pueden incluso potenciar interacciones entre los ingredientes activos. De acuerdo con Kudsk y Mathiassen (2004), los herbicidas glifosato y glufosinato de amonio mostraron ser sinérgicamente fitotóxicos con el herbicida metsulfuron Metil, y esta sinergia fue más pronunciada en las formulaciones comerciales que en los ingredientes activos.

1.3 AFECTACIONES SOBRE LA SALUD DE LAS PERSONAS CAUSADAS POR LOS PESTICIDAS ORGANOFOSFORADOS.

Las principales propiedades de los pesticidas organofosforados que permiten su ingreso al cuerpo son: **1) Son Liposolubles**, lo que facilita su absorción debido a que atraviesan fácilmente barreras biológicas (piel, mucosas, pulmones, tracto gastrointestinal y ojos) e igualmente penetran en el sistema nervioso central (SNC). Algunos productos pueden almacenarse en el tejido graso, lo que puede provocar toxicidad retardada debido a la liberación tardía. **2) Tienen una mediana tensión de vapor**, lo que hace que sean volátiles, facilitando la absorción inhalatoria (Milla & Palomino, 2002).

Estos compuestos están diseñados especialmente para perturbar los niveles de la acetilcolinesterasa eritrocítica (ACE) de los organismos que ataca, teniendo este mismo efecto en humanos. Esta enzima es imprescindible para el control normal de la transmisión de los impulsos nerviosos. Estos compuestos afectan la sinaptogénesis, el crecimiento neuronal de axones y dendritas, la arborización y la transmisión de estímulos eléctricos (Díaz, 2005). Independientemente de la gravedad de los efectos anticolinesterásicos, luego de un tiempo (3 a 4 semanas) también pueden aparecer signos y síntomas de neurotoxicidad retardada (Milla & Palomino, 2002).

Dependiendo del plaguicida, los efectos en la salud van desde intoxicaciones agudas hasta crónicas.

Las intoxicaciones agudas reflejan los síntomas 24 horas después de la exposición, y éstos pueden ser: mareos, vómitos, náuseas, visión borrosa, pérdida del conocimiento y convulsiones (NOTICyT, 2003). También puede presentarse debilidad no habitual, diarreas, contracción de la pupila o pupilas

puntiformes, rash cutáneo, en algunos casos escozor o irritación del cuero cabelludo, calambres musculares, pérdida de la coordinación muscular, confusión o depresión mental, respiración dificultosa o forzada, somnolencia, aumento de la sudoración y de la secreción acuosa en boca u ojos, pérdida del control intestinal o de la vejiga urinaria, contracción muscular en párpados, cara y cuello, temblores, latidos cardíacos lentos, estado de coma, paro respiratorio y muerte(Delgado, S.F.).

Las intoxicaciones crónicas muestran los síntomas con el paso del tiempo, las padecen personas expuestas al plaguicida por largos períodos y pueden sufrir cáncer, cambios en el material genético de las células o malformaciones congénitas (NOTICyT, 2003).

De acuerdo con el Laboratorio de Salud Ambiental del Instituto Nacional de Salud (INS), los insecticidas (organofosforados y carbamatos) son la principal causa de intoxicaciones agudas en Colombia, pero no hay información confiable de casos de intoxicación y muerte por tipo de plaguicida utilizado, (NOTICyT, 2003).

De acuerdo con la Auditoría General de la Nación (2004), en su estudio: “Auditoría analítica de gestión al uso y manejo de plaguicidas en Colombia”, se reporta que para la fecha, en Colombia ya existía un programa de control a la intoxicación aguda mas no a la crónica, y que hay una deficiencia en datos en cuanto a los efectos de los plaguicidas en la salud humana. Igualmente se estableció que los hospitales no reflejan en sus estadísticas y reportes todas las intoxicaciones por plaguicidas, debido a que los síntomas ocasionados por la ingestión de estos compuestos no se detectan fácilmente; y si logra establecerse que el origen de la intoxicación fue por plaguicidas, en la mayoría de los casos no se puede determinar que producto químico fue el causante de ésta.

1.3.1 Efectos del Malatión en la Salud Humana.

El principal producto de degradación del Malatión es el Malaoxón, el cual se cree que es 10 veces más tóxico que el Malatión (Mosquera, 2007; Cahill & Mackay, 2003).

Entre las formas de exposición al Malatión se encuentran como principales: el uso de éste en hogares para el control de insectos y vectores, ingreso a áreas recién fumigadas con el producto, contacto directo por personas como rociadores en fincas o en fábricas manufactureras de Malatión. Igualmente se

encuentran expuestas al Malatión las personas que viven cerca a vertederos donde se ha desechado Malatión (ATSDR, 2003).

De acuerdo con la Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), 2003, el Malatión interfiere con el funcionamiento normal de los nervios y del cerebro.

La exposición a niveles muy altos de Malatión en el aire, el agua o los alimentos por un período breve puede causar dificultad para respirar, opresión del pecho, vómitos, calambres, diarrea, visión borrosa, sudor excesivo, mareo, pérdida del conocimiento y la muerte. Si las personas que están expuestas a grandes cantidades de Malatión reciben tratamiento apropiado de inmediato, puede que no ocurran efectos adversos a largo plazo.

Aunque no hay prueba definitiva de que el Malatión cause cáncer en seres humanos, algunos estudios han encontrado un aumento de la tasa de ciertos cánceres en gente que está expuesta frecuentemente a pesticidas, como por ejemplo agricultores y aplicadores profesionales(ATSDR, 2003).

1.3.2 Efectos del Metil Paratión en la Salud Humana

El Metil Paratión comercialmente es uno de los organofosforados más tóxicos, aparte de sus efectos farmacológicos, sus propiedades físicas y químicas lo hacen útil como insecticida y acaricida para la agricultura, ya que ningún insecto es inmune a su acción letal.

En todos los estamentos de regulación internacional, el Metil Paratión ha sido reconocido como altamente tóxico. La OMS incluyó el Producto técnico en la categoría 1-a (extremadamente peligroso), clasificación basada en la toxicidad oral. Por su parte, la EPA lo clasifica en la Categoría 1 (sumamente tóxico) (Clínica de Toxicología Uribe Cualla, 2001).

Hoy en día, la EPA restringe la manera en que se usa y aplica el Metil Paratión; sólo se permite que gente entrenada lo rocíe. Además, el Metil Paratión ya no puede ser usado en cosechas de alimentos consumidos comúnmente por niños (ATSDR, 2001).

Las vías de exposición al Metil Paratión son el contacto, la inhalación o la ingestión. Las personas con mayor riesgo de exposición son aquellas que viven cerca a áreas que han sido rociadas con Metil Paratión para el control de plagas, las personas que han ingerido alimentos o bebido agua con residuos del pesticida y las personas que viven cerca de vertederos o lugares donde se

ha dispuesto Metil Paratión. Siendo las personas de mayor riesgo aquellas que han trabajado directamente con la sustancia.

Cualquiera que sea la ruta de exposición, el Metil Paratión entra al cuerpo rápidamente y pasa a la sangre. De la sangre, pasa al hígado, al cerebro y a otros órganos. El hígado transforma cierta cantidad del Metil Paratión a una sustancia química más perjudicial llamada metilparaoxón. (ATSDR, 2001)

“Tanto el Metil Paratión como el metilparaoxón pueden ligarse a enzimas en sus nervios en minutos u horas. El Metil Paratión interfiere con el funcionamiento normal del sistema nervioso y el cerebro. La exposición breve a niveles muy altos de Metil Paratión en el aire o el agua puede causar mareo, confusión, dolores de cabeza, dificultad para respirar, opresión del pecho, respiración jadeante, vómitos, diarrea, calambres, visión borrosa, sudor, pérdida del conocimiento y la muerte”.

Algunas personas que han estado expuestas a altos niveles de sustancias similares al Metil Paratión han experimentado alteraciones mentales que duraron varios meses después de que la exposición terminó. La exposición a niveles de Metil Paratión más bajos que los que afectan la función de los nervios parece producir pocos o ningún problema a la salud.(ATSDR, 2001)

Es probable que los niños estén expuestos al Metil Paratión principalmente a través del consumo de alimentos, leche o agua que contienen residuos de esta sustancia. Debido a su menor peso corporal, la relación en la cantidad ingerida de Metil Paratión por kilogramo de peso corporal es más alta en los niños que en los adultos, lo cual puede magnificar los efectos de esta sustancia(ATSDR, 2001).

1.3.3 Efectos del Clorpirifos en la Salud Humana

Clorpirifos es uno de los ingredientes activos más utilizados en Colombia y el mundo para formular productos para el control de plagas. Se emplea para proteger del ataque de insectos distintos cultivos agrícolas de importancia comercial como maíz, cítricos, alfalfa, maní, entre otros. Clorpirifos ha estado presente en el mercado durante más de cuarenta años. Hoy está registrado en más de 98 países en todo el mundo, incluyendo las naciones más desarrolladas. Los insecticidas Dursban* y Lorsban* son marcas comerciales frecuentemente utilizadas para el Clorpirifos(Dow Agrosiences, 2008).

El Clorpirifos se ha utilizado de forma masiva e indiscriminada debido a que ataca una gran variedad de insectos. El principal producto de degradación del

Clorpirifos es el TCP (3,5,6-Tricloro-2-Piridinol), compuesto más tóxico que el plaguicida original por ser una piridina clorada y tener un amplio efecto antimicrobiano responsable de la esterilidad del suelo y de la escasa degradación del Clorpirifos(Castañeda, 2005).

De acuerdo con Ospina(1999), citado por Mojocoa (2004), Clorpirifos es tal vez el insecticida más utilizado a escala nacional para el control químico de *S. frugiperda* en maíz y sorgo, incorporándose al suelo con la última rastrillada para disminuir el daño como tierrero.

Aunque el Clorpirifos tiende a unirse firmemente a las partículas del suelo y es poco soluble en agua, es muy tóxico para los organismos acuáticos, insectos y algunas especies de aves. Este compuesto se evapora con facilidad y puede provocar episodios de contaminación a largas distancias en los casos en que no logra degradarse por la luz solar, algunas bacterias y/o otros procesos químicos(PRTR-España, 2007).

Basándose en investigaciones que han indicado que el Clorpirifos (Dursban) es más tóxico para los infantes y mujeres de lo que se pensaba anteriormente, la EPA decidió prohibir el uso de la mayoría de los productos que contienen Clorpirifos a partir de diciembre de 2001(Miller & Cox, 2002).

Dentro de las principales formas de exposición al Clorpirifos se encuentran: control de plagas caseras, inhalación de aire en lugares donde se ha rociado Clorpirifos (sean cerrados o abiertos), contacto con suelo o cosechas fumigadas con Clorpirifos, ingestión de alimentos y/o bebidas que hayan sido expuestas a la sustancia (ATSDR, 1997).

Cuando se ingiere o respira aire previamente rociado con Clorpirifos se pueden producir efectos adversos sobre el sistema nervioso como: dolores de cabeza, visión borrosa, lagrimeo, excesiva salivación, secreción nasal, mareo, confusión, temblores musculares, náuseas, diarrea y cambios bruscos en los latidos del corazón. El efecto depende de la cantidad y duración a la exposición de Clorpirifos.

La exposición a altos niveles puede producir sudor profuso, pérdida del control intestinal, serios temblores musculares, convulsiones, pérdida del conocimiento (coma) o incluso la muerte(ATSDR, 1997).

1.4 PROBLEMÁTICA CON LAS TECNOLOGÍAS PARA DISPOSICIÓN Y DESCONTAMINACIÓN DE COMPUESTOS ORGANOFOSFORADOS.

De acuerdo con el Ministerio del Medio Ambiente (2000), uno de los problemas más serios a la hora de enmarcar programas para la solución en campo de la contaminación con plaguicidas es que en las estadísticas colombianas no existen indicadores que permitan identificar el comportamiento de los plaguicidas en el país, como por ejemplo: consumo (uso) por cultivo, consumo por unidad de superficie (ha) o consumo por región y/o departamento, lo cual dificulta la identificación de posibles problemas, riesgos y alternativas de solución.

Entre las técnicas utilizadas en la actualidad para la degradación y disposición de pesticidas a nivel mundial se encuentran: la incineración, los rellenos sanitarios, la degradación química, los procesos avanzados de oxidación (PAO's) y la biorremediación; siendo las más utilizadas la incineración y el relleno sanitario (Rodríguez & Sánchez, 2004; Mennendez & Cañibano., 1985).

1.4.1 Incineración

Aunque la incineración genera degradaciones del 99.99%, esta técnica envuelve costos elevados asociados a las altas temperaturas requeridas por el sistema. La eficiencia de destrucción y remoción no es específica para pesticidas y no es compatible con el manejo ecológico de los agroecosistemas contaminados (Nyer, 1993; Mennendez & Cañibano., 1985).

1.4.2 Rellenos Sanitarios

Los Rellenos Sanitarios para la disposición de pesticidas constituyen una gran amenaza para la humanidad y el medio ambiente debido a la gran afinidad entre los pesticidas y la materia orgánica, por lo que estos pueden ser transportados y arrastrados subterráneamente hasta ríos y mares, sufrir transformaciones naturales, y generar otros metabolitos de igual o mayor toxicidad (Lacorte et al., 1995).

1.4.3 Tratamientos químicos

Los tratamientos químicos son costosos, y generan problemas ambientales que involucran productos colaterales, desechos (ácidos y sodas cáusticas), vapores, así como la recuperación de los catalizadores (Mennendez & Cañibano., 1985).

1.4.4 Enzimas

En esta tecnología, para el caso de los pesticidas organofosforados, una de las principales técnicas de degradación es el uso del sistema fosfodiesterasa inmovilizada, cuya principal limitación es el efecto negativo causado por las altas concentraciones de solvente orgánico, lo cual resulta en la elución de la actividad enzimática del reactor. Otra limitante es las consideraciones económicas, aunque la inmovilización de esta enzima sobre agarosa trityl es simple, el costo de usarla como matriz de soporte a gran escala se convierte en un costo muy alto (Havens & Rase, 1993; Candwell & Raushel, 1990).

Actualmente las tecnologías de tratamiento de plaguicidas y suelos contaminados con estos compuestos se encuentran en desarrollo, se han propuesto alternativas para reducir el consumo de plaguicidas como la modificación de las prácticas agrícolas, el uso de cultivos resistentes o el control biológico de plagas. Sin embargo, en la mayoría de los países en desarrollo estas alternativas para el control de plagas son muy poco utilizadas, tal vez debido a la cultura o las políticas agrícolas de estos países, y muy a menudo por cuestiones de falta de recursos económicos (Torres et al., 1999).

1.5 PROBLEMÁTICA DE LAS REACCIONES CRUZADAS EN LA IMPLEMENTACIÓN DE TECNOLOGÍAS DE BIORREMEDIACIÓN DE PESTICIDAS ORGANOFOSFORADOS

Con respecto al estudio de degradación cruzada entre organofosforados, Singh et al. (2005) han evaluado esta característica en diferentes pesticidas, siendo la similaridad estructural el principal factor determinante en todos los casos. En los pesticidas organofosforados se presenta con regularidad la cadena O-O-dietil fosforotionato, por lo cual algunos autores como Singh et al (2005) y Munnecke (1976) sugieren que es la actividad de una enzima con capacidad de ruptura del enlace fosfodiester es la responsable de la actividad de degradación cruzada.

De acuerdo con Racke & Coats (1990) la biodegradación cruzada genera problemas en la implementación de programas de biorremediación de suelos agrícolas altamente contaminados con pesticidas organofosforados, ya que se pueden presentar pérdidas de eficiencia en aquellos suelos en los que se aplican otros organofosforados para el control de insectos rizófagos, nemátodos y moluscos.

1.6 LIMITACIONES OCASIONADAS POR LA DEFICIENCIA DE MATERIA ORGÁNICA EN EL SUELO.

La materia orgánica es indispensable en los suelos ya que su presencia determina y condiciona el medio físico y biológico sobre el cual se desarrollan las plantas. Por lo tanto, juega un papel importante sobre la estructura, la permeabilidad y la aireación del suelo, por lo que el mantenimiento de niveles óptimos es una forma de luchar contra la erosión y la pérdida de fertilidad de los suelos.

La materia orgánica estimula la actividad biológica (los microorganismos del suelo la utilizan como fuente de energía y como materia prima de los elementos constituyentes de sus tejidos) inactiva los metales y compuestos orgánicos, aumenta la capacidad de cambio, mejora la capacidad amortiguadora e inmoviliza los nutrientes (evitando que sean lavados hacia zonas profundas) (López et al., 2000; Jiménez & Gutiérrez, 1995).

1.7 EFECTO DE LA CARENCIA DE NUTRIENTES Y POBLACIONES MICROBIANAS EN LA DEGRADACIÓN DE CONTAMINANTES EN EL SUELO.

Para que se produzca una biodegradación de contaminantes en el suelo, es indispensable que todos los nutrientes requeridos por los microorganismos se encuentren disponibles en las cantidades suficientes, de manera que puedan utilizar todo el compuesto orgánico para la producción de nueva biomasa y la obtención de energía.

Según lo expresado por Sánchez & Rodríguez(2004), la biorremediación requiere que los nutrientes estén en contacto con el área impregnada por el contaminante y que su concentración sea suficiente para soportar el crecimiento máximo previsto de la población degradadora en el transcurso de las operaciones de remediación.

Con respecto a los microorganismos, Sánchez & Rodríguez (2004) afirman que la ausencia de poblaciones microbianas con el potencial enzimático adecuado para degradar los contaminantes afecta los procesos de degradación biológica de compuestos orgánicos en el suelo, y destacan la importancia de las *Pseudomonas* y otros organismos productores de biosurfactantes en el suelo, ya que solubilizan y facilitan la penetración de los contaminantes a través de la pared celular hidrofílica o producen enzimas que ayudan a la degradación de dichos compuestos.

2 JUSTIFICACIÓN

2.1 LA CONSERVACIÓN DEL SUELO DENTRO DE LAS POLÍTICAS NACIONALES E INTERNACIONALES

De acuerdo con Dorronsoro & García (2004) a nivel mundial, la contaminación de los suelos es un aspecto que empezó a ser reconocido después de la década de 1970, antes de ésta solo se hablaba de la contaminación del aire y del agua, pero el suelo era considerado un recurso con una capacidad de autodepuración casi infinita.

La sensibilidad mundial con respecto a la conservación del suelo comenzó a cambiar a partir de la declaración de la “Carta Europea de Suelos”, desarrollada por la Comunidad Europea en 1972. En esta carta se advierte que: *“el suelo es uno de los bienes más preciosos de la humanidad. Permite la vida de los vegetales, de los animales y del hombre, en la superficie de la tierra”*. A pesar de ello, la regulación por el Derecho Ambiental de los suelos contaminados es muy reciente y todavía escasa (Fundación EROSKI, 2005).

En el 4º Programa de Acción Ambiental de la Comunidad Europea (1987 – 1992), se reconoció de manera oficial la necesidad de una reglamentación referente a la protección del suelo, y se instó a los gobiernos de los países miembros a elaborar una normativa de protección bajo las directrices recogidas en las “Bases Científicas para la Protección del Suelo en la Comunidad Europea”. En esta normativa se propone *“salvaguardar las propiedades y condiciones que aseguren el cumplimiento de las funciones del suelo”*, considerándose como principales funciones: el crecimiento vegetal, la producción de alimentos, la filtración del agua y la participación del suelo de forma activa en los ciclos biogeoquímicos de los elementos, como el carbono, nitrógeno, fósforo, azufre, entre otros (Dorronsoro & García, 2004).

Por otro lado, en el documento: *Objetivos de Desarrollo del Milenio*, publicado por las Naciones Unidas (2005), se menciona la problemática del suelo como una de los más importantes en América Latina y el Caribe, y se enuncia que en los países pertenecientes a esta región se mantiene una marcada tendencia a la degradación y contaminación de los suelos debido al uso intensivo de productos agroquímicos como fertilizantes y plaguicidas, el riego y la salinización, la pérdida de nutrientes y la deforestación. Las presiones sobre los suelos se extienden a las aguas terrestres y zonas costeras por la contaminación química, y a la atmósfera, por la emisión de gases nitrogenados de efecto invernadero.

2.2 DESARROLLO DE TECNOLOGÍAS PARA EL TRATAMIENTO DE SUSTANCIAS TÓXICAS

De acuerdo con la OMS (1998) es urgente el desarrollo de tecnologías simples, de bajo costo y eficientes para la eliminación *in situ* de los

pesticidas en el ambiente. Actualmente estas tecnologías no existen, y el tratamiento de efluentes para la eliminación de estos contaminantes es extraordinariamente caro. Como ejemplo, la FAO ha calculado que eliminar una tonelada de plaguicidas cuesta entre 3500 y 4000 dólares (Malato et al., 2000).

En Colombia, no es común hacer diagnóstico de contaminación de suelos por plaguicidas. Con respecto a la información de remediación de suelos contaminados, ésta es muy escasa y por lo tanto se requiere investigar en este tema para proporcionar metodologías en el caso que se requiera implementar técnicas de remediación (Castañeda, 2005).

Una ventaja importante en la implementación de tecnologías de biorremediación, es su bajo costo en relación con otros tratamientos. Es difícil hacer una comparación de costos, porque es necesario conocer las características de cada sitio en particular, pero en términos generales se puede decir que la biorremediación es por lo menos 10 veces más económica que la incineración y 3 veces más económica que algunas tecnologías fisicoquímicas de inmovilización. Este bajo costo se debe a varios factores, como son: menor gasto de energía, bajo costo de los nutrientes y operación bajo condiciones ambientales; lo que hace que su uso sea muy atractivo para los países en vías de desarrollo (Saval, 1998; Department of Environmental Quality -DEQ-, 1998).

A continuación se presenta una comparación de los costos de implementación de algunas tecnologías utilizadas para la recuperación de suelos contaminados.

	Incineración	Vertedero	Desorción térmica	Lavado de suelos	Biorremediación
Costes (rango en \$ por m ³)	350-1.600	100-600	50-200	125-350	40-150

*Valores expresados en dólares (US\$)

Fuente: (Rodríguez & Sánchez, 2004)

2.3 SUELO DE MORAVIA COMO MATRIZ MICROBIANA PARA PROGRAMAS DE BIORREMEDIACIÓN

Los suelos expuestos previamente a condiciones contaminantes son un sustrato microbiano de interés para la búsqueda de microorganismos con potencialidades para la aplicación en programas de biorremediación; según el DEQ (1998), los ambientes altamente contaminados son lugares de selección de poblaciones microbianas con enzimas capaces de metabolizar diferentes contaminantes, lo cual les brinda una ventaja competitiva frente a microorganismos de otros sustratos. En este sentido el suelo de Moravia, barrio de la ciudad de Medellín (Colombia), se convierte en un ambiente

propicio para la búsqueda de poblaciones microbianas con potencialidades para el desarrollo de programas de biorremediación, ya que según Osorio et al. (2000) este suelo fue utilizado para la disposición de los residuos sólidos generados en la ciudad y sus municipios vecinos durante la época de 1970-1984. Por lo tanto, sus microorganismos han estado expuestos a gran variedad de compuestos, incluyendo sustancias tóxicas, si se tiene en cuenta que para la época de su funcionamiento no existían en el país regulaciones ambientales adecuadas para la disposición y manejo de residuos sólidos ordinarios ni peligrosos, y que de acuerdo con la FAO, el PNUMA y la OMS citadas por Gómez et al. (2007) y Vallejos (2003), muchos plaguicidas han sido dispuestos en entierros inapropiados ó en vertederos mezclados con basura municipal

2.4 COMPOST INMADURO COMO MATRIZ MICROBIANA PARA PROGRAMAS DE BIORREMEDIACIÓN

La Biorremediación con compost ha sido una técnica estudiada como alternativa para el tratamiento de suelos contaminados con compuestos xenobióticos por su aporte de nutrientes y aumento de poblaciones microbianas (Singer y Crohn, 2002; Environmental Protection Agency -EPA-, 1997). Durante la etapa inicial del proceso de compostaje se presentan procesos importantes de hidrólisis de la materia orgánica polimérica compleja, sobre la cual los microorganismos envueltos en el proceso de compostaje producen enzimas extracelulares que la despolimerizan y transportan a través de membranas citoplasmáticas para completar el proceso de degradación (Moreno, 2008).

Adicionalmente, durante este proceso se desarrollan una gran variedad de poblaciones de microorganismos con capacidad de fijar nitrógeno libre, solubilizar el fósforo, así como elaborar metabolitos (como vitaminas y enzimas) a partir de los compuestos presentes en el sustrato (Bobadilla y Ricón, 2008). Semple et al. (2001) reportan que el proceso de compostaje ha sido evaluado para la degradación de contaminantes orgánicos como los hidrocarburos del petróleo, compuestos monoaromaticos, clorofenoles, explosivos y pesticidas, entre otros.

Las bacterias son los organismos vivos más pequeños y los más numerosos en el procesos de compostaje, constituyendo del 80% al 90% de los microorganismos existentes en un gramo de compost. Son responsables de la mayoría de los procesos de descomposición, así como de la producción de energía calorífica en el compost; por lo que son un grupo de gran diversidad metabólica, con capacidad de utilizar un amplio rango de enzimas para degradar químicamente gran variedad de compuestos orgánicos (Carriello et al., 2007).

Zhang et al. (2006) resaltan la presencia de bacterias como *Bacillus* y *Pseudomonas*, hongos como *Aspergillus*, y Actinomicetos como *Arthrobacter* sp. y *Streptomyces* sp., los cuales están presentes en el proceso de compostaje y tienen una reconocida incidencia en procesos de biorremediación de suelos. De acuerdo con Carriello et al. (2007) esta incidencia se debe a que las especies *Bacillus* y *Pseudomonas* producen enzimas extracelulares capaces de descomponer polisacáridos, ácidos nucleicos y lípidos, permitiendo que estos organismos empleen estos productos como fuentes de carbono y donadores de electrones; y en el caso de la especie *Aspergillus*, se ha reconocido su capacidad para la producción de amilasas, proteasas, glucoamilasas y pectinasas. Según Moreno (2008) y Arroyo (2002) los actinomicetos han sido microorganismos muy destacados en el proceso de compostaje por su capacidad de degradación enzimática de diferentes tipos de sustratos.

Todo lo anterior, hace del compost inmaduro una matriz microbiana de interés para evaluar la degradación de los pesticidas organofosforados del presente estudio.

3 MARCO TEÓRICO

3.1 PESTICIDAS

Se entiende por pesticidas a todos aquellos productos utilizados para combatir los parásitos y enfermedades de las plantas, proteger los cultivos de agentes dañinos, aunque no sean parásitos (malas hierbas, algas, etc.) y mejorar cualitativa y cuantitativamente la producción agrícola (Dorronsoro & García, 2004; U.S. Department of Agriculture, 1998).

3.1.1 Clasificación de los Pesticidas

Los pesticidas pueden clasificarse en diferentes grupos, dependiendo de la propiedad evaluada. Generalmente se clasifican teniendo en cuenta 3 propiedades: **1)** organismo al que atacan, **2)** naturaleza química y **3)** toxicidad.

3.1.1.1 Clasificación según el organismo que atacan

Según el tipo de organismo hacia el cual se dirigen, se dividen en dos grandes grupos: plaguicidas y herbicidas, aunque estos no pueden separarse totalmente porque muchas sustancias presentan efectos combinados:

Plaguicidas. Son sustancias que sirven para combatir parásitos y enfermedades que afectan los cultivos, el ganado, los animales domésticos y el hombre. Dentro de este grupo a su vez, pueden separarse de acuerdo con el grupo de especies que atacan en: insecticidas, acaricidas, nematocidas, fungicidas, antibióticos y rodenticidas (Dorronsoro & García, 2004; Weber, 1994).

Herbicidas. Productos que evitan el desarrollo de plantas adventicias o malas hierbas.

3.1.1.2 Clasificación según su naturaleza química

En lo referente a su naturaleza química, los pesticidas pueden clasificarse en inorgánicos y orgánicos.

Dentro del grupo de los orgánicos, los principales tipos son (Dorronsoro & García, 2004; Marquez, 2001):

Derivados Halógenos. Compuestos orgánicos que contienen generalmente átomos de cloro en su molécula. Actualmente su acumulación en el medio ambiente y en los seres vivos ha dado lugar a restricciones en su uso por parte de algunos países. Dentro de estos compuestos podemos distinguir tres grupos:

Derivados halógenos de hidrocarburos alifáticos: utilizados principalmente como fumigantes.

Derivados halogenados de hidrocarburos alicíclicos. Importancia práctica como insecticidas y fungicidas.

Derivados halogenados aromáticos. Tienen propiedades insecticidas, acaricidas, herbicidas y fungicidas dependiendo de la naturaleza del átomo de halógeno, del número de ellos en la molécula de benceno y de su posición en el anillo. Su principal representante es el DDT.

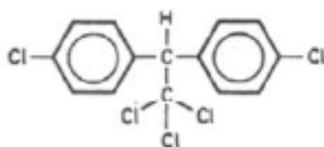


Figura 1. Fórmula Química del DDT

Carbamatos. Son sales o ésteres del ácido carbámico o uretano. Los carbamatos pueden tener propiedades insecticidas y herbicidas, algunos de los cuales pueden ser sistémicos (Dorronsoro & García, 2004; Marquez, 2001).

Este grupo de plaguicidas presenta algunas ventajas frente a los compuestos organofosforados, como son su eficacia contra insectos resistentes a estos últimos y su mayor seguridad de manejo, pero también presentan desventajas, ya que son de más difícil producción, más caros y de mayor toxicidad frente a los insectos polinizadores (Marquez, 2001).

Derivados de la urea y tiourea. Todos estos compuestos se utilizan como herbicidas, cuyas propiedades aumentan notablemente con la presencia de átomos de halógeno en la molécula del compuesto. Actúan por medio de la inhibición del proceso de fotosíntesis.

Compuestos heterocíclicos. Uso como herbicidas. Pueden tener ciclos de 5 ó 6 átomos y con 1, 2 ó 3 átomos diferentes en el anillo, siendo los más importantes las triazinas sustituidas.

Organofosforados. Son compuestos orgánicos complejos, que incluyen fósforo en su composición, ya que son ésteres o amidas derivadas del ácido fosfórico, tiofosfórico, ditiofosfórico, fosfónico y fosfínico. Tienen efecto insecticida principalmente, aunque algunos de ellos presentan actividad nematocida, fungicida y herbicida.

Se caracterizan por tener un espectro de acción más estrecho que el de los organoclorados, por su baja persistencia y fácil descomposición a productos no tóxicos. Se metabolizan relativamente rápido en organismos vertebrados y presentan ausencia de acumulación en los mismos; todo lo anterior los hace preferibles en comparación con los organoclorados. Sin embargo, como desventaja de estos compuestos se tiene su toxicidad, la cual es relativamente alta para los vertebrados y seres humanos, lo que obliga a una manipulación más cuidadosa.

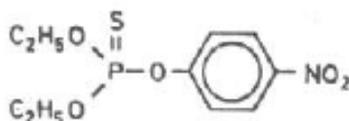


Figura 2. Fórmula Química del Paratión

La toxicidad y la acción insecticida de estos compuestos son atribuidas a la inhibición de la actividad acetilcolinesterasa, enzima que se encuentra en las células nerviosas de los organismos y cuya desactivación paraliza su sistema nervioso (Marquez, 2001; U.S. Department of Agriculture, 1998).

Los organofosforados al ser ingeridos o inhalados, pasan rápidamente al torrente sanguíneo, inhibiendo la acetilcolinesterasa y causando efectos en el sistema muscular involuntario como: temblores, convulsiones e incluso la muerte en humanos (Mosquera, 2007; Defensoria del Pueblo, 2003).

Los ésteres organofosforados son muy susceptibles a la hidrólisis, el cual es el proceso más común de degradación, donde el H_2O y OH^- actúan como nucleófilos sobre el grupo funcional éster (Bavcon et al., 2003).

Dentro de este grupo de plaguicidas se encuentran tres productos que han sido de gran uso en el país, y los cuales son analizados en el presente estudio, estos son: Clorpirifos, Malatión y Metil Paratión.

3.1.1.3 Clasificación según su toxicidad

De acuerdo con su toxicidad, la clasificación de los pesticidas se realiza en función de su dosis letal 50 (DL_{50}) o cantidad de producto que es capaz de eliminar al 50% de una población. En la Tabla 1 se establecen las categorías y dosis letales correspondientes a cada categoría.

Tabla 1. Clasificación de los pesticidas de acuerdo con su toxicidad

Categoría	Dosis Letal 50 (DL₅₀)
Supertóxicos.	< 5mg/Kg
Extremadamente tóxicos.	5-50mg/kg
Muy tóxicos.	50-500 mg/kg
Moderadamente tóxicos.	500 – 5000 mg/kg
Ligeramente tóxicos.	5 - 15gr/Kg
Prácticamente no tóxicos.	> 15 gr/Kg

3.1.2 Disponibilidad de los Pesticidas en el Ambiente.

Muchos plaguicidas no permanecen en el lugar donde se aplicaron, sino que se esparcen a través del agua, suelo, aire y biota; muchas veces a grandes distancias (Kerle et al., 2007; Hayo, 1996).

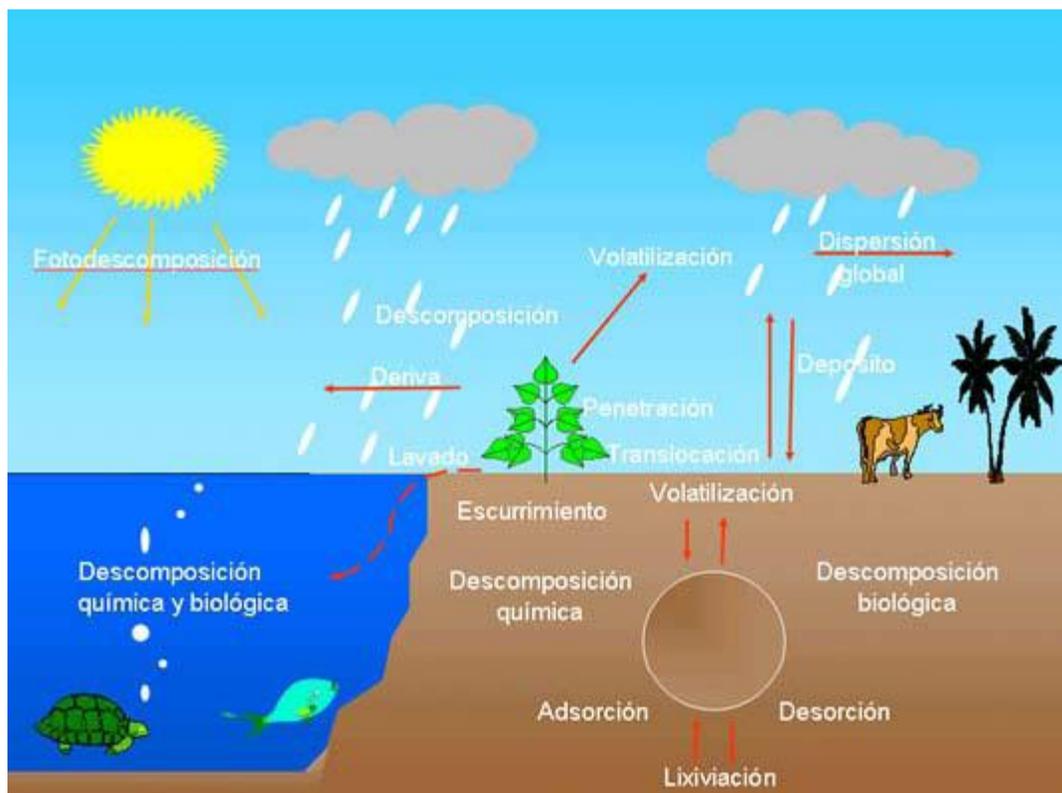
El movimiento de los plaguicidas y los compuestos orgánicos está influenciado por diversos factores, que incluyen entre otros: la adsorción, la volatilización, la dilución, actividad biológica y reactividad (Navarrete, 1995).

El fenómeno de adsorción de un compuesto desde una solución acuosa, depende de dos condiciones: **1)** el soluto tiene una baja afinidad por el agua ó **2)** el soluto tiene una alta afinidad por el sólido (FAO, 2000).

En el caso de la volatilidad, ésta depende fundamentalmente de la presión de vapor del compuesto y está fuertemente influenciada por las condiciones ambientales (temperatura, velocidad del viento, etc.), cuanto menor es la presión de vapor, más tendencia tiene el producto a permanecer en el suelo (FAO, 2000).

La solubilidad en agua está íntimamente relacionada con la movilidad del pesticida, de forma que cuanto mayor es la solubilidad, mayor será la movilidad.

En la Figura 3 se presentan las interacciones que se llevan a cabo entre los pesticidas y el ambiente.



**Figura 3. Interacción de los pesticidas con en el ambiente
(Mosquera, 2007)**

3.1.2.1 Movilidad en el suelo

La movilidad de un pesticida depende del grado de solubilidad en agua, el cual puede ser medido mediante el coeficiente de partición o también llamado coeficiente de adsorción (K_{oc}). Este coeficiente se define como la razón o relación entre la concentración del pesticida adherido a las partículas del suelo, y la concentración del pesticida disuelto en el agua o solución del suelo. Por lo tanto, cuanto menor sea el valor de K_{oc} , mayor será la concentración del plaguicida en la solución (Mosquera, 2007; FAO, 2000).

De acuerdo con lo anterior, cuando un pesticida se introduce en el suelo, una parte de él se adhiere a las partículas del suelo (especialmente a la materia orgánica) a través de un proceso llamado adsorción, y otra parte se disuelve en el agua del suelo. La solubilidad de un pesticida y la adsorción en el suelo están inversamente relacionadas, esto quiere decir, que un aumento en la solubilidad se traduce en un descenso de la adsorción (Mosquera, 2007; ACS Symposium series, 1986).

Cuando la adsorción es muy baja, los compuestos son muy móviles y susceptibles a ser lavados, provocando una fuerte contaminación de las aguas freáticas. Esto suele ocurrir en los suelos de cultivo muy pobres en materia orgánica, más aún cuando se trata de suelos irrigados en los que el lavado es mayor (Mediterranea de Agroquímicos, S.F.).

Por el contrario, una adsorción muy elevada puede hacer que los productos aplicados no lleguen a ser eficaces, y permanezcan un largo tiempo en el suelo, lo que suele ocurrir cuando los contenidos de materia orgánica en los suelos son muy altos. Por consiguiente, se considera que la lixiviación de los plaguicidas será más lenta en este tipo de suelos, que en aquellos que poseen bajo contenido de materia orgánica (Mosquera, 2007; Universidad de Extremadura, 2004).

Debido a la importancia de la materia orgánica en la adsorción, se utiliza para ella un modelo basado en el coeficiente de reparto Octanol/Agua (Koa ó Kow), donde el octanol representa la fase lipídica o hidrofóbica. Este coeficiente describe el reparto de un compuesto (como los pesticidas) entre la materia orgánica del suelo y la solución del mismo. Por lo tanto, los compuestos con bajos valores de Koa corresponden a moléculas pequeñas y polares, mientras que compuestos con altos valores de Koa presentan grandes moléculas, poco o nada polares (Dorronsoro & García, 2004).

Otros factores que rigen la adsorción de los pesticidas al suelo, se encuentran: *la naturaleza del complejo adsorbente y el pH*. En la primera, tiene mucho que ver el además del contenido de materia orgánica, la concentración y naturaleza de las arcillas presentes, las cuales presentan gran influencia en el intercambio iónico del suelo. Los compuestos catiónicos pueden ser adsorbidos por las cargas negativas de las arcillas y de la materia orgánica, mientras que los compuestos aniónicos son adsorbidos principalmente por la materia orgánica y por los oxi-hidróxidos de hierro y aluminio. En ambos casos la adsorción estará muy influida por el pH (Kerle et al., 2007; U.S. Department of Agriculture, 1998).

Una consecuencia atribuida al uso de fertilizantes químicos, es la modificación del pH del suelo (en diferente sentido según el tipo empleado), lo que provoca que existan excesos de algunos elementos que pueden lavarse y pasar a las aguas freáticas y de ellas a las de consumo (Dorronsoro & García, 2004).

Por otra parte, entre los factores propios del producto, que rigen la adsorción de los pesticidas al suelo, los factores decisivos son: el tamaño de su molécula y la polaridad de la misma (Dorronsoro & García, 2004).

El suelo tiene mecanismos de defensa ante los contaminantes, pero muchos de estos mecanismos están basados en la precipitación, adsorción y fijación de los mismos; por lo que estos mecanismos no constituyen una destrucción de los plaguicidas como tal, sino que eliminan su bio-disponibilidad, pudiendo ser reversible en etapas posteriores.

Entre los factores que influyen en la bio-disponibilidad de los contaminantes en el suelo se destacan (Kerle et al., 2007):

Capacidad de intercambio catiónico. Como ya se mencionó, éste es un parámetro decisivo en el almacenamiento de sustancias de naturaleza catiónica, como algunas moléculas de pesticidas, en el suelo.

pH. Actúa facilitando el almacenamiento o la liberación de los compuestos presentes en el suelo, de modo que es uno de los factores más importantes. Cuando el pH baja se incrementa la solubilidad de las sustancias catiónicas retenidas, mientras que un aumento del pH provoca el mismo efecto en las sustancias aniónicas.

Potencial de oxidación. Es importante porque puede movilizar elementos tóxicos encerrados en las estructuras moleculares de los compuestos de hierro y manganeso.

Contenido de materia orgánica. Afecta al complejo de cambio, a la capacidad tampón y a la actividad biológica del suelo, sin olvidar su carácter complejante y su influencia sobre la estructura, que afecta la aireación del suelo.

Estructura. Regula el drenaje, controla la humedad y afecta la erodabilidad de la capa superior.

3.1.3 Persistencia de los Pesticidas

La Persistencia de un pesticida es la resistencia a ser degradado o transformado como resultado de distintas reacciones fisicoquímicas y microbiológicas en el suelo (Mosquera, 2007; Kerle et al., 2007).

La persistencia varía de unos suelos a otros y está muy relacionada con la adsorción del suelo, además de las propiedades del pesticida; cuando la adsorción es muy intensa, el pesticida puede permanecer en el suelo durante

un largo tiempo (Dorronsoro & García, 2004; U.S. Department of Agriculture, 1998).

Los compuestos cuyo periodo de degradación es extremadamente largo se consideran persistentes, y estos se dispersan en el medio ambiente sin experimentar mayores cambios (FAO, 2000).

En la Tabla 2 se presenta la persistencia promedio de los pesticidas, según su naturaleza química.

Tabla 2. Persistencia promedio de los pesticidas

Tipo	Acción	Persistencia
Organoclorados	Insecticida	2 – 5 años
Derivados benzoicos	Herbicidas	3 – 12 meses
Derivados de la urea	Herbicidas	4 – 10 meses
Amidas	Herbicidas	2 – 10 meses
Ácidos alifáticos	Herbicidas	3 – 10 semanas
Organofosforados	Insecticidas	7 – 8 semanas
Carbamatos	Todas	2 – 8 semanas

(Dorronsoro & García, 2004)

3.1.4 Bioacumulación de los Pesticidas

La bioacumulación indica la tendencia de un compuesto a acumularse en los organismos. El coeficiente de partición Octanol-agua (Kow), es el índice más utilizado para cuantificar la bioacumulación de un plaguicida. Los compuestos con un valor de Kow alto se acumulan en los organismos (Dorronsoro & García, 2004).

3.1.5 Degradación de los pesticidas

Con el tiempo, casi todos los plaguicidas se descomponen o se degradan como resultado de distintas reacciones químicas y microbiológicas en el suelo. Estos procesos tienen como resultado la degradación final del compuesto en CO₂, H₂O, HCl, SO₂, entre otros compuestos minerales (Kerle et al., 2007; FAO, 2000).

El tiempo de vida media de degradación o semidesintegración (DT₅₀), es el tiempo que tarda un plaguicida para ser transformado o degradado a la mitad de su concentración inicial. A medida que se degradan, algunos pesticidas producen sustancias intermedias llamadas metabolitos, cuya actividad biológica también puede presentar repercusiones ambientales importantes, incluso algunos de ellos pueden llegar a ser más tóxicos que los compuestos originales (FAO, 2000).

Los procesos de degradación más importantes llevados a cabo en el suelo son:

3.1.5.1 Hidrólisis

La hidrólisis es un proceso en el que un compuesto es transformado por contacto con el agua, sufriendo una reacción química en la que una parte de la molécula del compuesto es reemplazada por un grupo hidroxilo. El pH del medio en el que se encuentra el compuesto, influye considerablemente en este proceso (Mosquera, 2007).

3.1.5.2 Fotólisis

La fotólisis es la descomposición de un compuesto químico como resultado directo de la radiación ultravioleta (Mosquera, 2007). Ésta puede separarse en dos procesos: fotólisis indirecta y fotólisis directa.

En la primera, la reacción se da por acción directa de la luz ultravioleta sobre la molécula del compuesto, generando la descomposición del mismo.

Por otro lado, en la foto-degradación indirecta, la degradación se da por sustancias oxidantes generadas a partir de la luz ultravioleta, estas sustancias atacan la molécula del pesticida y ocasionan su transformación. Algunas especies orgánicas como los ácidos húmicos y fúlvicos, e inorgánicas como los nitratos y nitritos, pueden acelerar considerablemente la fotólisis de un pesticida (Ruiz, 2001).

3.1.5.3 Biodegradación

La descomposición biológica o biodegradación consiste en la transformación de una sustancia por acción de los microorganismos, éste es un proceso de degradación muy importante en el suelo, especialmente cuando el pH es menor a 7.0 (Mosquera, 2007), donde es posible que la velocidad de la hidrólisis sea lenta. En condiciones ambientales, la biodegradación puede verse afectada por varios factores, entre ellas la presencia o ausencia de oxígeno (condiciones aerobias o anaerobias) y nutrientes, el tamaño de la población de microorganismos y la capacidad de adaptación de estos (Castañeda, 2005; Vidali, 2001).

En este proceso, cuando los contaminantes son degradados **metabólicamente** se utilizan como fuente de carbono y/o nutrientes para la obtención de la energía necesaria para el crecimiento, reproducción y mantenimiento celular; la otra parte termina en forma de dióxido de carbono, agua y sales minerales,

lográndose una auténtica mineralización con desaparición completa del pesticida.

Los contaminantes también pueden ser atacados por una gran variedad de enzimas extracelulares y consorcios microbianos que se encuentran en el suelo, en este caso su degradación es de forma **cometabólica** (Jin, Englande, & Qiu, 2003). En el cometabolismo se produce una transformación de la estructura del pesticida sin que pueda considerarse que es utilizado como fuente de energía por los microorganismos. El catabolito resultante, ya no posee la acción inicial, pero puede tener otros efectos, en muchas ocasiones desconocidos y cuya toxicidad puede ser variable (Universidad de Extremadura, 2004).

Dentro de las enzimas relacionadas con la transformación de los pesticidas organofosforados Singer & Crohn (2002) y Jokanovic´ (2001), señalan que las mono y di-oxygenasas juegan un papel importante, ya que introducen uno o varios átomos de oxígeno dentro de la molécula química de estos pesticidas, incrementando su solubilidad en agua y por lo tanto su biodisponibilidad, volviéndolos más susceptibles a ser mineralizados. En la Figura 4, se muestra la desulfuración oxidativa que sufren el Malatión y el Paratión por acción del citocromo P450, un sistema de monooxygenasas que se caracteriza por utilizar el NADPH (Nicotinamida-Adenina-Dinucleótido-Fosfato) para reducir el oxígeno molecular hasta agua, e incorporar un átomo de oxígeno a la molécula que ataca (González, 2007).

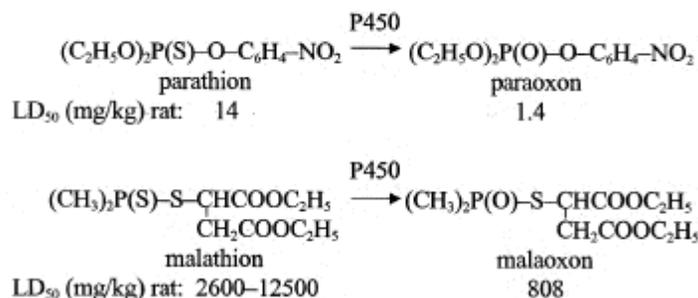


Figura 4. Transformación del Paratión y Malatión a través de la Desulfuración Oxidativa (Jokanovic´, 2001)

Otro grupo de enzimas son las carboxilesterasas, las cuales son capaces de metabolizar lípidos y un largo número de medicamentos, así como de catalizar

la hidrólisis de esteres del ácido carboxílico, ésta es una forma importante de detoxificación del Malatión (Fukuto, Mechanism of Action of Organophosphorus and Carbamate Insecticides, 1990; WHO, 1976) y su metabolito tóxico, el Malaoxón (Fukuto & Metcalf, 1969). Las carboxilesterasas también participan en la detoxificación de Carbofuran, Piretroides y otros organofosforados diferentes al Malatión Cashman et al., (1996). Enzimas similares a las Carboxilesterasas son las arilesterasas, que pueden hidrolizar algunos compuestos organofosforados que contienen grupos aromáticos como el Paraoxón y el Clorpirifos oxón (Jokanovic', 2001). En la Figura 5 se presenta la hidrólisis del Malatión bajo la acción de una enzima Carboxilesterasa.

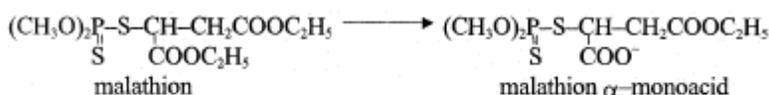


Figura 5. Hidrólisis del Malatión por una enzima Carboxilesterasa

(Jokanovic', 2001)

El grupo nitro del Paratión (NO_2) y otros compuestos similares, como el Metil Paratión, pueden ser reducidos enzimáticamente a grupos amino (NH_2) (Figura 6), los cuales son inactivos como insecticidas y no inhiben la Acetil Colinesterasa, debido a que los grupos amino liberan electrones, mientras que los grupos nitro los atraen fuertemente (Jokanovic', 2001).

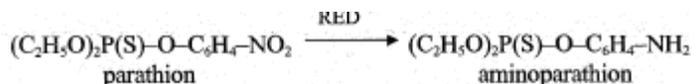


Figura 6. Reducción del grupo nitro a amino en el Paratión por acción enzimática

(Jokanovic', 2001)

Otras interacciones que pueden darse entre los contaminantes y los microorganismos son: **1)** la polimerización o conjugación del pesticida, formando un polímero menos móvil que el compuesto original y carente de su efecto, **2)** Los microorganismos pueden incorporar el pesticida a su propio organismo, provocando una acumulación dentro de éste, quedando de nuevo liberado el compuesto en el momento en que muere el organismo captor y **3)** pueden ejercer una acción semejante a la que tiene lugar en el suelo de forma abiótica, es decir, realizar procesos de oxidación, de reducción o de hidrólisis (Universidad de Extremadura, 2004).

Además de la transformación de los contaminantes realizada por la acción de los microorganismos, también está la transformación realizada por las plantas, quienes absorben el producto y pueden metabolizarlo por procedimientos semejantes a los utilizados por los microorganismos. Esta absorción puede causar su muerte como en el caso de los herbicidas, o servir para su defensa como en el caso de los insecticidas sistémicos.

En el proceso general de descomposición biológica intervienen algunas propiedades del pesticida, como son: su **estructura química**, la **capacidad de adsorción** (que impide su ataque), el **coeficiente de reparto** entre las fracciones inorgánica y orgánica, y las **constantes de disociación ácida y básica** que determinan la forma de descomposición de la sustancia.

Otros factores explicados anteriormente se deben al suelo, y su influencia en la adsorción o desorción de los compuestos, tales como: el **contenido de materia orgánica**, la **textura**, la **estructura**, la **aireación**, el **potencial redox** y el **pH**. Por último, no se puede olvidar la **actividad biológica** del suelo (favorecida por un elevado contenido de material orgánico) que es la biomasa potencial para la degradación de los compuestos (Kerle et al., 2007).

Hay otros factores relacionados con el medio ambiente como son: la **temperatura**, que favorece la acción bacteriana, y por ende, la velocidad de degradación; la **pluviosidad**, que determina la humedad y el lavado de las sustancias; y su conjunto, que determina la densidad de la cubierta vegetal, cuya acción degradante también puede ser importante (Donézar, 1995).

3.2 CLORPIRIFOS

3.2.1 Propiedades del Clorpirifos

El Clorpirifos es un sólido blanco de apariencia cristalina y de aroma fuerte. No es muy soluble en agua, de manera que generalmente se mezcla con líquidos aceitosos antes de aplicarse a cosechas o animales. También se puede aplicar a cosechas en forma de cápsulas (ATSDR, 1997).

En la Tabla 3. Se presentan las principales propiedades del Clorpirifos.

Tabla 3. Propiedades del Clorpirifos

Nombre químico	O,O-diethyl O-(3,5,6-trichloro-2-pyridyl) phosphorothioate
Fórmula Química	C ₉ H ₁₁ Cl ₃ NO ₃ PS
Número CAS	2921-88-2
Peso Molecular	350.6 g/mol
Densidad a 21°C	1,51 g/ml
Presión de vapor	2.5 mPa @ 25°C
Punto de fusión	41.5 – 42.5° C
Punto de ebullición	>300°C
Coef. De Partición (Log Kow)	4.69
Coef. De adsorción (Koc)	6070
Solubilidad en agua	2.0 mg/L @ 25°C

(ATSDR, 1997)

3.2.2 Degradación del Clorpirifos

Clorpirifos es un compuesto degradable, y en su descomposición pueden participar activamente diversos factores ambientales. Tanto la degradación microbiana como la degradación abiótica (como hidrólisis) son factores importantes en su disipación del suelo, siendo ésta última especialmente predominante en suelos alcalinos (Dow Agrosciences, 2008).

En todos los sistemas (suelo, aguas, plantas y animales), la ruta principal de degradación se inicia con la ruptura del enlace éster-fósforo, produciendo 3,5,6-tricloro-2-piridinol (TCP). Este primer paso es una detoxificación, ya que el TCP no presenta actividad insecticida y las autoridades regulatorias lo consideran toxicológicamente insignificante. Sin embargo, el TCP ha mostrado tener efecto tóxico sobre los microorganismos, lo que hace que sea un poco lenta la degradación de este compuesto por la microflora del suelo (Castañeda, 2005). En el suelo y agua, el TCP continúa degradándose a través de la actividad microbiana y la fotólisis en dióxido de carbono y materia orgánica. En los animales, el TCP puede ser excretado directamente o tras su conjugación; en las plantas, se aíslan los conjugados de TCP (Dow Agrosciences, 2008).

En la Figura 7, se presentan las diferentes rutas y degradación del Clorpirifos.

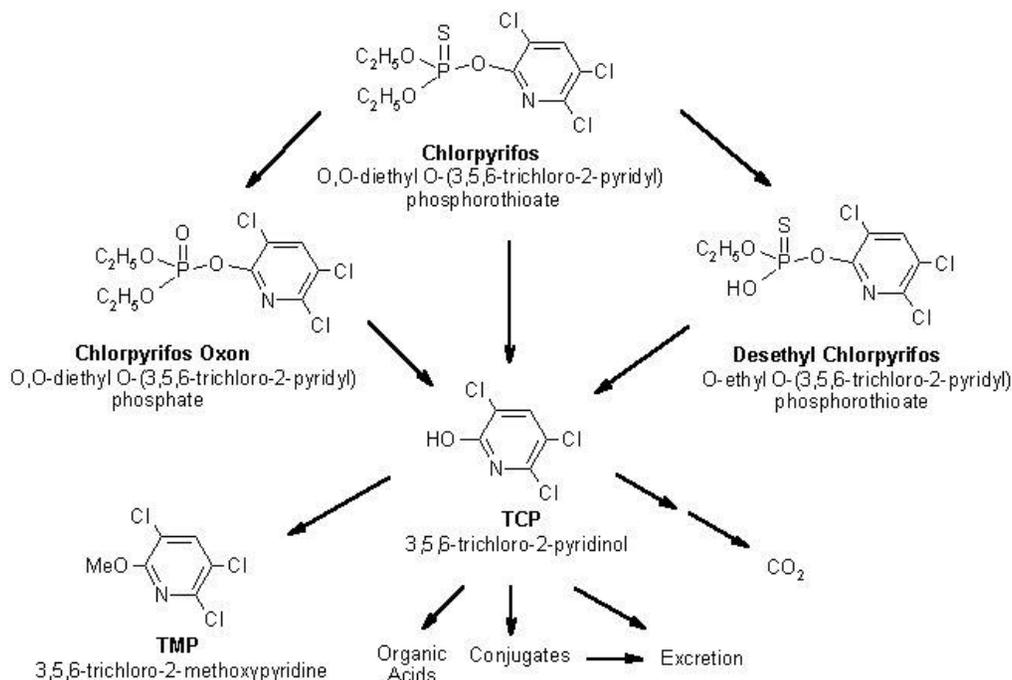


Figura 7. Clorpirifos y sus metabolitos de degradación

(Dow Agrosciences, 2008)

3.2.3 Persistencia del Clorpirifos en el ambiente

El Clorpirifos puede llegar al suelo mediante aplicación directa, por la deriva del pulverizado o por el lavado desde el follaje. Es moderadamente persistente y presenta un coeficiente de adsorción en el suelo (K_{oc}) mayor a 5000, por lo que tiene una fuerte tendencia a ser adsorbido por el suelo y la materia orgánica en éste, dificultando su lixiviación a las aguas subterráneas.

Una vez alcanza ecosistemas acuáticos, puede generar graves daños, ya que es un compuesto muy tóxico para los organismos acuáticos, y puede causar efectos adversos a largo plazo.

Cuando se aplica en las dosis agrícolas normales, las vidas medias típicas de degradación en el suelo en condiciones aeróbicas para el Clorpirifos, son del orden de 60 a 120 días (Kamrin, 1997).

3.3 MALATIÓN

De acuerdo con (Cordoba, 2001), el Malatión es un insecticida organofosforado catalogado toxicológicamente en la categoría III de la EPA (ligeramente tóxico). Ingresa a los organismos por ingestión y por el aire. Su inespecificidad hace

que a las dosis utilizadas contra la mosca de las frutas, por ejemplo (Tephritidae), resulte tóxico y letal para la mayor parte de los insectos con una biomasa similar. Este efecto indeseado disminuye la biodiversidad y crea condiciones para la aparición de otras plagas (EPA, Environmental Protection Agency, 2000).

El Malaoxón es un análogo oxigenado del Malatión, y puede ser encontrado también como una impureza en una formulación de Malatión, o puede ser generado a partir de la oxidación del Malatión en el aire o el suelo. El Malaoxón es el metabolito activo del Malatión que inhibe la colinesterasa. Ambos compuestos son detoxificados a compuestos polares solubles en agua por medio de carboxiesterasas (Newhart, 2006).

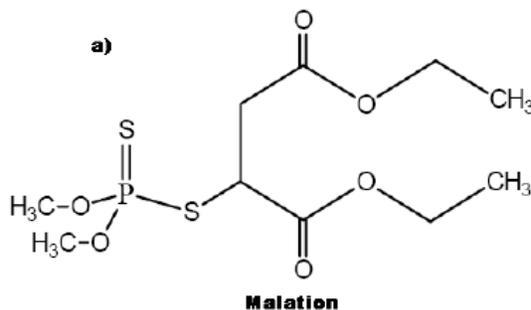
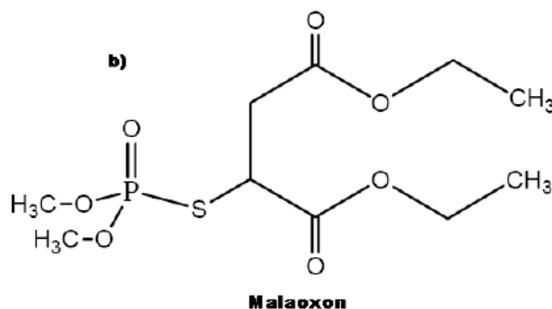


Figura 8. Estructura Química del Malatión



**Figura 9. Estructura Química del Malaoxón
(Newhart, 2006)**

3.3.1 Propiedades del Malatión

En la Tabla 4 se presentan las propiedades del Malatión

Tabla 4. Propiedades del Malatión

Nombre químico	0,0 dimetil fosforoditioato de dietil mercapto succinato
Formula Molecular	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂
Número CAS	121-75-5
Peso molecular (g/mol)	330,36
Densidad (g/mL)	1,2076 @ 20°C
Punto de ebullición (°C)	156-157 @ 0,7 mm Hg
Punto de fusión (°C)	2,85
Solubilidad en agua (mg/L)	130 @ 25°C
Presión de vapor (mPa)	5.3 @ 30°C
Coef. de partición (Log Kow)	2.75
Coef. de adsorción (Koc)	1800

(ATSDR, 2003)

3.3.2 Degradación del Malatión

El Malatión tiene una movilidad en la solución del suelo entre moderada y alta. Generalmente su degradación es rápida, y la contaminación de la solución del suelo no se ha encontrado sea extendida. La División de Efecto y Destino Ambiental de la EPA (EFED), concluyó que es potencialmente móvil en la solución del suelo, especialmente en aquellos con bajo contenido de materia orgánica y alto contenido de arena (Newhart, 2006; Neal et al., 1993).

El Malatión es degradado particularmente por hidrólisis, fotólisis y por acción de los microorganismos (LeNoir et al., 1999). De acuerdo con Mosquera (2007) y Newhart, (2006), la principal ruta de degradación del Malatión en el suelo es a través del metabolismo aeróbico. El tiempo de vida medio del Malatión en el suelo fue reportado en 3 días en suelos alcalinos, y 7 días para suelos ácidos.

Según Paschal & Neville, (1976), los ácidos Malatión mono y di-carboxílicos, el Malaóxón, el fumarato de etilo, diethyl thiosuccinate y el CO₂ son los productos de degradación que han sido identificados en estudios de campo y de laboratorio. El mayor metabolito en suelos es el Malatión beta-monoácido y ha sido reportado con un tiempo de vida media de 4 a 6 días (Newhart, 2006).

En el agua, el Malatión es susceptible de hidrólisis y su semidesintegración varía entre 0,2 semanas a pH de 8 y 21 semanas a pH de 6 (FAO, 2000).

3.3.3 Persistencia en el suelo

La persistencia es larga en condiciones secas, arena, bajo nitrógeno y condiciones ácidas; y es degradado más rápidamente en el suelo que en la fase acuosa. Se considera que la vida del Malatión puro en el suelo varía de 24 horas a un promedio de 6 días. Montenegro (2001), considera que se extiende hasta los 25 días. La tasa de degradación se incrementa cuando aumenta la humedad y pH o contenido de carbonatos (Mosquera, 2007).

3.4 METIL PARATIÓN

3.4.1 Propiedades del Metil Paratión

El Metil Paratión es un sólido de color entre blanco y tostado. Sufre una rápida hidrólisis en medios alcalinos, pero se hidroliza lentamente en ácidos débiles (Spectrum Laboratory, 2003; EPA, Environmental Protection Agency, 1984).

Tabla 5. Propiedades del Metil Paratión

Nombre Químico	O,O-dimethyl O-4-nitrophenyl phosphorothioate
Formula Molecular	$C_8H_{10}NO_5PS$
Número CAS	298-00-0
Peso Molecular (g/mol)	263.21
Punto de fusión (°C)	37–38
Punto de Ebullición (°C)	143 @ 0.05 mm Hg
Presión de vapor (mPa)	1,3 @ 20°C
Densidad (g/mL)	1,4
Solubilidad en agua (mg/L)	55-60 @ 20°C
Coef. de partición (Log Kow)	3.52-3.84
Coef. de adsorción (Koc)	5100

(ATSDR, 2001)

3.4.1 Degradación del Metil Paratión

El Metil Paratión se degrada en el suelo principalmente como resultado de procesos biológicos (biodegradación), aunque también se puede presentar la transformación química, por foto-degradación (Spectrum Laboratory, 2003; WHO, World Health Organization, 1993). La degradación aumenta con la temperatura y la exposición a la luz solar. La principal excepción corresponde a los derrames, en los que la degradación sólo se produce al cabo de muchos años, siendo la principal ruta de transformación la fotólisis (Spectrum Laboratory, 2003; FAO, 2000).

Los principales procesos empleados para eliminar el compuesto del agua son la biodegradación y la fotólisis. En un período de 2 a 4 semanas tiene lugar el 100 por ciento de la degradación. La hidrólisis se produce (del 5 al 11 por ciento) en 4 días en ríos y más lentamente en sistemas marinos. El Metil Paratión se degrada mediante fotólisis directa en aguas naturales (semidesintegración de 8 días en verano y de 38 días en invierno) (FAO, 2000; EPA, 1984).

La degradación ocurre más rápidamente en 1) suelos poco permeables que en suelos permeables, y 2) en suelos húmedos que en suelos secos (Spectrum Laboratory, 2003). La degradación en suelos poco permeables ocurre principalmente por la reducción del grupo nitro. La hidrólisis ocurre en mayor medida bajo condiciones de buena permeabilidad (WHO, 1993).

El Metil Paratión puede ser degradado en el ambiente por hidrólisis a p-nitrofenol y ácido dimetil tiofosfórico, o por reducción del grupo nitro a Metil Amino-paratión. Otro producto de degradación, generado por la desulfuración oxidativa, es el Metil Paraoxón; el cual es el subproducto de mayor actividad en la inhibición de la actividad de la acetilcolinesterasa (New Jersey Department of Health and Senior Services, 1999; WHO, 1993).

3.4.2 Movilidad del Metil Paratión en el ambiente

Se considera que el Metil Paratión es moderadamente móvil en el suelo. La adsorción no parece estar relacionada con el contenido orgánico del suelo, pero el contenido de arcilla puede ser importante (FAO, 2000).

Debido a que el Metil Paratión tiene una adsorción moderada en el suelo, y es rápidamente degradado, es poco probable que se presente lixiviación a aguas subterráneas. Sin embargo podría tener lugar la lixiviación a aguas subterráneas en suelos expuestos a grandes cantidades del pesticida, tal como en un derrame accidental o la acumulación de desechos, en particular, en suelos con baja capacidad de adsorción (EPA, 1984).

Se considera que la volatilización y la evaporación no son procesos de transporte importantes (Spectrum Laboratory, 2003).

3.5 BIORREMEDIACIÓN

La biorremediación de suelos es una estrategia biotecnológica de carácter ambiental, la cual utiliza la biodegradación acelerada, desarrollada por sistemas biológicos tales como bacterias, hongos, algas, consorcios microbianos, entre otros, para degradar contaminantes como hidrocarburos o plaguicidas y/o sus productos de degradación que se acumulan en los suelos. Esta técnica puede emplear microorganismos autóctonos o alóctonos para llevar a cabo la transformación de los contaminantes (Universidad de Extremadura, 2004). Este proceso puede presentarse en los agro-ecosistemas naturalmente como consecuencia del uso extensivo y repetido de un pesticida para el control de plagas y enfermedades sin rotación de cultivos (Vidali, 2001). Ésta es una técnica amigable con los ecosistemas y es mucho más específica, por lo que las rutas de degradación y la eficiencia varían de acuerdo al tipo de pesticida, concentración y tipo de formulación empleado (DEQ, 1998).

De acuerdo con (Vidali, 2001) y Atlas & Unterman (1999), los parámetros críticos a considerar en un tratamiento biológico son: el **tipo y concentración de contaminante**, la **concentración de microorganismos**, la **concentración de nutrientes**, la **aireación**, las **condiciones macroambientales**, la **presencia de inhibidores** y la **biodisponibilidad del contaminante**.

A continuación se explican los efectos de algunos de los factores mencionados, sobre la bio-degradación de los contaminantes en el suelo.

3.5.1 Efecto de la actividad microbiana en el proceso de biorremediación

Los microorganismos pueden degradar hidrocarburos y otras sustancias contaminantes en forma de cultivos puros (especie única) o cultivos mixtos (varias especies que mantienen una relación simbiótica). Cuando se trata de este último caso, el tratamiento biológico implica una compleja interacción de especies microbianas (DEQ, 1998). La velocidad de crecimiento y la utilización de sustratos es generalmente superior en cultivos mixtos que en cultivos puros (Interstate Technology and Regulatory Council, 2002).

En los ambientes naturales, los microorganismos poseen una notable capacidad de adaptación, lo que se favorece por su integración en poblaciones dentro de una comunidad. La base de este fenómeno está, por una parte, en la adquisición de nuevas capacidades metabólicas mediante mecanismos de variación genética convencionales (mutación, conversión génica, duplicación, transposición) o intercambio de genes y, por otra, en la posibilidad de

complementación de las actividades metabólicas de los distintos grupos microbianos (Sánchez & Rodríguez, 2004; DEQ, 1998).

En una mezcla de poblaciones, los consumidores primarios inician el proceso de degradación y los consumidores secundarios utilizan los productos metabólicos de los primeros para degradarlos (Singer & Crohn, 2002). Además pueden facilitar el crecimiento de los primarios, suministrándoles productos metabólicos (como factores de crecimiento), eliminando tóxicos mediante cometabolismo y produciendo intercambio de material genético (Ercolí, et al., 2001).

El primer paso suele ser realizado por bacterias heterótrofas y actinomicetos, seguidos de bacterias autótrofas, hongos, incluidos basidiomicetos, y protozoos específicos.

De acuerdo con Mosquera (2007) y la Universidad de Extremadura (2004), los pesticidas en el suelo son principalmente degradados por la actividad microbiana, a mayor actividad microbiana más rápido ocurrirá la degradación del compuesto contaminante.

Sobre la degradación de contaminantes por cultivos puros, Walter (1997) y Atlas & Unterman (1999), mencionan el uso de técnicas de biorremediación en las que se suelen utilizar microorganismos aclimatados ó modificados genéticamente, con el fin de mejorar la biodegradación, proceso también llamado: Bioaugmentación. Según Alexander (1999), estas técnicas generalmente funcionan bien en condiciones de laboratorio o biorreactores, pero en ambientes externos su implantación depende de una serie de inconvenientes que pueden volver complicada la aplicación de estas técnicas, entre los inconvenientes se encuentran:

- La capacidad de carga de muchos ambientes, viene determinada por factores tales como la presencia de toxinas, nutrientes y condiciones ambientales, movilidad y/o distribución de los microorganismos y la presencia de abundante materia orgánica. Por lo que los microorganismos introducidos deberán tener capacidad para adaptarse a estas condiciones.
- Los microorganismos añadidos deben sobrevivir a los depredadores y competir con éxito con la población autóctona antes de ocupar los nichos potenciales.

3.5.1.1 Efecto de consorcios microbianos

El cometabolismo es una actividad importante desde el punto de vista medioambiental, con matices complejos. Implica esencialmente, el metabolismo "gratuito", es decir, no útil para el crecimiento u obtención de energía, de un sustrato secundario (compuesto contaminante) por medio de la generación de enzimas, generándose nuevos productos, con características diferentes en comparación con los compuesto iniciales (Vidali, 2001; DEQ, 1998).

La existencia de diversidad microbiana en el suelo hace factible la degradación posterior de esos productos mediante reacciones sintróficas y, en última instancia, su mineralización (descartando la posibilidad, a tener en cuenta, de que dichos productos sean tóxicos, y/o persistentes) (Wackett & Hershberger, 2001; Alexander, 1999). El término de cometabolismo ó sintrofia, por tanto, implica la acción concertada de diferentes microorganismos sobre un sustrato mediante la combinación de sus actividades metabólicas, lo que permite su degradación (Sánchez & Rodríguez, 2004).

Este proceso no sería posible en presencia de microorganismos aislados. De acuerdo con Sánchez & Rodríguez (2004), poblaciones mixtas (que a veces se denominan consorcios) presentan gran importancia para la degradación más efectiva de los contaminantes orgánicos; reflejándose esto, en el creciente aumento de datos experimentales, en los que la biorremediación, tanto a nivel de laboratorio como en campo, está produciendo resultados esperanzadores.

3.5.2 Efecto del pH en los procesos de biorremediación

El pH afecta significativamente la actividad microbiana. El crecimiento de la mayor parte de los microorganismos es máximo dentro de un intervalo de pH situado entre 6 y 8. Así mismo, el pH también afecta directamente en la solubilidad del fósforo y en el transporte de metales pesados en el suelo. La acidificación o la reducción del pH en el suelo, se puede realizar adicionando azufre, aluminio, cal, entre otros compuestos (Maroto & Rogel, 2000).

3.5.3 Efecto de la materia orgánica en la biorremediación

La materia orgánica tiene una importante participación dentro del suelo en la retención y mineralización de plaguicidas. Estas características junto con la humedad, aireación y temperatura adecuadas, convierten a la materia orgánica en el volumen de suelo donde las condiciones para la actividad biológica son más favorables para la disipación e inactivación de los xenobióticos (Hang, Destino de los Plaguicidas en el Ambiente Suelo, 2003).

En la superficie del suelo, las condiciones favorecen las vías de mineralización y de estabilización de un xenobiótico. En el subsuelo, el contenido de materia orgánica decrece, y esto se refleja en menor degradación y menor retención, de modo que aumenta la persistencia y los riesgos de contaminación por transporte a aguas subterráneas (Hang, Destino de los Plaguicidas en el Ambiente Suelo, 2003).

Según Bollag et al. (1992), la materia orgánica del suelo es la fracción más activa en la formación de residuos ligados. La efectividad de este mecanismo está estrechamente vinculada con las transformaciones de la materia orgánica, con las que interactúa el compuesto. La distribución de la materia orgánica en el perfil, con distintos grados de transformación, es otro factor que modifica estas interacciones (Barriuso & Koskinen, 1996).

Se han determinado diferencias en la capacidad de formación de residuos ligados de atrazina dentro de un mismo suelo entre las distintas fracciones granulométricas, como también entre suelos con distinto manejo, lo que afecta la distribución del carbono orgánico (Hang, 2002). Esto provoca modificaciones en la capacidad de formación de residuos ligados, y se considera que también modifica la estabilidad en el tiempo de los residuos ligados formados (Hang, Destino de los Plaguicidas en el Ambiente Suelo, 2003).

3.5.4 Efecto de los nutrientes en la biorremediación

Los nutrientes son sustancias químicas necesarias para el desarrollo de los microorganismos y se pueden dividir en cuatro grupos: fuentes de Carbono, Fósforo, Nitrógeno y oligoelementos o elementos minoritarios (micronutrientes) (Interstate Technology and Regulatory Council, 2002; Vidali, 2001).

La dosificación de Nitrógeno y Fósforo se realiza en función de la concentración de contaminante de acuerdo a una relación que vincula la relación C:N:P, que varía según los autores entre 100:10:1 a 100:2:0,2, de acuerdo con: **1)** la técnica con que se mida la concentración del contaminante, y que aporta un 80 % de su masa como carbono al proceso, **2)** la velocidad de degradación esperada y **3)** un balance de masa del material en tratamiento y del aporte de cada fertilizante con los nutrientes presentes considerados (Ercolí, et al., 2001).

El metabolismo microbiano está orientado a la reproducción de los organismos, y éstos requieren que los constituyentes químicos se encuentren disponibles para su asimilación y sintetización (Maroto & Rogel, 2000).

En la Figura 10 se muestran los requerimientos y productos generados por microorganismos.

3.5.4.1 Carbono

En el caso de la biodegradación de un contaminante, la fuente principal de carbono es el mismo contaminante, y proporciona el carbono necesario para producir compuestos celulares, productos metabólicos (CO₂, agua, enzimas) y nuevos microorganismos (Carillo, 2003; Ercolí, et al., 2001).

3.5.4.2 Nitrógeno

El Nitrógeno es el elemento necesario para la producción de aminoácidos y enzimas. Dado que la utilización de estos compuestos es muy rápida, los suelos no alcanzan a cubrir todas las necesidades del proceso, y debe ser incorporado bajo la forma de fertilizantes de uso agrícola como urea o sulfato de amonio. También se pueden utilizar fertilizantes de origen orgánico como estiércol (Ercolí, et al., 2001).

3.5.4.3 Fósforo

El fósforo interviene en la formación de compuestos energéticos dentro de la célula, que se utilizan en los procesos de reproducción y degradación. Interviene en diferentes sistemas enzimáticos, y es particularmente importante en la fermentación de los carbohidratos estructurales, principalmente de la celulosa (Durand et al., 1983 citado por Ramirez & Meschy, 2005). Forma parte del material celular, como ácidos nucleicos, ATP, fosfolípidos de la membrana celular y ácido teicoico de las paredes celulares de las bacterias Gram+ (Ramirez & Meschy, 2005). Dado que la utilización de este compuesto es muy rápida, algunos suelos no alcanzan a cubrir todas las necesidades del proceso y debe ser incorporado bajo la forma de fertilizantes de uso agrícola como fosfato diamónico o fosfato tricálcico. También se pueden utilizar fertilizantes de origen orgánico como estiércol. Este parámetro es de importancia crítica para el buen desarrollo del proceso biológico (Vidali, 2001).

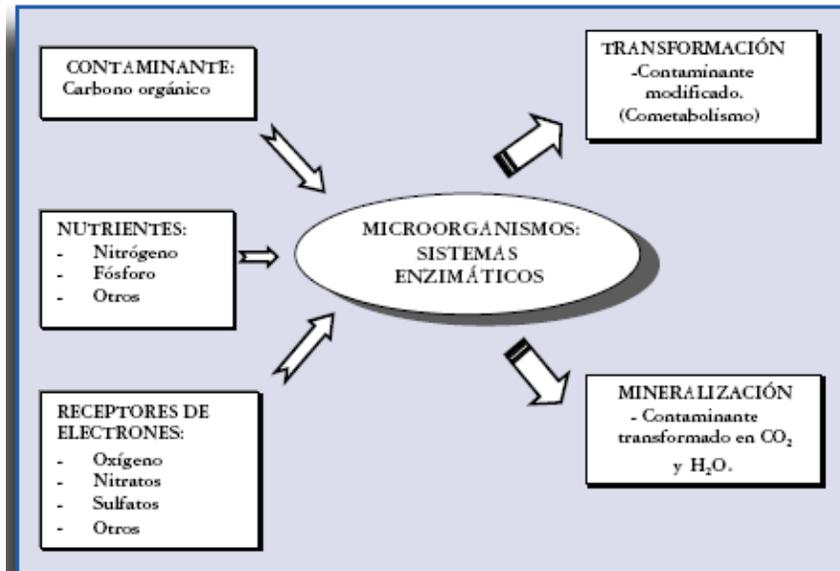


Figura 10. Interacción de los microorganismos con su ambiente (Rodríguez & Sánchez, 2004)

3.5.4.4 Micronutrientes

La fuente de oligoelementos constituye un conjunto variado de elementos como hierro, cobre, zinc, azufre, cobalto, manganeso, magnesio, calcio y otros compuestos; que dependen del tipo de microorganismo y del proceso que se realiza. Las concentraciones de los mismos son muy pequeñas (menos de 1 ppm en total). Normalmente no se incorporan en los procesos de campo ya que el suelo provee estos elementos en cantidades suficientes, aunque en algunos casos se han debido incorporar algunos gramos por hectárea para tratar algún contaminante muy específico o en los que el suelo no poseía ese elemento (Ercolí, et al., 2001).

El efecto de la adición de nutrientes ha sido evaluado por varios autores para la degradación de compuestos derivados del petróleo (Sublette et al., 2007; Juhasz et al., 2005; Nápoles et al., 2005), centrandó su atención principalmente al hallazgo de un balance adecuado en la relación C:N:P, que permita mayores eficiencias de degradación de estos compuestos y se pueda aplicar a condiciones de campo. Esta relación es alterada por los altos contenidos de carbono y las bajas concentraciones de nutrientes que presentan los compuestos derivados del petróleo, lo que ocasiona limitaciones en la biorremediación de suelos contaminados con dichos hidrocarburos.

En los estudios citados por (Singh & Ward, 2004), se han reportado diferentes relaciones C:N:P que han generado resultados exitosos en procesos de biorremediación, entre los cuales se encuentra la relación 100:10:1 para la degradación de diferentes compuestos orgánicos (Frankenberger, 1992), la relación 60:1 (C:N) y 800:1 (C:P) para la degradación de petróleo (Dibble & Bartha, 1979) y un rango entre 9:1 y 200:1 (C:N) para degradación de residuos de aceites y lodos (Morgan & Watkinson, 1989).

Entre los estudios reportados, se encuentran el de Anwar et al. (2009), quienes estudiaron el efecto de la adición de extracto de levadura y caldo nutritivo en la degradación de Clorpirifos por una bacteria aislada de la especie *Bacillus pumilus* strain C2A1, además, evaluaron la Glucosa como fuente adicional de carbono. Encontrando una mayor velocidad en la degradación del Clorpirifos en el medio que contenía glucosa como fuente adicional de carbono. Los medios que contenían nutrientes mostraron una capacidad para degradar el Clorpirifos menor que el medio con glucosa, pero mayor que el medio que contenía Clorpirifos como única fuente de carbono y energía.

Xie et al. (2007) evaluaron el efecto de la adición de fertilizantes a base de PK, NK y NPK, además de una enmienda orgánica en la degradación de Cipermetrin, un pesticida piretroide, y encontraron que el tratamiento con NK generó un aumento en la persistencia del pesticida en el suelo, mientras que los demás tratamientos no presentaron diferencia alguna con el control.

Por su parte, Akhtar et al. (2004) estudiaron la persistencia de Clorpirifos y Fenpropatrin en un suelo, adicionados solos o con los fertilizantes sintéticos: Urea, DAP, SOP y fertilizante foliar Polidol, durante dos meses, y encontraron que la adición de fertilizantes no mostró efecto alguno sobre la persistencia de estos compuestos.

Senapati y Padhihari (2002), evaluaron un suelo de Bhubaneswar, india tratado con Urea (46% Nitrógeno), Superfosfato simple (16% P₂O₅) y muriato de potasio (60% de K₂O) como fertilizantes inorgánicos, y con estiércol de corral como enmienda orgánica (además de la adición de limo), para la degradación de Phorate, un insecticida y acaricida organofosforado. Encontrando mayores tasas de degradación de Phorate en el tratamiento con enmienda orgánica, por encima de todos los fertilizantes inorgánicos, los cuales degradaron el insecticida en el orden: fósforo, potasio, nitrógeno. La adición de limo mostró aumento de la degradación de phorus en todos los tratamientos (en comparación con el control).

Rajagopal et al. (1983), encontraron que la adición de amonio a un medio mineral retardó la degradación del pesticida Carbaril por culturas microbianas enriquecidas con micro-flora del suelo. Rajaram et. al (1978), encontraron que la aplicación de nitrato de potasio o sulfato de amonio a un suelo inundado e inoculado con culturas enriquecidas capaces de hidrolizar Paratión, inhibieron la hidrólisis del insecticida. Agnihotri (1978) comentó que la degradación de Disulfon y Forato en suelo fue ligeramente menor que con la adición de fertilizante. Sin embargo, en condiciones *in situ* la degradación fue mucho mayor con la adición de fertilizantes, pero esto fue atribuido al efecto que el fertilizante tuvo sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas que potenció la degradación. Por último, Siddaramappa & Seiber (1979), evidenciaron que la aplicación de sulfato de amonio y urea tuvo muy poca influencia en la degradación de Carbofuran en un suelo de arroz en Filipinas.

Castañeda (2005), evaluó la adición de Nitrógeno a diferentes dosis (6, 24 y 32 ppm) en la degradación de Clorpirifos en un suelo agrícola, y encontró que a dosis de nitrógeno de 6 ppm no se observó efecto alguno en la degradación de este compuesto, pero a una concentración de 24 ppm o superior, se evidenció un aumento notorio en la velocidad de degradación del Clorpirifos.

Perrin et al. (2001), evaluaron el efecto del uso de lodo generado a partir de un proceso de tratamiento de aguas residuales como enmienda orgánica y de un fertilizante inorgánico a base de nitrógeno y fosfato en la degradación del herbicida Isoproturon, obteniendo mejores porcentajes de degradación con el tratamiento a base de nitrógeno y fósforo que con el tratamiento basado en el lodo.

3.5.5 Efecto de la humedad del suelo en la biorremediación

El agua es importante para el desarrollo y crecimiento de los microorganismos, el agua forma parte del protoplasma bacteriano y sirve como medio de transporte de compuestos orgánicos, nutrientes y oxígeno a la célula. Es conveniente mantener una humedad del orden del 70 % de la capacidad de campo¹, Un exceso de humedad produce inhibición del proceso al reducir la concentración de oxígeno, o incluso generarse condiciones anaeróbicas. Por su parte, un déficit de humedad impide el desarrollo de los microorganismos (Vidali, 2001; Ercolí, et al., 2001; Maroto & Rogel, 2000).

¹ Masa de agua que admite el suelo hasta la saturación, depende de cada tipo de suelo.

Schroll et al. (2006), cuantificaron el efecto de la humedad del suelo en la mineralización de pesticidas y encontraron que: **1)** en suelos con un potencial de agua ≤ -20 MPa, ocurrió una mínima mineralización del pesticida; **2)** existe una correlación lineal entre el incremento de la humedad del suelo, y el incremento relativo de la mineralización del pesticida; **3)** La óptima mineralización del pesticida se obtuvo en un suelo con un potencial de agua de -0.015 MPa, y **4)** cuando la humedad del suelo se aproximó a la capacidad de campo, la mineralización del pesticida fue considerablemente reducida.

Debido a que, tanto los pesticidas como los suelos elegidos variaron en un amplio rango, los autores proponen que la relación observada en este estudio puede también ser válida para la degradación aeróbica de otros compuestos orgánicos en suelos nativos y artificiales.

3.6 BIORREMEDIACIÓN CON COMPOST

La tecnología de Biorremediación con Compostaje se fundamenta en la estimulación de la actividad biodegradadora de las poblaciones microbianas presentes en un suelo contaminado, mediante la adición de compost, según las características y requerimientos de cada suelo contaminado a tratar y enriquecido con poblaciones microbianas degradadoras de los contaminantes presentes en dicho suelo (Singer & Crohn, 2002; EPA, 1998; INKOA SISTEMAS S.L., S.F.).

Los suelos contaminados suelen tener una actividad microbiana baja, básicamente debido a condiciones ambientales desfavorables, tales como una baja concentración de materia orgánica, oxígeno, nitrógeno y/o fósforo, etc (Mora, 2006). Así, la adición de compost, durante el proceso de tratamiento in-situ de los suelos contaminados, con poblaciones microbianas biodegradadoras y con un alto porcentaje de materia orgánica biodegradable, provocará un aumento de la capacidad biorremediadora intrínseca de cada suelo contaminado, acelerando así el proceso de recuperación del emplazamiento (EPA, 1998; INKOA SISTEMAS S.L., S.F.).

Otras tecnologías de remediación están basadas en la inoculación de microorganismos exógenos, siendo extremadamente dificultosa la adaptabilidad de estos microorganismos a un medio tan hostil como es un suelo contaminado. Además, estos microorganismos exógenos deben competir por los escasos recursos con los microorganismos autóctonos, perfectamente

adaptados a las condiciones ambientales de un suelo contaminado (INKOA SISTEMAS S.L., S.F.; Sánchez & Rodríguez, 2004).

Además de reducir los niveles de contaminación, el compost adelanta la tarea de mejoramiento de las condiciones del suelo para el crecimiento y fortalecimiento vegetal. En este rol, el compost provee acondicionamiento del suelo, y también provee nutrientes a una amplia variedad de vegetación (EPA, 1998; BIOAGRO, S.F.).

Según EPA (1998), en un estudio, en el cual se remedió un suelo que contenía 3000 partes por millón (ppm) de herbicida *dicamba* a niveles no detectables en 50 días mezclando chips de madera y compost maduro en el suelo en una relación compost:suelo contaminado (10:90). De acuerdo con los autores, el *dicamba* se degrada eventualmente en el suelo, pero el proceso lleva años en vez de días.

Otras ventajas del uso de compost, en comparación con otros procesos de biorremediación son (Singer & Crohn, 2002):

- Consigue niveles finales de descontaminación más altos, debido a la presencia de un inóculo bioaumentado de microorganismos degradadores en el compost, acelerando, así, el proceso de remediación.
- El tratamiento tiene una duración menor, comparado con otros procesos de remediación.
- Es una tecnología versátil, puesto que se desarrolla “a medida”, según los requerimientos específicos de cada contaminante.
- Necesita menores requerimientos de manipulación y mantenimiento, lo que reduce los costos de tratamiento.

3.7 ORIGEN DEL SUELO DE MORAVIA

Moravia es un barrio ubicado en la Comuna 4, al nororiente de la ciudad entre las estaciones del Metro: Universidad y Caribe. Es una de las zonas con procesos de ocupación espontánea más arraigados desde los años 60, influenciados principalmente por la presencia de la Estación del Ferrocarril: El Bosque, y la extracción de materiales del río Medellín. Cuenta con una superficie de 43.7 hectáreas y está conformado por los sectores de El Bosque, Moravia, El Morro, El Oasis Tropical y La Herradura (G4moravia, 2007; Alcaldía de Medellín, 2006).

En 1976 el alcalde de la época, debió resolver el problema del depósito de basuras de la ciudad y dado que en este lote había un gran hueco dejado por la extracción de material de playa que allí tenía lugar de tiempo atrás, decidió disponerlas allí con carácter provisional (El Mundo, 2006). Moravia entonces, se convirtió en el depósito de basuras de Medellín y de sus municipios vecinos. Y fue muy reconocido en la ciudad por tres cosas: desechos, recicladores y por ser cuna de uno de los botaderos de cadáveres más tradicionales de Medellín (Medina, 2006).

Este uso del suelo motivó a la invasión del predio aledaño por parte de familias sin hogar de muy bajos ingresos, quienes vieron allí la oportunidad para resolver su problema de vivienda. Hoy en día Moravia es un barrio de invasión habitado por gran cantidad de gente que tiene sus casas construidas sobre una montaña de cenizas, desechos industriales, y acumulación de metano (Medina, 2006).

En la fase inicial de operación de este vertedero, se depositaban unas cien toneladas diarias de basura, cantidad que con el tiempo fue aumentando (AMVA, 2006); dando como resultado para 1983 la producción de una montaña de basuras con un área de 10 hectáreas. Hoy en día, aún se presenta generación de lixiviados como producto de las aguas que se infiltran en el terreno, arrastrando los componentes químicos y tóxicos que se producen con la descomposición de la materia orgánica, que aunque es normal que se presenten, en el caso de El Morro son altamente contaminantes porque allí también se depositaban residuos peligrosos, que poseen metales pesados como el plomo (Agencia de Noticias UN, 2008; El Mundo, 2006; AMVA, 2000).

Esta área ha sido catalogada como: “de riesgo no recuperable” y por tal motivo se ha establecido su desalojo a través de un plan de reubicación de los asentamientos humanos en los sectores con mayor potencial para la generación de efectos adversos a la salud (Oasis y El Morro), estas zonas quedaron a cargo del Área Metropolitana del Valle de Aburrá, como autoridad ambiental competente, para su manejo y cuidado de forma tal que se evite una nueva ocupación (AMVA, 2007).

3.8 EFECTO CRUZADO Ó DEGRADACIÓN CRUZADA

La habilidad de algunos microorganismos del suelo para metabolizar estructuras químicas relativamente similares, de compuestos introducidos al

suelo ha sido reconocida y referenciada como adaptación cruzada o degradación cruzada (Kearney & Kellogg, 1985).

Hoy en día hay varias evidencias que la adaptación cruzada no es solo un fenómeno presentado en condiciones idealizadas de laboratorio, o algo exclusivo para los herbicidas más biodegradables en ciertas condiciones de suelo, sino que puede ser un problema agronómico con unas dimensiones poco conocidas (Kearney & Kellogg, 1985).

En ciertas regiones geográficas se ha evidenciado que diferentes pesticidas aplicados a un mismo suelo, han fallando en su función de controlar las plagas objetivo. Los suelos en los que ocurre este fenómeno, han sido llamados suelos problema, y entre los parámetros responsables de esta característica se encuentran principalmente involucradas las poblaciones microbianas extremadamente eficientes para degradar estos pesticidas.

Las variables que hacen que se produzcan estos problemas en el suelo incluyen:

- El uso repetido del mismo pesticida periódicamente sobre el mismo suelo.
- Las similitudes químicas de los pesticidas usados sobre el mismo cultivo.

Se ha sugerido que la similitud entre estructuras químicas de diferentes pesticidas, puede inducir a la producción de enzimas capaces de degradar estos compuestos químicos, adicionados simultáneamente o subsecuentemente al mismo suelo (Kearney & Kellogg, 1985).

Por su parte en un estudio realizado por Karpouzas et al. (2005), se lograron aislar dos bacterias capaces de degradar el nematicida Cadusafos de un suelo tratado con este producto para el control de plagas durante varios años. Además de lograr obtener una alta eficiencia de degradación del nematicida con estas bacterias, también se encontró que éstas podían degradar Etoprofos, otro nematicida con una estructura química similar a la del Cadusafos.

Los enlaces de pesticidas, que parecen ser susceptibles a la degradación cruzada en los “suelos problema” incluyen: Carbamato (—N—CO—O), Urea (N—CO—N), amida (N—CO—C), ester (COO—C), tiocarbamato (N—CO—S), y ditiocarbamato (N—CS—S). Singh et al. (2005), agrega como pesticidas susceptibles las dicarboxiamidas y los isotiocianatos.

Una vez establecida la degradación acelerada, los microorganismos involucrados en este proceso pueden mantener esta capacidad por más de un año (Singh et al., 2005; Karpouzas et al., 2005).

La degradación cruzada ha llevado a investigar sobre prácticas agronómicas, o inhibidores necesarios, para proteger el potencialmente gran número de pesticidas de futuras pérdidas de efectividad.

3.9 MÉTODOS PARA LA EXTRACCIÓN DE PESTICIDAS

La extracción de los pesticidas hace parte del método de evaluación analítica de los mismos y es un procedimiento complicado cuando se trabaja con matrices complejas como el suelo (Babic et al., 1998). La finalidad de toda técnica de extracción es permitir la transferencia cuantitativa de los pesticidas que se encuentran en una muestra de suelo a una fase líquida (Tor et al., 2006); utilizándose comúnmente como fase líquida los solventes orgánicos; lo cual va seguido, por lo general, de procedimientos para la limpieza y remoción de interferencias (p. e. filtración o decantación) según el método de análisis empleado (Nollet y Signh, 2009).

Según Tor et al. (2006), los métodos de extracción con solventes orgánicos más utilizados son: extracción con agitación (Kleiböhmer, 2001), Soxhlet, Sonicación (Kleiböhmer, 2001), extracción asistida por microondas (MAE, por sus siglas en inglés) (Kramer y Ryan, 2000; Onuska y Terry, 1993), extracción con fluidos supercríticos (SFE por sus siglas en inglés) (Gonçalves et al., 2006; Reverchon y De Marco, 2006) y extracción con líquidos presurizados (PLE, por sus siglas en inglés) (Antunes et al., 2008; Hussien et al., 2006). Siendo las tres primeras, las técnicas más usadas (Babic et al., 1998) por su simplicidad, eficacia, amplio uso y aprobación por organizaciones como la U.S. EPA (United States Environmental Protection Agency) (Saleh y Sanagi, 2009; Sanghi y Kannamkumarath, 2004).

3.9.1 Extracción con agitación

En esta técnica de extracción, las muestras sólidas (ej.: suelo, sedimentos, etc.) son dispuestas en un frasco junto con el solvente que atraparé el analito, el sistema completo es agitado usando un agitador mecánico por un periodo definido de tiempo, usualmente alrededor de una hora. Se pueden realizar repetidas extracciones para remover cuantitativamente el analito desde la muestra, y luego se combinan los extractos antes del análisis. Como la muestra está en contacto con el sólido, la muestra puede requerir de procesos como la filtración para deshacerse del material particulado (Kleiböhmer, 2001).

3.9.2 Extracción por sistema Soxhlet

La extracción con Soxhlet se fundamenta en la ebullición del solvente extractor, que se condensa a reflujo y cae sobre un recipiente que contiene la muestra en su interior, quedando en contacto con ésta hasta que se alcanza el tiempo de retención (T_r) del recipiente y vuelve a caer el solvente (con el material retenido) al balón, este proceso se repite la cantidad de veces necesaria para que la muestra quede agotada del analito, el cual se va concentrando en el balón del solvente (Nollet y Signh, 2009).

De acuerdo con Nuñez (2008), en esta técnica los principales factores a tener en cuenta son: **1) La cantidad de solvente a utilizar**, la cual debe ser la necesaria para que no quede seco el balón inferior porque de esa manera, se seca la muestra y se quema ó se puede producir una explosión de los vapores cuando caiga el líquido rebosado sobre el vidrio recalentado. **2) La selección del solvente**, hay una temperatura máxima y mínima de ebullición en la que el equipo funciona adecuadamente. En el extremo inferior se encuentran los 40° C (muy cercano a la temperatura ambiente particularmente en los climas cálidos). Con respecto al extremo superior debe tenerse en cuenta que a medida que aumenta el punto de ebullición del solvente disminuye significativamente el caudal que se evapora y por ende la velocidad de extracción. **3) Tipo de solvente**, los de carácter no polar suelen tener alguna dificultad en drenar puesto que no mojan el vidrio. Ello es frecuente con los derivados clorados como el diclorometano y el cloroformo y los hidrocarburos superiores al hexano.

Según Nollet y Signh (2009) la extracción con sistema Soxhlet es una técnica simple y económica, en la que a menudo se obtienen buenas recuperaciones. Pero sin embargo se presenta la degradación térmica del analito y adicionalmente el tiempo de la técnica y la cantidad de solvente orgánico empleada para la recuperación son altos.

3.9.3 Extracción con Ultrasonido

Las extracciones con ultrasonido se realizan con el sometimiento de la muestra y el solvente en un baño de ultrasonido, o por medio de la inserción de una sonda sónica dentro del sistema solvente-muestra (Kleiböhmer, 2001).

La energía ultrasónica impartida a las soluciones causa cavitación acústica, la cual consiste en la formación de burbujas y su subsecuente implosión. El colapso de las burbujas creado por la sonicación de soluciones, genera

temperaturas locales extremadamente altas y gradientes de presión, lo que potencia el contacto entre el solvente y el analito contenido en la matriz sólida. Posteriormente el analito solubilizado puede ser medido por técnicas instrumentales (Ashley et al., 2001).

Babic et al., (1998) afirman que la extracción por ultrasonido provee un mayor contacto entre la matriz sólida y el solvente orgánico que el logrado por el método de extracción con agitación, lo que usualmente resulta en una mayor recuperación del analito.

3.9.4 Extracción de malatión

Según la ASTDR (2003), la extracción del malatión presente en muestras de suelos y sedimentos se ha realizado principalmente por medio del sistema Soxhlet, ya que es la técnica de extracción estándar usada en la mayoría de los métodos de la EPA. A continuación se presentan algunos estudios realizados a matrices sólidas contaminadas con Malatión.

Saenz et al (1995), cuantificaron la cantidad residual de los pesticidas malatión, diclofuanid y fenitrotion en manzana, por medio del uso del sistema de extracción Soxhlet, utilizando 100 mL de Acetato de Etilo como solvente, con un tiempo de extracción de 90 minutos; con lo cual se obtuvo porcentajes de recuperación cercanos al 100% para los tres pesticidas.

Bavcon et al. (2003) Utilizó un método de extracción consistente en alícuotas de 10 g de suelo al cual se le adicionó tres porciones de acetato de etilo (15 mL la primera porción y dos porciones de 10 mL cada una). La fase orgánica fue colectada, evaporada y el residuo resuspendido en 1 mL de acetato de etilo para su posterior análisis.

Mosquera (2007) obtuvo porcentajes de recuperación promedios de 89.4% para un suelo agrícola contaminado con Malatión utilizando como técnica de extracción agitación mecánica rotativa durante 4 horas, y acetato de etilo como solvente extractor.

Hernández et al. (2009) realizó la extracción de malatión de un suelo mediterráneo por medio de la implementación del método MAE. Para lo cual utilizó 5 g de suelo a los que adicionó 25 mL de acetato de etilo en un tubo PTFE cerrado, luego el sistema fue sometido a agitación en vortex. La mezcla fue extraída en un horno microondas (Mars Xpress) con un calentamiento de 10 a 132 C, y luego se mantuvo por 5 minutos. Posteriormente, la muestra fue centrifugada a 3000 rpm y 15 C por 15 minutos y la fase orgánica fue

concentrada hasta sequedad en un rota-evaporador (Laborota 4000, Heidolph) a 40 C. El residuo seco fue resuspendido en 1 mL de acetato de etilo y posteriormente fue analizado. Con el proceso descrito se obtuvo una recuperación de 94%.

3.9.5 Extracción de clorpirifos

La extracción por Soxhlet es comúnmente empleado para evaluar residuos de Clorpirifos en suelos y sedimentos (Fenske et al. 1990; Lewis et al. 1994 citados por ATSDR, 1997). La extracción con fluidos super-críticos (SFE) ha mostrado buenos resultados para la recuperación de Clorpirifos de matrices sólidas (ATSDR, 1997).

Chu (2008) realizó la cuantificación de Clorpirifos en una muestra de suelo de 25 g depositandola en un erlenmeyer de 250 mL, posteriormente se adicionó 100 mL de acetona:éter de petróleo (1:1, V:V) y se agitó a 150 rpm por 2 horas en un agitador mecánico. La mezcla fue decantada, y filtrada a través de un embudo buchner, el retenido fue lavado tres veces con 20 mL de la mezcla acetona:éter de petróleo (1:1, V:V). El filtrado fue recolectado en un embudo de separación de 250 mL, conteniendo 50 mL de sulfato de sodio al 3%, y extraído tres veces con 50, 40 y 40 mL de Éter de petróleo. La fase orgánica fue recogida en un matraz de fondo plano y fue concentrado en un rotaevaporador hasta quedar casi seca. Luego fue resuspendida en éter de petróleo hasta un volumen final de 10 mL, y posteriormente analizado.

Lopera et al. (2005) extrajo el clorpirifos de muestras de suelo agregando 35 mL de una mezcla hexano:acetona en una relación 1:1, y aplicando agitación mecánica a temperatura ambiente durante 12 horas a 240 rpm. Luego por decantación en probeta se separó la fase orgánica, se midió su volumen y se tomaron 250 μ L de fase orgánica para su análisis. Con este procedimiento se lograron extracciones del 73.42% en los controles y 82.38% en los ensayos de degradación.

Castañeda (2005) evaluó diferentes soluciones extractoras para la recuperación del clorpirifos de un suelo agrícola tales como: acetronitrilo, acetronilito:agua, acetona, acetronitrilo:acetona, metanol, metanol:acetato de etilo, acetato de etilo:acetona y acetato de etilo. Con todos los solventes se aplicó agitación rotativa usando diferentes volúmenes de solvente (10, 20, 30, 40 mL), tiempo de agitación (1, 2, 3, 4, 6 y 8 h), velocidad de agitación (200, 250, 300 y 360 rpm) y número de extracciones (1, 2 o 3). Obteniendose los mejores porcentajes de

recuperación (100) utilizando 30 mL de acetato de etilo como solución extractora y aplicando agitación rotativa a una velocidad de 360 rpm por 4 h, luego se rotaevapora el solvente a 30 C hasta un volumen final de 100 μ L y se resuspendió en 7 mL de Acetonitrilo:Agua acidulada para su cuantificación.

Karnchanasest et al. (2007) utilizó una mezcla de hexano:acetone en una proporción 8:2. 2 g de muestra fueron mezclados con 40 mL de solvente y 5 mL de Triton x -100 al 15%. Las mezclas fueron agitadas a 250 rpm por 4 horas. Después de la agitación los frascos fueron congelados a -4 C para solidificar la pequeña capa de agua y luego el solvente fue transferido a un vial donde se adicionó de 2-3 g de Na_2SO_4 para deshidratar por completo la muestra. El clorpirifos disuelto en la fracción de solvente fue concentrado usando una corriente de nitrógeno al 99.5% y posteriormente cuantificado.

3.9.6 Extracción de metil paratión

Según la ASTDR (2001) la extracción y limpieza de muestras contaminadas con metil paratión depende ampliamente de la matriz y el método de detección.

De acuerdo con World Health Organization (1993) el metil paratión es extraído del suelo con acetona, acetona:n-hexano o hexano/isopropanol. Luego se realiza su partición en diclorometano en un segundo paso, posteriormente puede o no realizarse limpieza de la muestra, utilizando para tal fin silica gel. Lográndose así recuperaciones de metil paratión entre 70-85%.

Wang et al. (2008) evaluó un Nuevo método para la extracción de pesticidas utilizando acetona. La extracción y la partición fueron combinadas en un solo paso saturando el solvente extractor con NaCl y simultáneamente retirando el agua con diclorometano. La fase orgánica, es posteriormente secada con Na_2SO_4 y evaporada para su posterior análisis.

3.9.7 Extracción multiresiduos

El gran incremento en el número de pesticidas que presentes en el ambiente requiere del desarrollo de métodos analíticos que permitan la determinación simultánea de diferentes pesticidas con un mínimo número de etapas para la extracción y limpieza de las muestras (Babic et al., 1998). Por tal razón, varios autores han desarrollado en los últimos años métodos flexibles para la determinación analítica de estos compuestos en diferentes muestras de suelo, a continuación se presentan algunos de estos métodos.

Blasco et al. (2005), determine niveles traza de pesticidas (benzimidazoles y azoles, organofosforados, carbamatos, neonicotinoides y acaricidas) en frutas.

La extracción de las muestras se realizó por medio de la técnica PLE, a una temperatura de 75 °C y una presión de 1500 psi, usando acetato de etilo como solvente extractor y alúmina acida como agente secante. Obteniendo un rango de recuperación de los pesticidas entre 58% a 97% y de desviación estándar relativa de 5% a 19%.

Gonçalves et al. (2005) desarrollaron una metodología para el análisis de 44 analitos (pesticidas y algunos metabolitos de degradación) en muestras de suelos, la extracción se basó en agitación por ultrasonido (USE) en tres periodos de 15 minutos cada uno (en total 45 minutos). Para esto, se tomó una muestra de suelo de 5 g, y se adicionó 5 mL de solvente orgánico en cada periodo de agitación (15 mL en total). Se evaluaron los solventes: n-hexano, acetato de etilo, acetonitrilo y diclorometano con el fin de optimizar el proceso de extracción, obteniéndose los mejores resultados con el acetato de etilo. Los pesticidas evaluados pertenecían a diferentes grupos (insecticidas organoclorados, organofosforados, y piretroides; herbicidas trianzina y acetanilida y otros pesticidas misceláneos). Los porcentajes de recuperación fueron buenos (69-118%, 88% en promedio) para la gran mayoría de los analitos. La evaluación de los pesticidas fue realizada a tres profundidades y en diferentes tipos de suelos con el fin de estudiar la influencia de las características del suelo y su comportamiento través del tiempo.

3.10 MÉTODOS DE ANÁLISIS DE PESTICIDAS

Los métodos de análisis de pesticidas deben suministrar resultados que sean efectivos en costos, en tiempo, confiables y verificables. Según con la subdivisión O de la EPA, "Pesticide Assessment Guidelines", los métodos aprobados para el análisis de pesticidas deben: 1) tardar como máximo 24 horas, 2) Utilizar equipos y reactivos de fácil disponibilidad. 3) Identificar residuos en presencia de otros residuos, y 4) detectar los residuos a los niveles de tolerancia establecidos o por debajo de éstos. Además deben ser inalterables por variaciones ambientales como humedad, temperatura, y pureza del solvente (U.S. Congress, 1988).

Según Nollet y signh (2009) para la medición de pesticidas organofosforados pueden utilizarse diferentes técnicas de análisis, dentro de las cuales se encuentran: Bioensayos, Ensayos con enzimas, Inmunoensayos, radio ensayos, Cromatografía en capa fina (TLC, por sus siglas en inglés), Cromatografía de Columna, y Electroforesis capilar (CE, por sus siglas en inglés). Sin embargo la metodología más utilizada es la cromatografía de gases (CG), debido a su

disponibilidad y reproducibilidad, su amplio rango de detectores sensibles y lineales y la compatibilidad con los espectrofotómetros de masas (Ludwig, 1994). Sin embargo, para varios compuestos que no pueden ser analizados por esta técnica como compuestos muy polares que no son fácilmente vaporizables, con puntos de ebullición por encima de los 200°C y que son lábiles térmicamente; la cromatografía líquida (CL) con detectores como: ultravioleta (UV), de fotodiodos (PAD), de fluorescencia (FD) y Espectrometría de masas (MS) ha sido una opción muy utilizada (Ramírez, 2009).

3.10.1 Cromatografía

La cromatografía es un término colectivo para separación de mezclas basado en la partición de las sustancias entre dos fases heterogeneas inmiscibles, una de las cuales es estacionaria o fija, con una gran área superficial; y la otra una fase móvil, la cual fluye sobre la fase estacionaria (Ramírez, 2009; Nollet, 2009).

3.10.1.1 Cromatografía de gases

En la cromatografía gaseosa la fase estacionaria puede ser tanto sólida (como en cromatografía de adsorción) como líquida (como en cromatografía de partición). La fase móvil puede ser un gas, líquido, vapor o solido volátil (Gutiérrez y Droguett, 2002). Hay dos principios de separación basados en la naturaleza de la fase estacionaria: **1) Cromatografía Gas-sólido** (GSC, por sus siglas en inglés), en la cual la fase móvil es un gas y la estacionaria es un sólido activo como la alúmina, silica gel, entre otros. **2) Cromatografía Gas-líquido** (GLC, por sus siglas en inglés) en la cual la fase móvil es un gas y la fase estacionaria es un liquido distribuido en un soporte solido inerte. La GLC es usada para la separación de una variedad de compuestos, generalmente orgánicos, mientras que GSC es usada para la separación de gases (Brewer, 1973).

El principio de operación se basa en la introducción de pequeñas cantidades de una muestra (gaseosa o líquida) conteniendo nanogramos de compuestos (gaseosos o vaporizables) de interés analítico, los cuales son transportados por un gas inerte entre una columna (que contiene la fase estacionaria) bajo condiciones controladas de temperatura. Los componentes son separados entre distintas bandas (o zonas) de moléculas, debido a diferencias en la absorción, solubilidad y enlace químico de sus moléculas (Gutiérrez y Droguett, 2009; Ramírez, 2009). Estas fracciones se mueven a través de la columna a diferentes velocidades y emergen como compuestos separados. El gas portador emerge

de la columna y pasa a través de un detector, el cual produce una señal proporcional a la cantidad de cada compuesto arrastrado. La respuesta del detector es amplificada y mostrada en un reproductor como un pico. El cromatograma obtenido es una gráfica del tiempo vs la intensidad de una serie de picos, que representan los compuestos eluidos en la corriente portadora (Brewer, 1973).

La cantidad de tiempo requerida para que cada pico aparezca en el gráfico es el tiempo de retención (T_r), y es característico de cada una de las sustancias presentes para las condiciones cromatograficas establecidas. El tiempo de retención, por lo tanto, identifica la sustancia, y el área del pico es una medida cuantitativa, la cual es proporcional a la cantidad de cada compuesto presente. Una apropiada selección del puerto de inyección, columna y temperatura del detector determina la efectividad de las separaciones cromatograficas de los compuestos en cada tipo de muestra (Brewer, 1973).

La cromatografía gaseosa se ha convertido en la técnica analítica más popular debido a su simplicidad de operación, alto poder de separación y velocidad. La gran variedad de columnas empacadas, detectores y controles de temperatura permite su gran diversidad de aplicaciones, las cuales incluyen: análisis medioambientales, químicos, procesos petroquímicos y alimentarios, así como aplicaciones en la industria farmacéutica (Nollet, 2009; Gutiérrez y Droguett, 2002; Ludwig, 1994).

3.10.1.1.1 Detectores acoplables a cromatografía de gases

Los detectores deben medir continuamente, rápidamente y con gran sensibilidad los componentes, los cuales aparecen en el gas portador mientras este emerge de la columna, por medio de cambios en una propiedad física o química de la corriente de gas efluente. La correspondiente respuesta eléctrica es amplificada y alimenta el reproductor (Brewer, 1973).

Un buen detector es altamente sensible (sensibilidad), tiene una respuesta lineal (linealidad) sobre un amplio rango de concentración y es relativamente insensible a variaciones de flujo y temperatura (rango dinámico lineal) (Olguín y Rodríguez, 2004).

Los detectores más utilizados para la detección de pesticidas organofosforados son: el detector fotométrico de llama (FPD), el detector de captura de electrones (ECD) y el detector de Nitrogeno/Fósforo (NPD) (Ramírez, 2009; Olguín y Rodríguez, 2004).

- **Detector fotométrico de llama (FPD)**

De acuerdo con y Olguín y Rodríguez (2004), el detector fotométrico de llama consiste en una llama reductora que produce especies quimioluminiscentes, las cuales emiten una luz característica que es óptimamente filtrada por la longitud de onda deseada que determina los componentes detectados en el fotodetector.

- **Detector Nitrogeno/Fósforo (NPD)**

El corazón del detector NPD es una perla de cerámica recubierta por una sal de un material fácilmente ionizable, generalmente rubidio. El calor crea una plasma superficial sobre la perla. Los compuestos de nitrógeno y o fósforo se ionizan y originan una corriente entre los polos cargados del dispositivo. Ambos detectores poseen una gran selectividad para las moléculas que contienen fósforo y/o nitrógeno. Los analitos más usuales que se estudian con estos detectores son los plaguicidas fosforados, aunque algunos disolventes de uso industrial muy frecuentes también se estudian con este sistema (Cardona y Giraldo, 2008).

- **Detector de Captura de Electrones (ECD)**

Este detector utiliza una cámara de iones conteniendo un gas (generalmente Ar o N₂) y electrones libres (partículas β) generados por una fuente radioactiva (⁶³Ni), con un potencial aplicado lo suficientemente grande para coleccionar por completo los electrones libres. Las moléculas de la muestra (las cuales tienen una afinidad por los electrones libres) capturan los electrones libres y se convierten en iones negativos, por lo que la corriente de electrones decrece, siendo esta la base de la respuesta transmitida al sistema de datos del equipo (Olguín y Rodríguez, 2004; Brewer, 1973).

Es altamente sensible a compuestos halogenados, nitrogenados y fosforados; por lo tanto es muy útil en la detección de pesticidas. Da un poco de respuesta a hidrocarburos y otros carbonilos conjugados (Olguín y Rodríguez, 2004).

Esta técnica ha sido utilizada para cuantificar residuos de pesticidas organofosforados como el Malatión (ASTDR, 2003), Metil paratión (ASTDR, 2001) y Clorpirifos (ASTDR, 1997) o para determinar varios pesticidas organoclorados (Abhilash y Singh, 2008; Sun et al., 2007; Zhang et al., 2005) y organofosforados (Mohd, 2010; Murcia, 2008; Gonçalves et al., 2005).

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto del compost inmaduro, suelo de un antiguo basurero y fuentes de nutrientes sobre la capacidad de degradación cruzada de tres plaguicidas organofosforados Clorpirifos, Metil Paratión y Malatión.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar física y químicamente las matrices recolectadas.
- Establecer el método para la extracción y la cuantificación de los pesticidas.
- Evaluar el efecto de las mezclas Compost:Suelo sobre la cinética de degradación de los plaguicidas.
- Evaluar el efecto del enriquecimiento con fósforo sobre la cinética de degradación de los plaguicidas.
- Evaluar el efecto de la adición de fertilizante sobre la cinética de degradación de los plaguicidas.
- Evaluar el efecto cruzado en los diferentes ensayos realizados.

5 METODOLOGÍA

5.1 SELECCIÓN DE LAS MATRICES UTILIZADAS EN LOS ENSAYOS

En este ensayo se evaluó la capacidad de la microflora presente en un suelo y en compost inmaduro para degradar los plaguicidas Clorpirifos, Metil Paratión y Malatión.

5.1.1 Suelo de Moravia

Se seleccionó un suelo proveniente de un antiguo botadero de residuos sólidos a cielo abierto (Moravia), el cual, debido a su alto grado de contaminación, es factible que presente potencialidades de degradación de compuestos químicos, ya que en él se depositaron gran variedad de residuos, incluyendo desperdicios de industrias farmacéuticas presentes para el momento de su funcionamiento.

5.1.1.1 Sitio de Muestreo

Moravia es un barrio de invasión perteneciente al área metropolitana del Valle de Aburrá, este barrio se encuentra ubicado en la comuna 4 (Comuna nororiental) de Medellín, limita al norte con la Quebrada el Tetero y el barrio Palermo, al sur con la Quebrada el Molino, la calle 77 y el Parque Norte, al oriente con la carrera 52 (Carabobo) empalmado con la carrera 53 (Cundinamarca) y los barrios Miranda y Bermejál; y al occidente limita con la carrera 62 (sistema vial del río Medellín) y la terminal de transportes del Norte. Moravia se encuentra conformado por ocho sectores: Fidel Castro, El Bosque, Moravia, La Playa, Milán, El Morro ó Montana de basura, Los Llanos y El Oasis.

El sitio de muestreo fue en el sector el Morro, este lugar fue donde se depositaron directamente los residuos sólidos durante la época en la que operaba el botadero a cielo abierto (1970-1984).

5.1.1.2 Recolección de la muestra

La recolección se realizó sobre un terreno abierto que no ha sido construido. Se tomaron muestras de 5 puntos, escogidos de manera aleatoria dentro del terreno.

Las muestras fueron tomadas del primer horizonte del suelo (primeros 10 cm de profundidad) (Figura 1B), utilizando instrumentación estéril. Se recolectó alrededor de 5 Kg de muestra. El material colectado fue depositado en bolsas

estériles y posteriormente fue guardado en una nevera portátil para su transporte hasta el laboratorio. Una vez en el laboratorio, el suelo fue secado disponiéndolo sobre la superficie de un plástico (sin exposición directa al sol) limpio y seco por 72 horas, y posteriormente fue tamizado usando una malla #30 (2 mm de diámetro) antes de ser utilizado para la caracterización y los ensayos de degradación.

5.1.2 Compost

5.1.2.1 Descripción

Se utilizó un compost inmaduro para los ensayos de degradación con el fin de aprovechar la diversidad microbiana y liberación de enzimas extracelulares producidas durante la etapa inicial del proceso de compostaje según lo descrito por varios autores (Moreno, 2008; Carriello et al., 2007; Zhang et al., 2006).

5.1.2.2 Preparación

El compost inmaduro fue preparado a partir de la molienda de residuos sólidos orgánicos, principalmente residuos de frutas (Papaya, Mango y Banano), los cuales fueron mezclados con aserrín de textura fina en una relación 50:50 (v/v) [El aserrín ha sido evaluado en procesos de compostaje con buenos resultados como agente aglutinante por los autores Banegas et al., (2007)] con el fin de obtener una mezcla homogénea de fácil manejo, que permitiera su tamizado.

El compost fue mantenido en un recipiente plástico a temperatura ambiente por 5 días para su activación (Figura 11B). Luego de este tiempo, se dispuso sobre la superficie de un plástico (sin exposición directa al sol) limpio y seco por 72 horas, y fue volteado diariamente para homogenizar su contenido de humedad hasta que fuera posible su tamizado a través de una malla #30 (2 mm de diámetro). El material tamizado se utilizó para la caracterización y el montaje de los ensayos de degradación.

5.1.3 Mezclas Compost:Suelo

Además del uso de compost inmaduro y el suelo de Moravia como matrices microbianas para estudios de biorremediación, también se realizaron tres mezclas con estas matrices en las proporciones Compost:suelo: 25:75, 50:50 y 75:25, con el fin de obtener diferentes gradientes de actividad microbiana y disponibilidad de nutrientes, y de esta manera comparar sus efectos en la degradación de los pesticidas.

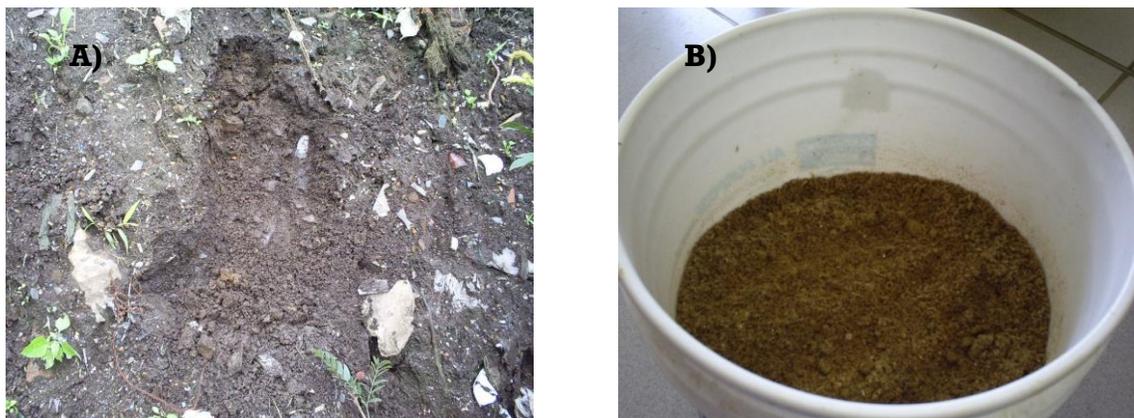


Figura 11. Matrices utilizadas para los ensayos A) Suelo de Moravia y B) Compost inmaduro

5.2 CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LAS MATRICES

- **Determinación de pH.**

Se realizó el método directo de lectura por potenciómetro (Motta, 1990). Para lo cual, se midió el pH en suspensiones suelo:agua y compost:agua en una relación volumétrica 1:1, se agitó durante 5 minutos y se introdujo el electrodo del potenciómetro (previamente calibrado con las soluciones buffer de pH 4,0 y pH 7,0), por último se tomó la lectura del pH directamente sobre la suspensión.

- **Determinación de la Densidad Aparente**

Se depositó dentro de una probeta de 100 mL de capacidad, 50 g de matriz seca y tamizada; posteriormente se midió el volumen alcanzado por la matriz en la probeta, y se determinó la densidad aparente por medio de la fórmula.

Método de cálculo.

$$D = \frac{W}{V}$$

Donde:

W = masa del material expresado en base húmeda, depositado en la probeta, expresado en gramos.

V = volumen ocupado por el material en la probeta, expresado en cm³.

• **Determinación de la Capacidad de Intercambio Cationico (CIC)**

Se pesaron 5 gramos de muestra y se pusieron sobre un montaje Buchner con filtración al vacío, se adicionaron lentamente 75 mL de acetato de amonio 1N pH 7,0 de tal manera que todo el suelo se saturará completamente con la solución; luego se lavó la muestra con 3 porciones de 25 mL de etanol al 95%. Se desechó el filtrado recogido y se lavó el Erlenmeyer. Se ensambló de nuevo el montaje y se lavó el suelo con 3 porciones de 25 mL de NaCl al 10%. Se desconectó el Erlenmeyer y se adicionó al filtrado 10 mL de formaldehído (37 %), unas gotas de Fenolftaleína y se tituló con NaOH 0,1N. Adicionalmente se hizo un blanco con todos los reactivos.

Método de Cálculo

$$C.I.C.(me/100g) = \frac{(ml.NaOHmuestra) - (ml.NaOHblanco) * N * 100}{g.muestra}$$

• **Determinación de la Máxima Capacidad de Retención de Humedad.**

Se pesó una capsula de porcelana perforada en su parte inferior más un papel de filtro húmedo. Posteriormente, se adicionó una cantidad conocida de matriz seca, de manera que no se superara una altura mayor a 1.5 cm a partir de la base de la cápsula, y se determinó la masa del conjunto. Éste fue transferido a una cámara húmeda de manera que la base de la cápsula estuviera en contacto con la lámina de agua contenida en la cámara. Se dejó en contacto durante toda la noche, al día siguiente se retiró el agua de la cámara y se dejó durante otras dos horas el conjunto (cápsula + papel filtro + suelo) para permitir que el agua en exceso drenara. Pasadas las dos horas se determinó el peso de la cápsula con el suelo saturado.

La máxima capacidad de retención de agua (MCRH) se calculó por medio de la ecuación:

$$MCRH = \frac{[(Mcp+Msat) - (Mcp+Mss)]}{[(Mcp+Msat) - Mcp]} * 100$$

Dónde:

Mcp = Masa Cápsula + Papel filtro.

Msat = Masa Cápsula + papel filtro + suelo saturado.

Mss = Masa Cápsula + papel filtro + suelo seco.

• **Porcentaje de Materia Orgánica (% M. O.) y Carbono Orgánico (% C.O.)**

Para la determinación del porcentaje de materia orgánica y carbono orgánico presente en las muestras se utilizó el método de Walkley-Black.

Se pesaron entre 0,2 g y 0,5 g de muestra, y se depositaron en un Erlenmeyer de 250 mL, se adicionaron 10 mL de de Dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) 1.0 N, y 10 mL de ácido sulfúrico concentrado, dejando la mezcla en reposo por 20 minutos.

Pasado dicho tiempo, se agregó 180 mL de agua destilada, se tomó una alícuota de 10 mL de la solución resultante y se centrifugó por 5 minutos. Del sobrenadante obtenido, se tomó una alícuota de 2.5 mL, a la cual se le midió el porcentaje de tramitancia a una longitud de onda de 600 nm.

Nota: paralelamente con la muestra se hizo un blanco con todos los reactivos para la calibración del espectrofotómetro.

Cálculo % M.O.

$$\% \text{ M.O.} = \frac{34.35 - 17.18 * \text{Log } \%T}{\text{Peso Muestra}}$$

Cálculo % C.O.

$$\% \text{ C.O.} = \frac{15.34 - 7.69 * \text{Log } \%T}{\text{Peso Muestra}}$$

Donde:

%T = Porcentaje de tramitancia.

• **Acidez y Aluminio Intercambiable**

Se tomaron 5 gramos de muestra, a los cuales se adicionaron 50 mL de solución 1,0 N de Cloruro de Potasio (KCl), y se agitó la mezcla durante 30 minutos. Pasado este tiempo, se realizó una filtración de la mezcla, y el filtrado se vertió a un Erlenmeyer de 125 mL, se adicionó fenolftaleína y se tituló con una solución 0.01 N de Hidróxido de Sodio hasta evidenciar cambio leve de color. Luego se adicionó 10 mL de solución de Fluoruro de Sodio (NaF) al 2%, y se tituló con Ácido Clorhídrico (HCl) 0.01 N hasta desaparición del color.

Cálculo del % de Ac. Intercambiable

$$\% \text{ Ac. Int.} = 20 * V_{\text{base}} * N_{\text{base}}$$

Donde:

Vbase = Volumen gastado de NaOH

Nbase = Normalidad del NaOH

Cálculo del % Al. Intercambiable

$$\% \text{ Al. Int.} = 20 * V_{\text{ácido}} * N_{\text{ácido}}$$

Donde:

Vácido = Volumen gastado de HCl

Nácido = Normalidad HCl

• **Determinación de Fósforo Total**

La determinación del fósforo total disponible en las matrices se realizó por medio del método Bray II (Motta, 1990), para lo cual, se tomó 1 g de muestra y se adicionó a un tubo tipo falcón de 10 mL de capacidad. Se adicionaron 7 mL de solución extractora Bray II y la mezcla se agitó vigorosamente por 1 minuto. Posteriormente, la mezcla fue sometida a centrifugación a 6000 rpm durante 5 minutos. Se tomaron 0,5 mL del sobrenadante y 2 mL de Reactivo C, se adicionaron a un tubo para espectrofotómetro y se determinó la absorbancia de la solución a una longitud de onda de 882 nm. A partir del valor de absorbancia obtenido se determinó la concentración de fósforo contenida en los 2.5 mL de muestra, por medio de una curva de calibración previamente realizada a partir de una solución patrón de fósforo con una concentración de 50 mg/L.

Nota: paralelamente con la muestra se hizo un blanco con todos los reactivos para la calibración del espectrofotómetro.

Cálculo de la cantidad de fósforo disponible en la muestra (mg/Kg):

$$\text{Fosforo disponible (mg/Kg)} = \frac{C \times 14}{Pm}$$

Donde:

C = Concentración de fosforo hallado en la curva de calibración ($\mu\text{g}/2.5 \text{ mL}$)

14 = Factor de dilución

Pm = Peso de la muestra (g)

5.3 CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS PARA LA CUANTIFICACIÓN DEL CLORPIRIFOS, MALATIÓN Y METIL PARATIÓN.

El proceso de cuantificación de los pesticidas se realizó en las instalaciones del laboratorio del grupo GDCON ubicado en la sede de Investigaciones de la Universidad de Antioquia.

Características del Equipo: Las muestras fueron cuantificadas en un cromatógrafo de gases marca AGILENT TECHNOLOGIES modelo 6850 (Figura 12), acoplado con inyector automático marca AGILENT TECHNOLOGIES modelo 7683B. El equipo procesa los datos con el software ChemStation versión B.03.02-SR2.

Columna: Se utilizó una columna AGILENT 19091Z-413E HP-1 METHYL SILOXANO (30m x 320 μ m x 0.25 μ m nominal).

Detector: detector de microcaptura de electrones (μ -ECD) con temperatura máxima de 300 °C, usando Nitrógeno como gas auxiliar.

Corrido de las muestras: Para el corrido de las muestras se inyectó 2 μ L de muestra en modo splitless, con un flujo de 2 mL/min, usando Helio como gas de arrastre.



Figura 12. Cromatógrafo de Gases empleado para el análisis de las muestras

Programación del horno: Los tres pesticidas fueron separados con la programación de la rampa de calentamiento del horno (con una duración total de 14.50 minutos por corrido), configurada como se explica a continuación: temperatura inicial de 100°C, incrementada en 40°C/min hasta 180°C (mantenida por 2 minutos), luego se incrementó en 10°C/min hasta 230°C (mantenida por 3 minutos) y por último se incrementó en 40°C/min hasta 290°C (mantenida durante 1 minuto).

Curva de Calibración: Se realizaron curvas de calibración del Clorpirifos, Malatión y Metil paratión para cuantificar la concentración de estos compuestos en las matrices. La curva fue realizada bajo las condiciones cromatográficas descritas. Para la realización de la curva, se emplearon cinco soluciones estándar de Clorpirifos, Malatión y Metil Paratión, preparadas en una mezcla Hexano:Acetato de etilo (70:30). Las concentraciones utilizadas para cada pesticida fueron 10, 50, 100, 250 y 500 ppb.

Selectividad del Método: Usando las condiciones cromatográficas descritas, se comparó la respuesta del equipo ante la lectura de: 1) muestra de acetato de etilo grado cromatográfico, 2) extractos de los blancos de suelo de Moravia y compost inmaduro, y 3) solución patrón de los pesticidas empleados: Clorpirifos, Malatión y Metil Paratión (Estándares marca ChemService con 99% de pureza) a concentraciones conocidas.

Límite de Detección (LD) y Límite de cuantificación (LC): La determinación del LD y LC, se realizó teniendo en cuenta la relación señal/ruido, usando Acetato de Etilo para la determinación del ruido de fondo o señal residual. El LD correspondió a la concentración del analito que proporcionó una señal 3 veces superior al ruido del blanco, y el LC correspondió a la concentración que proporcionó una señal 10 veces superior a la ruido del blanco. De esta manera se calculó el LD a partir de la relación reportada por Skoog et al. (1992):

$$\text{Límite de detección} = Y_B + 3 S_B$$

Donde:

Y_B = Señal del blanco.

S_B = Desviación estándar del blanco

5.4 MÉTODO EXTRACTIVO PARA LA RECUPERACIÓN DE CLORPIRIFOS, MALATIÓN Y METIL PARATIÓN DESDE LAS MATRICES.

Para el establecimiento del método de extracción de los pesticidas se utilizaron las metodologías propuestas por Mosquera (2007), Castañeda (2005) y Gonçalves et al. (2005) modificadas.

5.4.1 Preparación de la Solución para la contaminación de las matrices

Se preparó una solución acuosa de concentraciones de 680, 154 y 96 mg L⁻¹ de Clorpirifos, Metil paratión y Malatión, respectivamente; usando formulaciones comerciales para obtener la solución. La concentración de los tres pesticidas fue verificada por el método cromatográfico descrito en el numeral 5.3, antes de llevarse a cabo los ensayos de contaminación.

5.4.2 Preparación de las matrices y condiciones de incubación

Para la determinación de los porcentajes de recuperación se utilizaron matrices esterilizadas con vapor húmedo a 121°C y 15 libras de presión por 20 minutos, con el fin de destruir los microorganismos presentes en las matrices y así evitar procesos microbianos de degradación.

Con el fin de determinar la capacidad de retención de los pesticidas a las matrices durante el periodo de evaluación del ensayo de biodegradación, se contaminaron 10 g de matriz estéril a concentraciones finales de 136, 30 y 20 mg de Clorpirifos, Metil paratión y Malatión, respectivamente; por Kg de matriz. Para lo cual se usó 2 mL de la solución mezcla de pesticidas descrita en el numeral 5.4.1. Los ensayos fueron conservados a 25°C, en condiciones de oscuridad, y en cámara húmeda. El proceso de evaluación tuvo una duración total de 30 días, realizándose extracciones en los días: 0, 7, 15 y 30.

5.4.3 Procesos extractivos

Una vez transcurrido el tiempo de incubación, los plaguicidas fueron extraídos de las matrices; para lo cual, los cultivos se inundaron con acetato de etilo grado cromatográfico hasta sobrepasar la superficie de cada matriz (para el caso del compost y la mezcla 75:25 Compost:suelo, se utilizó 30 mL de Acetato de Etilo, para el resto de las matrices se utilizó 20 mL). Posteriormente, los ensayos se sometieron a agitación horizontal (300 rpm) por 48 horas y luego a ultrasonido (57 Hz de frecuencia) por 60 minutos (Figura 13). Finalmente, las muestras fueron almacenadas a -4 °C hasta el momento de su cuantificación [Karnchanasest et al. (2007) reportan que el congelamiento de la muestra a esta temperatura ayuda a la deshidratación de la muestra].

5.4.4 Cuantificación del porcentaje de extracción

La cuantificación de las muestras fue realizada por CG-ECD, bajo la metodología de cuantificación especificada en el numeral 5.3. El porcentaje de extracción se determinó en cada matriz por medio de la relación:

$$\frac{\text{Cantidad extraída de pesticida}}{\text{Cantidad adicionada de pesticida}} \times 100$$

Fue necesaria la dilución de las muestras previa cuantificación, para ajustar los valores al rango de la curva de calibración preparada.

Los ensayos de extracción para cada matriz (compost, suelo y cada una de las mezclas) fueron realizados por duplicado, para un total de 40 muestras.



Figura 13. Proceso extractivo para la recuperación de los pesticidas

5.5 ENSAYOS DE BIODEGRADACIÓN DE CLORPIRIFOS, MALATIÓN Y METIL PARATIÓN

Con el fin de determinar la capacidad de degradación de los microorganismos presentes en las matrices: suelo Moravia y compost inmaduro, se evaluaron dos tipos de tratamiento:

5.5.1 Evaluación del efecto de mezclas Compost inmaduro/Suelo Moravia

Para evaluar el efecto de las mezclas se tomaron 10 g mezcla Compost/Suelo (100/0, 75/25, 50/50 o 25/75, 0/100) y se depositados en recipientes de 50 mL de capacidad. Los recipientes fueron contaminados con 2 mL de solución de contaminación (ver numeral 5.4.1) para alcanzar concentraciones de 30, 20 y 136 mg/Kg para el Metil Paratión, Malatión y Clorpirifos, respectivamente. [Concentraciones dentro del rango de actividad microbiana recomendado por (Chaudhry et al., 1988)]. La humedad final de las matrices se mantuvo por

debajo de 85% de la capacidad de campo (MCRH) con el fin de evitar la generación de condiciones anaeróbicas [según lo afirmado por Donézar (1995)].

Los cultivos fueron cubiertos con tapones hechos de algodón y gasa para permitir el intercambio gaseoso, y fueron mantenidos bajo condiciones de oscuridad en cámaras húmedas, a una temperatura promedio de $25 \pm 3^\circ\text{C}$. La cantidad remanente de cada pesticida se determinó a los 0, 1, 3, 5, 7, 15 y 30 días de cultivo. Para la cuantificación se usaron los métodos extractivos y cromatográficos descritos en los numerales 5.3 y 5.4.3, respectivamente.

Todos los ensayos fueron realizados por duplicado, para un total de 70 muestras (5 mezclas y 7 tiempos de cuantificación).

5.5.2 Evaluación de la adición de nutrientes en la biodegradación

Con el fin de analizar la influencia de los nutrientes en la degradación biológica de los pesticidas, usando los microorganismos presentes en la mezcla compost/suelo (25/75), se evaluaron dos tipos de tratamientos:

1) Solución de orto-fosfatos: con el fin de obtener una relación Carbono:Fósforo 100:1 [recomendada por Bouchez et al. (1995) para procesos de biorremediación], y teniendo en cuenta los resultados del contenido de fósforo y carbono orgánico obtenidos en la caracterización fisicoquímica de la matriz 25:75 Compost/Suelo, se agregó una solución de Fosfato di-hidrogenado de potasio (KH_2PO_4) con una concentración de 2000 mg/L sobre 10 g de matriz usada para los ensayos, alcanzando una concentración de fósforo de 400 mg/Kg de matriz.

2) Fertilizante comercial: Se agregó fertilizante comercial PLANTOSAN sobre 10 g de la matriz 25/75 Compost/Suelo, en una dosis de 100 g/m^2 según las especificaciones dadas en el producto.

En ambos ensayos, se agregó la cantidad necesaria de cada compuesto a alícuotas separadas de la solución de pesticidas descrita en el numeral 5.4.1, de manera que se alcanzarán las concentraciones de aplicación mencionadas.

Los cultivos fueron cubiertos con tapones hechos de algodón y gasa, mantenidos bajo condiciones de oscuridad en cámaras húmedas, a una temperatura promedio de $25 \pm 3^\circ\text{C}$.

La cantidad remanente de cada pesticida se evaluó a los 0, 1, 3, 5, 7, 15 y 30 días en ambos ensayos, por el método cromatográfico establecido.

Ambos tratamientos (con fósforo y con fertilizante) fueron realizados por duplicado, para un total de 14 muestras por tratamiento.

5.6 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD MICROBIANA EN LOS ENSAYOS POR RESPIROMETRÍA.

Para evaluar la actividad biológica al interior de los ensayos de biodegradación, se realizó la medición de la mineralización en fase sólida usando la prueba de respirometría descrita por Leconte et al. (2009), modificada. Para lo cual, se depositaron 20 gramos de cada matriz al interior de recipientes ámbar de 750 mL de capacidad, con tapa rosca de cierre hermético; y se contaminaron con 4 mL de la solución de contaminación descrita en el numeral 5.4.1, de manera que se alcanzó la misma concentración de clorpirifos, metil paratión y malatión de los ensayos de degradación (136, 30 y 20 mg/Kg). A este montaje se introdujo un tubo de ensayo que contenía 10 mL de Hidróxido de Sodio (NaOH) 0.8 N, el cual fue cambiado diariamente.

Como blanco, se utilizaron ensayos consistentes en 20 g de cada matriz, sin adición de la solución contaminante. De la misma manera, se introdujo un tubo de ensayo con la solución de NaOH 0.8 N en cada recipiente, el cual fue cambiado diariamente.

El estudio de la mineralización tuvo una duración de 30 días y se realizó en paralelo con los ensayos de degradación microbiana. Todos los cultivos fueron mantenidos a condiciones de oscuridad y temperatura ambiente ($25^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$).

La concentración de NaOH remanente fue determinada por titulación, tomando 2 alícuotas de 3 mL (por muestra) y acondicionándose con: 1 gota del indicador fenolftaleína y una pizca de BaCl_2 . Como agente titulante se utilizó una solución de ácido clorhídrico (HCl) 0.4 N.

El CO_2 producido por mineralización fue calculado usando la fórmula:

$$\text{mg CO}_2 = (\text{Vb}-\text{Vm}) * \text{N}_{\text{HCl}} * 22.005) / \text{P}$$

Donde:

Vb = Volumen de HCl gastado en el control (alícuota de NaOH 0.8 N).

Vm = Volumen de HCl gastado en la muestra.

N_{HCl} = Normalidad del HCl utilizado.

P = peso de matriz seca usada en el ensayo.

Cada ensayo se realizó por duplicado, para un total de 28 muestras.

5.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS

Los resultados obtenidos de las cinéticas de degradación durante el periodo de estudio, fueron evaluados mediante análisis de regresión simple, por medio del paquete estadístico STATGRAPHICS Plus Versión 5.1. Reportándose en este trabajo el grado de significancia estadística (p-valor) y el coeficiente de correlación (R-cuadrado) de los modelos ajustados a leyes de velocidad de primer orden.

Los resultados obtenidos de la actividad microbiana durante el periodo de estudio, fueron evaluados mediante análisis de regresión simple, reportándose en los modelos de calibración que presentaron el mejor ajuste estadístico, según el grado de significancia estadística entre las variables (p-valor) y el coeficiente de correlación (R-cuadrado).

6 RESULTADOS Y ANÁLISIS

6.1 CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DE LAS MATRICES

Los resultados de la caracterización físico-química realizada a las matrices se muestran en la (Tabla 6), tanto en las muestras de compost inmaduro como del suelo de Moravia se observan valores de pH neutros a ligeramente básicos, éstos como afirma Donézar (1995) son valores aptos para el crecimiento de microorganismos principalmente bacterias.

Tabla 6. Caracterización de las Matrices

PARÁMETRO	Suelo Moravia	Compost inmaduro
pH	7,50	8,31
Humedad (%)	39,48	47,36
MCRH (%)	77,70	82,64
Humedad/MCRH (%)	50,81	57,31
Densidad Aparente (g/cm ³)	0,93	0,20
Materia Orgánica (%)	8,22	17,60
Carbono Orgánico (%)	3,54	7,79
Capacidad de Intercambio Cationico (meq/100 g Muestra)	24,86	53,32
Acidez Intercambiable (%)	28,6	-
Aluminio intercambiable (%)	18,6	-
Fósforo Total (mg/Kg)	76,54	60,45

El aluminio intercambiable presentó un porcentaje de 18,6% en el suelo mientras que el valor de la acidez intercambiable fue del 28,6%; indicando baja presencia de aluminio en el suelo, lo cual es corroborado por los pH's ligeramente básicos encontrados, ya que el pH presenta una relación inversa con la acidez y el aluminio intercambiable presentes en un suelo (Müller et al., 1998). Por lo anterior, no se espera se presenten cambios abruptos en el pH a lo largo del proceso de degradación.

Las matrices presentaron valores de su Máxima Capacidad de Retención de Humedad (MCRH) de 77.7% y 82.64% para el suelo y compost, respectivamente. Por lo anterior, el compost inmaduro es la matriz con mayor capacidad para absorber agua, de todas las matrices evaluadas en el estudio, siendo el suelo la de menor capacidad.

La humedad del suelo y el compost fue de 39.48% y 47.36%, lo que corresponde a un 50.81% y 57.31% de la capacidad de campo de las matrices, respectivamente. Según afirma Donézar (1995), el hecho que las matrices se encuentren por debajo del 85% del nivel de saturación de agua es de vital importancia para permitir la entrada de aire en la matriz, produciéndose el intercambio de gases entre las matrices y la atmosfera. En otras palabras, se facilita la liberación de CO₂ producido por la actividad metabólica de los microorganismos y se enriquece la matriz con oxígeno atmosférico.

El suelo presentó una densidad aparente de 0.93 g/cm³ en comparación con el compost con una densidad aparente de 0.20 g/cm³, indicando un menor porcentaje de porosidad en el suelo en relación con un alto porcentaje de poros en el compost. Lo anterior es evidenciado en la mayor capacidad presentada por el compost para retener agua por unidad de masa seca.

Con respecto a los porcentajes de materia orgánica y carbono orgánico, hay una mayor presencia de material orgánico y carbono disponible para los microorganismos en el compost inmaduro (17.6%) que en el suelo de moravia (8.22%), esto como indican Hang (2003), Donézar (1995) y Bollag (1992), permite mayor disponibilidad de carbono y nutrientes para el desarrollo microbiano en la primera matriz con respecto de la segunda, esperándose por lo tanto mayores valores de mineralización en el compost inmaduro.

El contenido de fósforo total disponible encontrado mostró un mayor valor en el suelo (76.54 mg P/Kg) que en el compost (60.45 mg P/Kg), con una diferencia de 16 ppm P por kilogramo entre las matrices. Este parámetro es de gran importancia si se considera que el fósforo es frecuentemente un factor limitante para el desarrollo microbiológico, ya que hace parte de las principales moléculas biológicas como son los fosfolípidos y los nucleótidos, así como de estructuras celulares vitales como son las membranas biológicas el ATP y los ácidos nucleicos (Ramirez et al., 2005). Teniendo en cuenta el pH hallado para el suelo de Moravia y el compost, el suelo presenta un pH más apropiado para la disponibilidad de fosfatos al tener un valor de pH neutro (Tabla), y según lo expuesto por Camberato (2001) el valor de pH óptimo para la disponibilidad del fósforo en el suelo es de 6.5, a mayor pH menos disponibilidad presenta este elemento.

La Capacidad de Intercambio cationico (CIC) encontrada en el suelo de Moravia presentó un valor de 24,86 meq/100g, el cual se encuentra en el rango reportados por Alcalá del olmo (1995) como óptimo y frecuente en suelos. Para

el caso de la CIC encontrada en el compost, el cual es mucho más alto (53,32 meq/100 g), se considera que dicho valor está relacionado directamente con la cantidad de materia orgánica presente en esta matriz (Alcalá del Olmo, 1995). Estos valores de CIC sugieren una mayor capacidad de retención de compuestos cationicos en el compost inmaduro, pudiéndose relacionar también con el mayor pH que presenta el mismo con relación al pH del suelo.

6.2 CUANTIFICACIÓN DE CLORPIRIFOS, MALATIÓN Y METIL PARATIÓN

6.2.1 Curva de Calibración

En la Tabla 7 se presentan los coeficientes de correlación obtenidos para los modelos de calibración de los pesticidas, además de las ecuaciones que definen dichos modelos y relacionan la respuesta del equipo (Área del pico cromatográfico, Hz*s) y la concentración (ug/L) inyectada a partir de las soluciones preparadas con el respectivo estándar de cada compuesto.

Tabla 7. Curva de Calibración del Clorpirifos, Malatión y Metil Paratión

COMPUESTO	R ²	ECUACIÓN
Clorpirifos	0.999694	$\bar{A}_C = 3829.46 + 120.586 * C_C$
Metil Paratión	0.999605	$\bar{A}_{MP} = 1643.83 + 78.3523 * C_{MP}$
Malatión	0.998981	$\bar{A}_M = 275.454 + 47.3384 * C_M$

Las concentraciones evaluadas de los pesticidas ($\mu\text{g/L}$) presentaron una relación estadísticamente significativa con respecto a la respuesta del equipo (Hz*s), con un nivel de confianza superior al 99% ($P < 0.0001$); y coeficientes de correlación que explican más del 99% de los datos (Figura 14). Esto brinda confianza en los datos hallados para la estimación de la variación de los pesticidas con el tiempo.

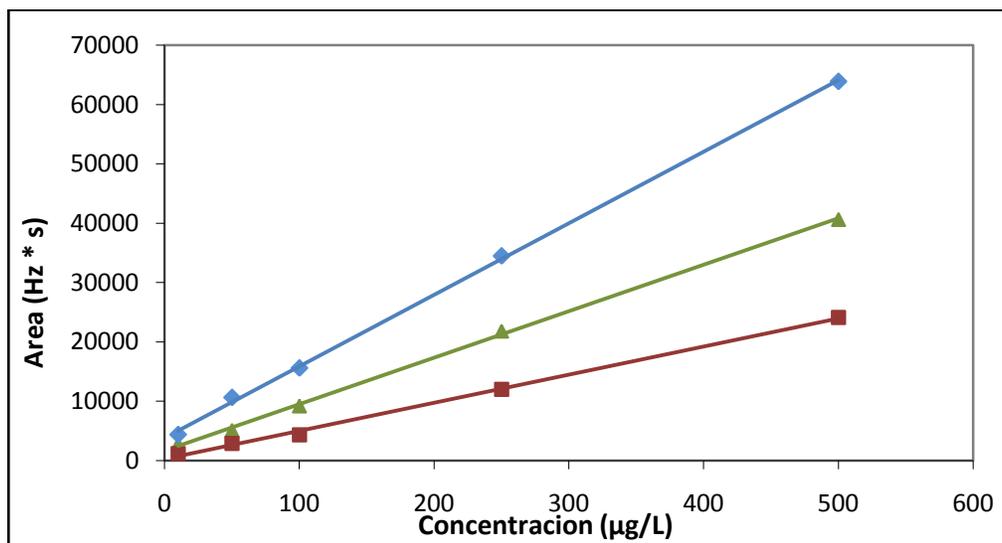


Figura 14. Curva de calibración para el Clorpirifos, Malatión y Metil Paratión.
Símbolos: (▲) Metil Paratión, (■) Malatión, (◆) Clorpirifos

De los tres pesticidas evaluados, el Clorpirifos fue el compuesto que presentó una mayor respuesta ante una concentración dada. Lo que indica que el equipo presenta mayor sensibilidad en la detección del Clorpirifos, seguido por el Metil Paratión y por último el Malatión.

6.2.2 Selectividad del Método

En la Figura 15 se presenta un cromatograma correspondiente al análisis de una muestra de acetato de etilo grado cromatográfico sin adición de pesticidas.

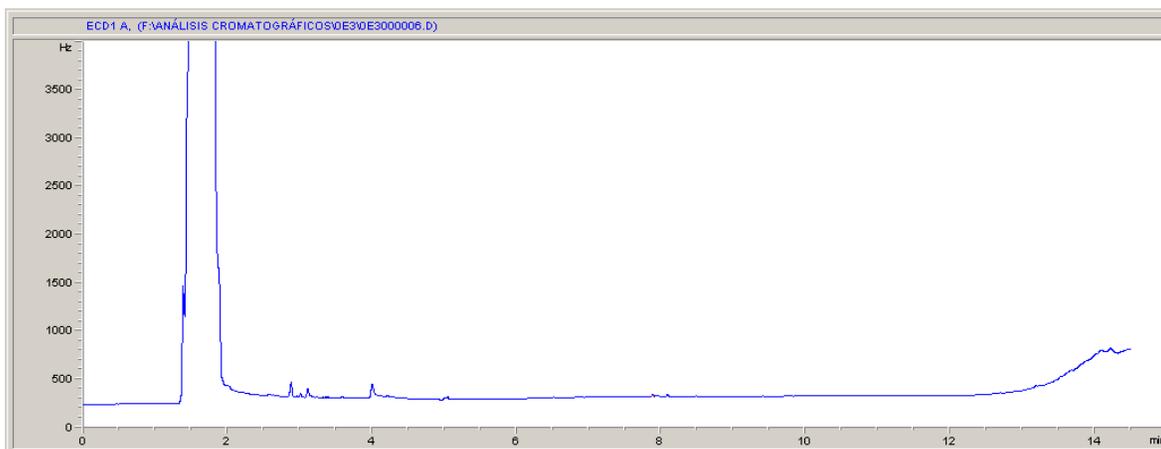


Figura 15. Análisis cromatográfico de acetato de etilo grado cromatográfico

En las Figura 16 se muestra un cromatograma correspondiente al análisis de una muestra de suelo, sin adición de pesticidas, luego de realizarse el procedimiento de extracción descrito, usando Acetato de Etilo como solvente extractor.

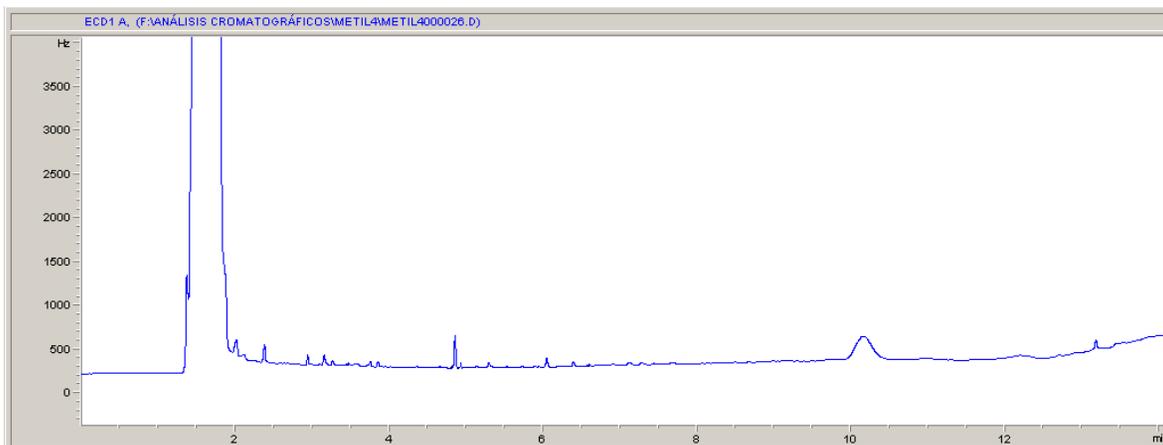


Figura 16. Análisis cromatográfico de una muestra de suelo sin adición de pesticidas

En la Figura 17 se muestra un cromatograma correspondiente al análisis de una muestra de compost inmaduro, sin adición de pesticidas, luego de realizarse el procedimiento de extracción con Acetato de Etilo.

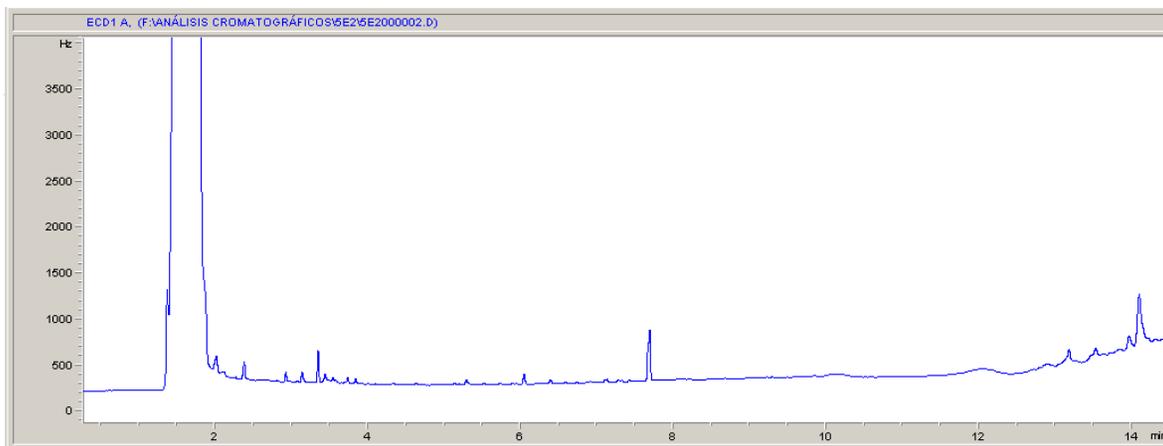


Figura 17. Análisis cromatográfico de una muestra de compost inmaduro sin adición de pesticidas

Los pesticidas fueron bien separados por este método, y presentaron a los tiempos de retención de 6.41, 7.14 y 7.40 minutos para el Metil paratiÓN, MalatiÓN y el Clorpirifos respectivamente (Figura 18).

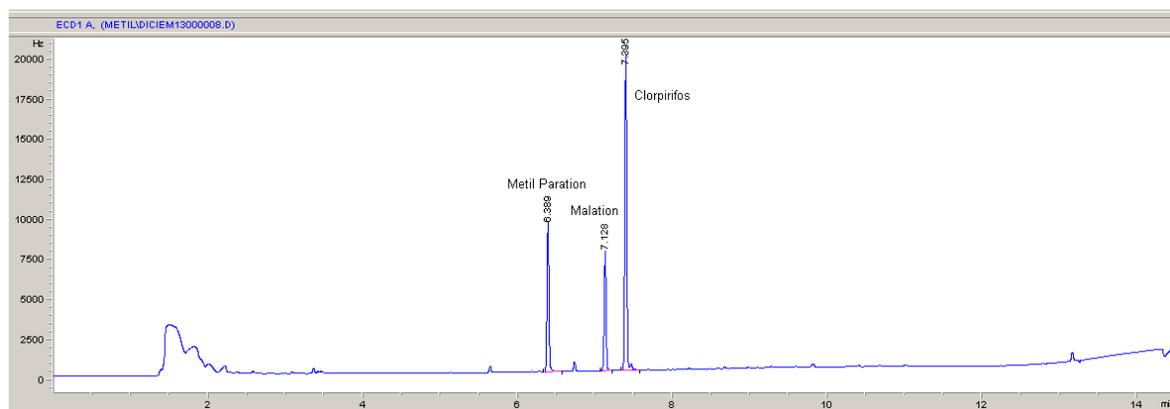


Figura 18. Análisis cromatográfico de la mezcla de estándares de Malatión, Metil paratión y Clorpirifos en una concentración de 250 ppb.

6.2.3 Límites de Detección y Cuantificación

Los límites de cuantificación para el Clorpirifos, Metil Paratión y Malatión fueron de 9.9, 12.2 y 17.6 ppb, respectivamente.

Por su parte, los límites de detección para el Clorpirifos, Metil Paratión y Malatión fueron de 3, 3.7 y 5.2 ppb, respectivamente.

6.3 EXTRACCIÓN DE CLORPIRIFOS, MALATIÓN Y METIL PARATIÓN DESDE LAS MATRICES

6.3.1 Extracción desde la Matriz 100:0 (Compost:Suelo)

En la Tabla 8, se presentan las ecuaciones que representan el comportamiento de los datos de la recuperación de cada pesticida, representados como C-100-MP, C-100-M y C-100-C, que corresponden a la recuperación en la matriz esterilizada 100:0 (ó control 100:0) para el Metil Paratión, Malatión y Clorpirifos respectivamente.

Tabla 8. Recuperación de Clorpirifos, Malatión y Metil Paratión de la matriz 100:0 (C:S)

COMPUESTO	%R ²	p-valor	ECUACIÓN
C-100-MP	54.254	0.0371	%R = 105.378 - 0.512124 * t
C-100-M	47.735	0.0578	%R = 105.878 - 0.377153 * t
C-100-C	30.530	0.0900	%R = 101.178 - 0.097006 * t

Los tres pesticidas muestran una alta recuperación inicial (100%) en la matriz compuesta únicamente por compost inmaduro (Figura 19). Esta recuperación presenta una variación muy baja a lo largo del tiempo de estudio ($P < 0.05$ para Metil paratión y $P > 0.05$ para Clorpirifos y Malatión), llegando a valores de recuperación superiores al 85% para los tres pesticidas al final del tiempo de evaluación (día 30). Los pesticidas presentaron cinéticas de adsorción al suelo de 0.097, 0.37 y 0.51%/día, para el Clorpirifos, Malatión y Metil Paratión respectivamente.

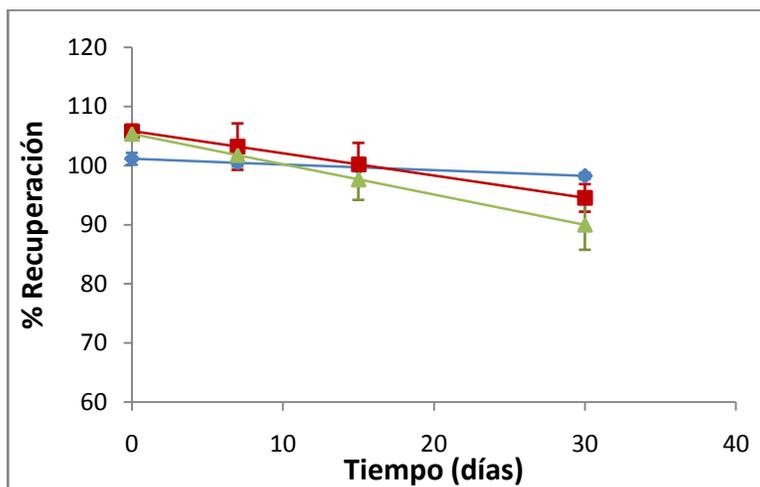


Figura 19. Recuperación del Clorpirifos, Malatión y Metil Paratión en la matriz 100:0 (C:S). Símbolos: (▲) Metil Paratión, (■) Malatión, (◆) Clorpirifos

6.3.2 Extracción desde la Matriz 75:25 (Compost:Suelo)

En la Tabla 9, se presentan las ecuaciones que representan el comportamiento de los datos obtenidos para la recuperación de cada pesticida, éstos están simbolizados por C-75-MP, C-75-M y C-75-C, que corresponden a la recuperación en el control 75:25 (Compost:Suelo) para el Metil Paratión, Malatión y Clorpirifos respectivamente.

Tabla 9. Recuperación de Clorpirifos, Malatión y Metil Paratión de la matriz 75:25 (C:S)

COMPUESTO	%R ²	p-valor	MODELO
C-75-MP	47.675	0.0580	%R = 106.854 – 0.579457 * t
C-75-M	35.540	0.0697	%R = 105.655 – 0.381346 * t
C-75-C	32.646	0.0809	%R = 101.365 – 0.138755 * t

La recuperación en la matriz 75:25 presentó unos valores similares a los encontrados con la matriz 100:0 (Figura 20), se presenta poca variación en la cantidad recuperada de cada pesticida con el tiempo ($P > 0.05$), con velocidades de adsorción a la matriz de 0.60%/día, 0.38%/día y 0.14%/día para el Metil Paratión, Malatión y Clorpirifos respectivamente y porcentajes de recuperación para el día final de evaluación por encima de 80%.

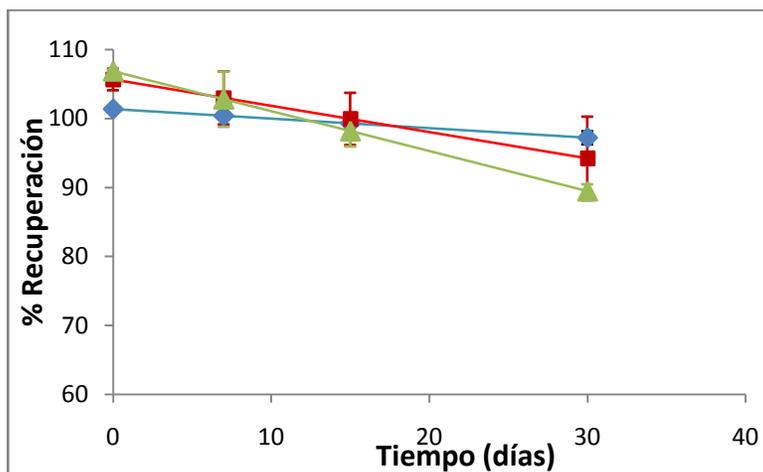


Figura 20. Recuperación del Clorpirifos, Malatión y Metil Paratión en la matriz 75:25 (C:S). Símbolos: (▲) Metil Paratión, (■) Malatión, (◆) Clorpirifos

6.3.3 Extracción desde la Matriz 50:50 (Compost:Suelo)

En la Tabla 10 se presentan las ecuaciones que representan el comportamiento de los datos obtenidos para la recuperación en el control 50:50, de Metil Paratión (C-50-MP), Malatión (C-50-M) y Clorpirifos (C-50-C) en función del tiempo de muestreo.

Tabla 10. Recuperación de Clorpirifos, Malatión y Metil Paratión de la matriz 50:50 (C:S)

COMPUESTO	%R ²	p-valor	MODELO
C-50-MP	40.881	0.0521	%R = 104.944 - 0.481602 * t
C-50-M	59.130	0.0257	%R = 103.408 - 0.662949 * t
C-50-C	37.295	0.0635	%R = 105.676 - 0.241276 * t

La matriz compuesta por un 50% compost y 50% suelo presentó porcentajes de recuperación de 100% para los tres pesticidas en el día inicial de muestreo (Figura 21). Y presentaron tasas de adsorción al suelo de 0.66%/día, 0.48%/día y 0.24%/día para el Malatión (P<0.05), Metil Paratión (P>0.05) y Clorpirifos (P>0.05) respectivamente. Obteniéndose recuperaciones finales (día 30) de 83%, 90% y 96% respectivamente.

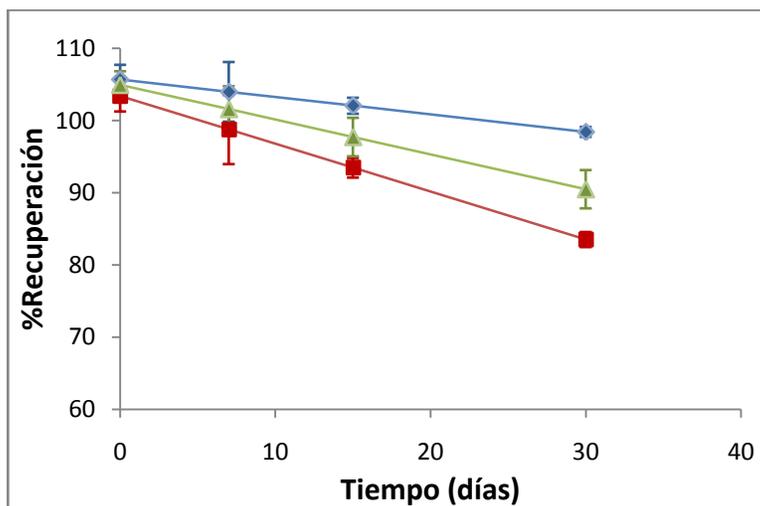


Figura 21. Recuperación del Clorpirifos, Malatión y Metil Paratión en la matriz 50:50 (C:S). Símbolos: (▲) Metil Paratión, (■) Malatión, (◆) Clorpirifos

6.3.4 Extracción desde la Matriz 25:75 (C:S)

La Tabla 11 presenta las ecuaciones que describen el comportamiento de los datos obtenidos para la recuperación de los pesticidas con el tiempo, simbolizados por C-25-MP, C-25-M y C-25-C, que corresponden a los controles de la matriz 25:75 (Compost:Suelo) para el Metil Paratión, Malatión y Clorpirifos respectivamente.

Tabla 11. Recuperación de Clorpirifos, Malatión y Metil Paratión de la matriz 25:75 (C:S)

COMPUESTO	%R ²	p-valor	MODELO
C-25-MP	42.089	0.0818	%R = 99.0034 – 1.12587 * t
C-25-M	40.175	0.0915	%R = 103.51 – 0.605844 * t
C-25-C	42.457	0.0800	%R = 102.234 – 0.229495 * t

En la matriz 25:75 (Compost:Suelo) se recuperó hasta el 100% de Malatión, Metil paratión y Clorpirifos para el día cero del ensayo, pero hubo una mayor variación en la adsorción de los pesticidas a lo largo del tiempo (Figura 22), en comparación con lo encontrado en matrices con mayor contenido de compost inmaduro. Dicha variación fue representada por tasas de adsorción a la matriz de 1.12%/día para el Metil Paratión (P>0.05), 0.60%/día para el Malatión (P>0.05) y 0.23%/día para el Clorpirifos (P>0.05).

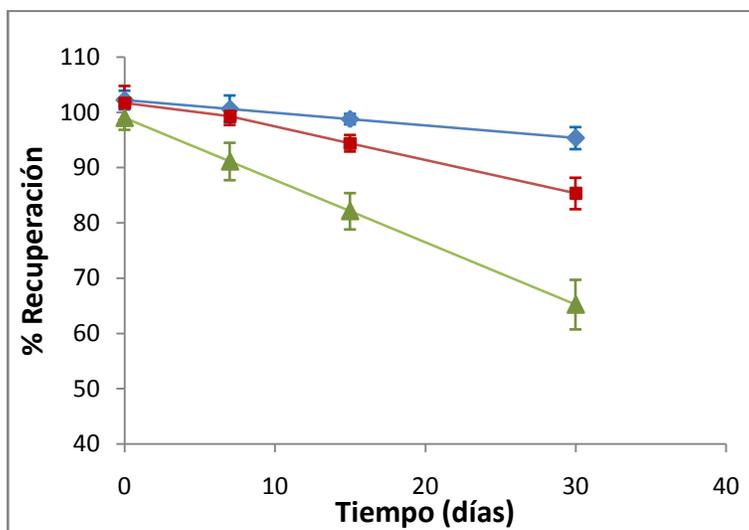


Figura 22. Recuperación del Clorpirifos, Malatión y Metil Paratión en la matriz 25:75 (C:S). Símbolos: (▲) Metil Paratión, (■) Malatión, (◆) Clorpirifos

6.3.5 Extracción desde la Matriz 0:100 (Compost:Suelo)

En la Tabla 12 se muestran las ecuaciones que representan el comportamiento de los datos obtenidos para la recuperación de cada pesticida en el suelo a través del tiempo de evaluación, representados como C-0-MP, C-0-M y C-0-C, que corresponden a los controles en la matriz 0:100 (Compost:Suelo) para el Metil Paratión, Malatión y Clorpirifos respectivamente.

Tabla 12. Recuperación de Clorpirifos, Malatión y Metil Paratión de la matriz 0:100 (C:S)

COMPUESTO	%R	p-valor	MODELO
C-0-MP	52.799	0.0412	$\%R = 89,7918 - 0,707334 * t$
C-0-M	57.107	0.0318	$\%R = 101,727 - 0,87667 * t$
C-0-C	58.516	0.0270	$\%R = 104.469 - 0.523642 * t$

La recuperación de los pesticidas en el suelo presenta unos valores menores a los logrados en las demás matrices, siendo el Metil Paratión el compuesto que menos se logra extraer ($P < 0.05$); alcanzando valores iniciales de recuperación del 90%, la adsorción se dio a una mayor tasa durante los primeros 7 días, y luego disminuyó hasta alcanzarse recuperaciones de 70% para el día 30 (Figura 23).

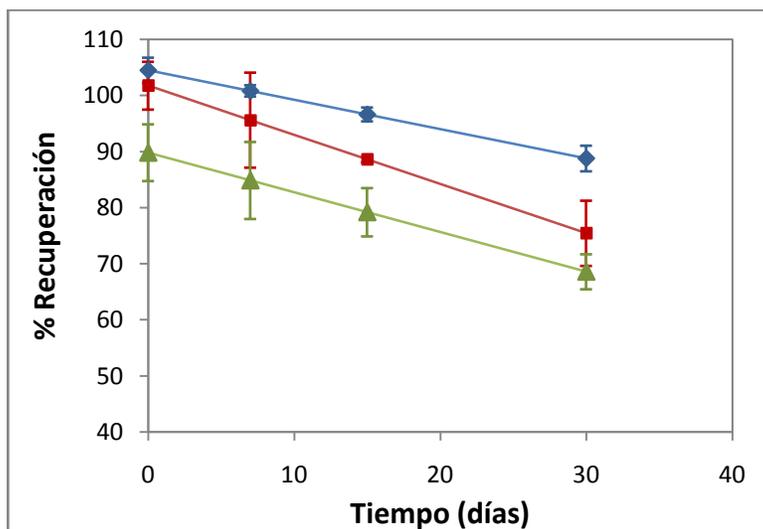


Figura 23. Recuperación del Clorpirifos, Malatión y Metil Paratión en la matriz 0:100 (C:S). Símbolos: (▲) Metil Paratión, (■) Malatión, (◆) Clorpirifos

El Malatión tuvo un comportamiento similar al Metil Paratión, pero pudo extraerse en mayores cantidades. Se lograron porcentajes de recuperación iniciales de 100% para este compuesto, y presentó una variación lineal decreciente ($P < 0.05$) consiguiéndose extraer del suelo hasta un 77% del compuesto para el último día de muestreo.

El compuesto que presentó una mayor recuperación desde el suelo y una menor variación en la cantidad recuperada fue el Clorpirifos ($P < 0.05$), para el cual, los valores iniciales fueron del 100% y su proceso de adsorción al suelo mostró una relación lineal descendiente, a una tasa de 0.52%/día, que permitió porcentajes de recuperación de aproximadamente el 90% luego de 30 días.

6.3.6 Análisis general del procedimiento de extracción de los pesticidas

La determinación de los porcentajes de recuperación sin actividad biológica en las matrices incluidas en este estudio, fue necesaria para establecer la efectividad del proceso extractivo y así lograr la cuantificación del remanente de cada pesticida que permanece adsorbido cuando no hay actividad biológica por parte de los microorganismos.

La técnica de extracción utilizada, que consistió en el uso de Acetato de Etilo como solvente extractor y agitación horizontal alternada con agitación por ultrasonido, presentó porcentajes iniciales de recuperación superiores al 90%, valores adecuados para estudios de degradación en suelos, que ayudan a garantizar que no se presenten sobreestimaciones de las cinéticas de

degradación de los insecticidas por procesos biológicos. De acuerdo con Baskaran et al., (1999), recuperaciones pobres pueden interferir con la determinación de la degradación de estas cinéticas de degradación y por lo tanto distorsionar los resultados reales de degradación microbiana.

El uso de acetato de etilo y los tipos de agitación utilizados en este estudio han sido aplicados anteriormente por varios autores en la extracción de Clorpirifos (Castañeda, 2005), Malatión (Mosquera, 2007) o un gran número de pesticidas (Gonçalves & Alpendurada, 2005) incluidos el Malatión, Clorpirifos y Metil Paratión; los cuales han obtenido resultados comparables con los hallados en el presente estudio, dando soporte los resultados hallados en el presente estudio.

Se encontró que, en general, el Metil Paratión es el compuesto que presenta mayor adsorción a las matrices a través del tiempo, seguido por el Malatión; siendo el Clorpirifos el pesticida que menor capacidad de adsorción a las matrices presentó. Estos resultados no se ajustan reportado en la literatura en cuanto a la retención del Clorpirifos, el Metil Paratión y el Malatión en el suelo; Ya que teniendo en cuenta los coeficientes de adsorción (Koc), el Clorpirifos es el compuesto con mayor Koc (6070), en comparación con el Metil Paratión (5100) y en el Malatión (1800). Por lo tanto, los resultados de este estudio probablemente representan más la interacción solvente-pesticida que la movilidad y solubilidad real de estos pesticidas en el ambiente.

Los ensayos realizados con las matrices mostraron que el suelo de Moravia tiene mayor capacidad de retención de los pesticidas que el compost inmaduro, estos resultados no concuerdan con lo reportado ya que como indican diversos autores, el grado de adsorción de un contaminante a una matriz está relacionado directamente con el contenido de materia orgánica presente (Mosquera, 2007; Dorronsoro & García, 2004; Universidad de Extremadura, 2004; FAO, 2000). Sin embargo, este hecho puede ser atribuible al poco tiempo de maduración del compost, ya que la materia orgánica de éste se encuentra en un estado de poca oxidación, correspondiendo en su mayoría probablemente a moléculas lignino-celulíticas, por lo que su aporte en ácidos húmicos y fúlvicos puede ser bajo. Estos ácidos han sido reportados por varios autores como los compuestos que presentan mayor influencia en la afinidad de la materia orgánica de los suelos (cuyo aporte en este caso se incrementa con la adición de compost) y los pesticidas (Gonçalves & Alpendurada, 2005; Pignatello, 1998; Navarrete, 1995; Karickhoff, 1979). Por lo tanto, el suelo a pesar de tener menor porcentaje de materia orgánica, presenta un mayor

estado de transformación de estos compuestos orgánicos, como consecuencia de los procesos naturales que llevan a su formación; esperándose que la materia orgánica oxidada presente en el suelo de Moravia, en combinación con la presencia de arcillas (ausentes en el compost), ejerzan mayor efecto adsorbente de los pesticidas.

6.4 BIODEGRADACIÓN DE CLORPIRIFOS, MALATIÓN Y METIL PARATIÓN

6.4.1 Efecto de la Adición de Nutrientes

6.4.1.1 Efecto de la adición de nutrientes en la actividad microbiana

En la Tabla 13 se presentan las ecuaciones que describen la mineralización de cada tratamiento en función del tiempo. Los ensayos pertenecen a los controles o tratamientos sin contaminar con la solución de pesticidas, por lo que los valores obtenidos sugieren la actividad microbiana de las matrices sin alteración por la presencia de estos compuestos.

Tabla 13. Mineralización en los tratamientos control (no contaminados) enriquecidos con nutrientes

ENSAYO	MODELO	P-VALOR	%R ²
C-25	Mineralización = 1.94627 * t	0.0000	99.4%
C-P	Mineralización = 2.0063 * t	0.0000	99.6%
C-F	Mineralización = 2.11962 * t	0.0000	99.6%

Nomenclatura: C-25 = matriz 25:75 (C:S) sin adición de nutrientes, C-P = matriz 25:75 (C:S) con adición de fósforo, C-F = matriz 25:75 con adición de fertilizante.

Los modelos ajustados representaron la variación en la mineralización como una función lineal dependiente del tiempo, lo que indica que durante el tiempo de evaluación no se evidenció agotamiento de nutrientes en ningún tratamiento (Figura 24).

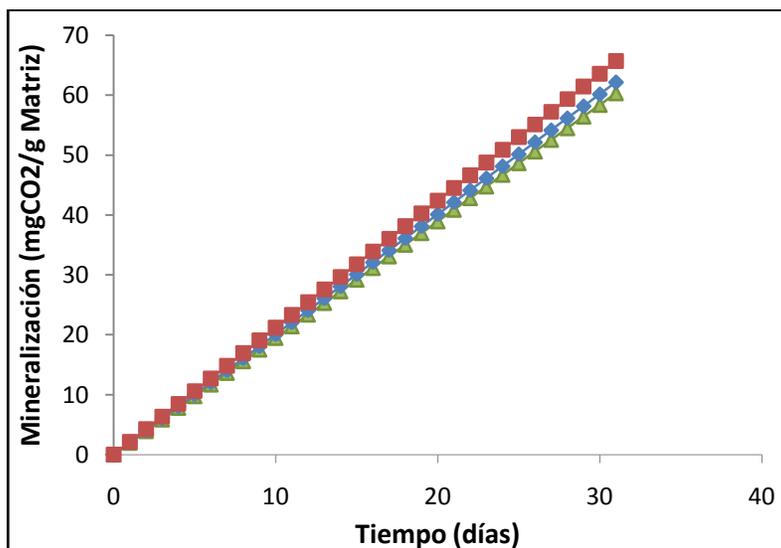


Figura 24. Mineralización en la matriz 25:75 sin adición de nutrientes (▲), con adición de fósforo (◆) y con adición de Fertilizante (■)

La mineralización en las matrices alcanzó valores para el día 30 de 60.4, 62.2 y 65.7 mg CO₂/g matriz para los tratamientos sin enriquecimiento, con adición de fósforo y con adición de fertilizante, respectivamente. Presentando tasas de mineralización de 1.95, 2.01 y 2.12 mg CO₂/g-día en el mismo orden. Dichos valores, aunque muestran mayor producción de CO₂ en los tratamientos enriquecidos con nutrientes que en la matriz sin la adición de éstos, no presentan una diferencia significativa en la mineralización generada por las poblaciones microbianas de cada tratamiento.

Estos resultados confirman lo encontrado por Kong et al. (2008), quienes evaluaron el efecto de los fertilizantes sobre la biomasa y la diversidad microbiana de un suelo negro (Udoll, de acuerdo con la clasificación USDA). En sus ensayos utilizaron 7 tratamientos con fertilizantes químicos, y una muestra sin tratamiento como control; y encontraron que la aplicación a largo plazo de fertilizantes químicos no generó cambios significativos en las características microbianas del suelo evaluado.

6.4.1.2 Efecto de la adición de nutrientes en la degradación de Clorpirifos, Malatión y Metil Paratión

- **Clorpirifos**

La Tabla 14 muestra las ecuaciones que representan la variación del Clorpirifos en la matriz 25:75 (C:S) sin adición de nutrientes (25-C), con adición de Fósforo (P-C) y con adición de fertilizante (F-C).

Tabla 14. Efecto de la adición de nutrientes en la degradación del Clorpirifos

COMPUESTO	MODELO	P-VALOR	%R ²
25-C	$\%R = e^{(4.61202 - 0.0146097 * t)}$	0.0117	42.358
P-C	$\%R = e^{(4.6512 - 0.00785126 * t)}$	0.0212	42.685
F-C	$\%R = e^{(4.69566 - 0.0146881 * t)}$	0.0002	70.317

El Clorpirifos presentó valores finales de recuperación de 80.5% en el tratamiento con fósforo, 70.5% en el tratamiento con fertilizante y 63.9% en el tratamiento sin adición de nutrientes (Figura 25). Lo cual indica que el Clorpirifos presenta un tiempo de vida media mayor a un mes, para todos los tratamientos evaluados. Las velocidades de degradación alcanzadas fueron de 0.01461 día⁻¹ para el tratamiento sin adición de nutrientes, 0.007851 día⁻¹ para el tratamiento con fósforo y 0.01469 día⁻¹ para el tratamiento con fertilizante. Indicando una velocidad dos veces superior en la degradación con el tratamiento con fertilizante, en comparación con la adición de fósforo. Por otra parte, no se evidenciaron diferencias significativas en las velocidades entre el tratamiento con fertilizante y el tratamiento sin adición de nutrientes.

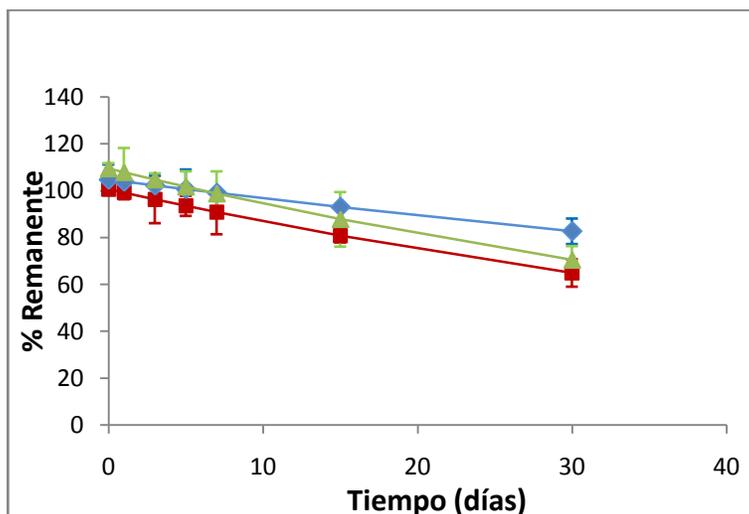


Figura 25. Degradación de Clorpirifos en la matriz 25:75 sin adición de nutrientes (▲), con adición de fósforo (◆) y con adición de fertilizante (■)

• **Metil Paratión**

En la Tabla 15 se presentan las ecuaciones que describen la relación entre el porcentaje remanente de Metil Paratión y el tiempo, de acuerdo con los tratamientos aplicados a la matriz 25:75 (C:S): sin adición de nutrientes (25-MP), con adición de fósforo (P-MP) y con adición de fertilizante (F-MP).

Tabla 15. Efecto de la adición de nutrientes en la degradación del Metil Paratión

COMPUESTO	MODELO	P-VALOR	%R ²
MP-F	$\%R = e^{(4,24631 - 0,13057*t)}$	0.0015	96.090
MP-P	$\%R = e^{(4,21057 - 0,0611603*t)}$	0.0002	98.238
25-MP	$\%R = e^{(4,21826 - 0,108739*t)}$	0.0125	87.415

La adición de fertilizante fue el tratamiento que presentó mayor velocidad de degradación del Metil Paratión (0.131 día⁻¹), alcanzando porcentajes de degradación del 83% luego de 30 días de cultivo. Para el tratamiento sin adición de nutrientes, la velocidad de degradación presentó un valor de 0.109 día⁻¹ y un porcentaje final remanente de 11%. Por su parte, el tratamiento con fósforo fue el que presentó la menor velocidad de degradación (0.0612 día⁻¹) (Figura 26).

Los modelos sólo representaron los datos hasta el día 7, ya que durante este tiempo se presentó la mayor cinética de degradación del metil paratión para este tratamiento.

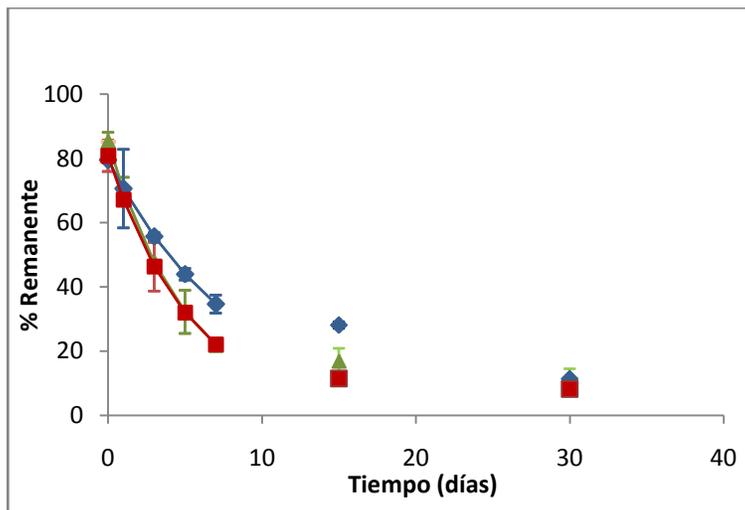


Figura 26. Degradación de Metil Paratión en la matriz 25:75 sin adición de nutrientes (▲), con adición de fósforo (◆) y con adición de fertilizante (■)

• **Malatión**

Las ecuaciones de la degradación del Malatión con cada tratamiento se presentan en la Tabla 16. Los tratamientos están representados como 25-M, P-M y F-M, que corresponden al tratamiento sin adición de nutrientes, al tratamiento con fósforo y al tratamiento con adición de fertilizante, respectivamente.

Tabla 16. Efecto de la adición de nutrientes en la degradación del Malatión.

COMPUESTO	MODELO	P-VALOR	%R ²
M-F	$\%R = e^{(4,18939 - 0,403546*t)}$	0.0637	96.514
M-P	$\%R = e^{(4,23861 - 0,353277*t)}$	0.0290	99.984
25-M	$\%R = e^{(4,14981 - 0,357656*t)}$	0.0572	89.928

El Malatión fue degradado hasta porcentajes remanentes inferiores al 15% en un tiempo inferior al día 5 para los tres tratamientos evaluados. Con tasas de degradación de 0.358, 0.352 y 0.404 día⁻¹ para el tratamiento sin adición de nutrientes, con adición de fósforo y con adición de fertilizante, respectivamente. La degradación del Malatión no presentó diferencias significativas entre los tratamientos evaluados, y el modelo sólo representó los

primeros 3 días ya que en este tiempo se presentó la mayor cinética de degradación de este compuesto (Figura 27).

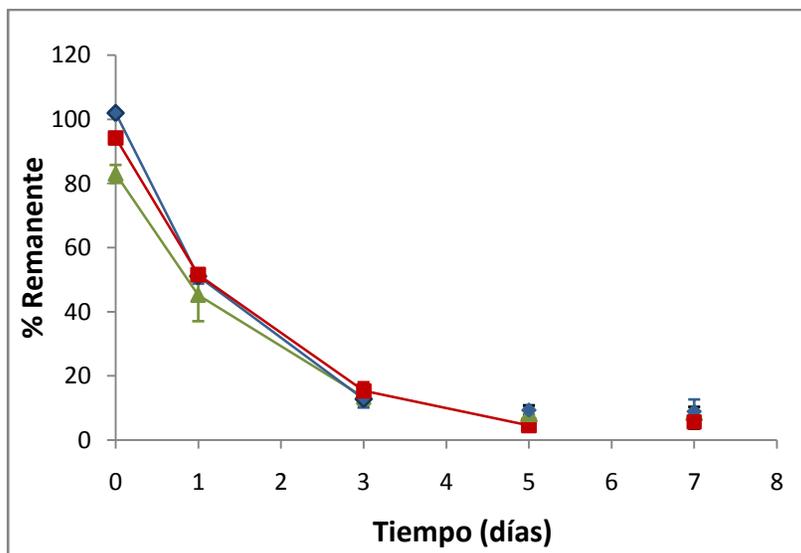


Figura 27. Degradación de Malati3n en la matriz 25:75 sin adici3n de nutrientes (▲), con adici3n de f3sforo (◆) y con adici3n de fertilizante (■)

6.4.1.3 Efecto de la adici3n de nutrientes en la degradaci3n cruzada

- **Tolerancia de la micro-flora a los pesticidas**

La tolerancia de los microorganismos a los pesticidas en los diferentes tratamientos aplicados, es mostrada en la Figura 28. La adici3n de Clorpirifos, Malati3n y Metil Parati3n a los ensayos evaluados no present3 efecto t3xico para los microorganismos factible de ser detectado por m3todos respir3m3tricos. Los valores de mineralizaci3n hallados para los ensayos con y sin pesticidas, presentaron valores de mineralizaci3n entre 60 y 65 mgCO₂/g matriz en todos los tratamientos evaluados.

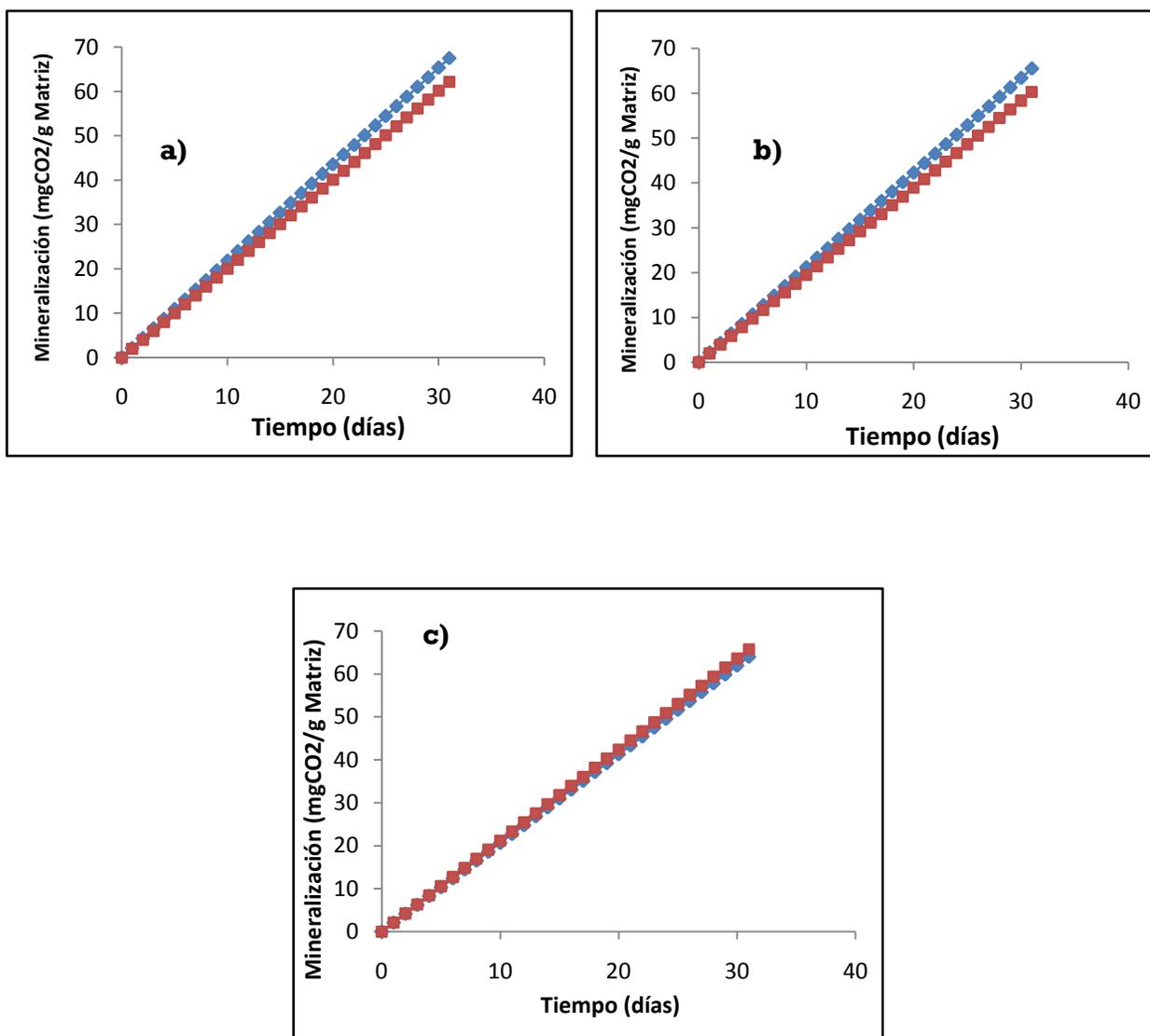


Figura 28. Efecto de la contaminación con Clorpirifos, Malatión y Metil Paratión sobre la micro-flora en la matriz 25:75 a) sin adición de nutrientes, b) enriquecida con fósforo y c) enriquecida con fertilizante.

Símbolos: Ensayo contaminado (◆), Control (■)

• **Degradación cruzada**

Los tres tratamientos evaluados mostraron capacidad para degradar Malatión, Metil Paratión y Clorpirifos simultáneamente a velocidades de degradación de cada compuesto comparablemente similares. El Malatión fue el compuesto degradado más rápidamente en todos los tratamientos, seguido por el Metil Paratión y en último lugar el Clorpirifos, el cual no alcanzó a ser degradado hasta su vida media (50%) en el periodo de tiempo evaluado (Figura 29).

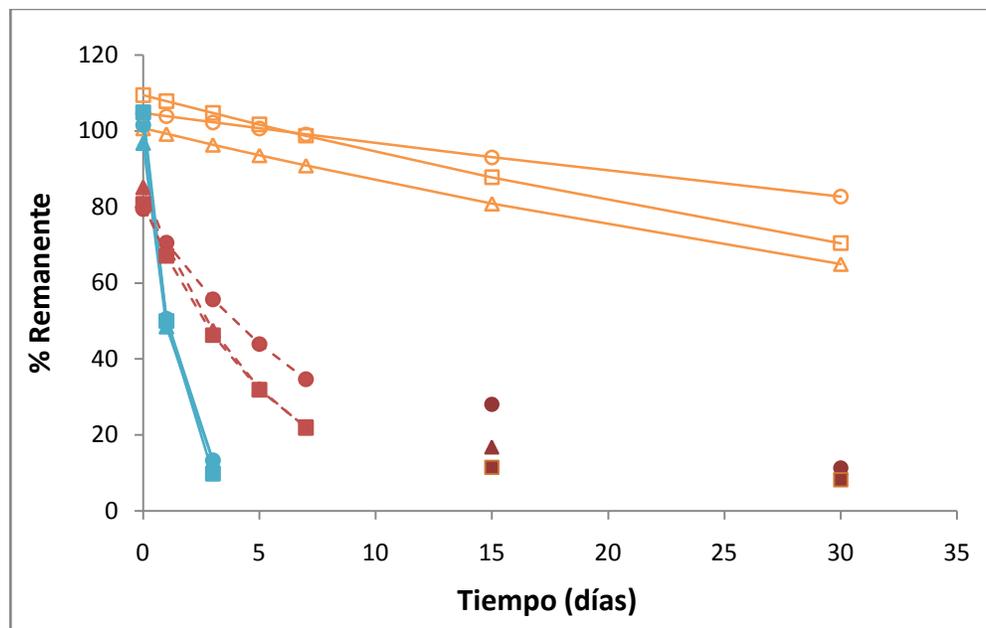


Figura 29. Degradación del Clorpirifos, Malatión y Metil Paratión en la matriz 25:75 para los tratamientos evaluados. Símbolos: (▲) Malatión sin adición de nutrientes, (●) Malatión con adición de fósforo, (■) Malatión con adición de Fertilizante, (-▲-) Metil Paratión sin adición de nutrientes, (-●-) Metil Paratión con adición de fósforo, (-■-) Metil Paratión con adición de Fertilizante, (Δ) Clorpirifos sin adición de nutrientes, (○) Clorpirifos con adición de fósforo y (□) Clorpirifos con adición de fertilizante.

La relación 100:1 (C:P) es una relación teórica a partir de la fórmula química asignada a la biomasa, la cual ha sido ampliamente utilizada en procesos de biorremediación tanto en aguas como en suelos (Castañeda, 2005; Hyman & Dupont, 2001), y ha mostrado resultados positivos en la degradación de compuestos orgánicos como los hidrocarburos aromáticos policíclicos -PAH- (Leys et al., 2005) e hidrocarburos totales del petróleo -TPH- (Roldan-Martin, 2007). Sin embargo, en el presente estudio la relación 100:1 (C:P) no mostró incremento de la degradación de ninguno de los tres pesticidas organofosforados evaluados, ni mejoramiento en el desarrollo y crecimiento de las poblaciones microbianas de la matriz evaluada.

De los tratamientos evaluados, el tratamiento con fósforo presentó menores tasas de degradación para el caso del Clorpirifos y el Metil Paratión, lo cual puede ser consecuencia de la presencia elevada de nutrientes, que como indican Wilson y Jones, (1993) puede inhibir el proceso de degradación de contaminantes.

Aunque se ha reportado que la adición de pesticidas en bajas concentraciones puede estimular la actividad y presencia de las fosfatasa (McLaren & Bollag, 1993), y especialmente se ha relacionado la degradación de pesticidas organofosforados con las Fosfatasa ácidas y las fosfotriesterasa (Sikora, Kaufman, & Horng, 1990), las cuales cumplen papeles importantes en la eliminación de los grupos fosfatos de varias moléculas orgánicas que poseen este elemento; (Gálviz et al., 2007; Castañeda, 2005). Con respecto a la presencia de fósforo, McLaren y Bollag (1993) y Skijins (1976), afirman que la actividad fosfatasa no está relacionada con el número de microorganismos o la actividad respiratoria del suelo, pero sí lo está con la presencia de fósforo en el suelo. Tabatabai (1994) y Spier & Ross (1978), por su parte han afirmado que la presencia de altos niveles de fósforo en el suelo o la liberación de éste como producto de degradación de compuestos fosforados, pueden suprimir la actividad fosfatasa de las comunidades microbianas. Spears y McHill (1979) encontraron en sus estudios, llevados a cabo en diferentes suelos con o sin presencia de fosfatasa a los que se les agregó diferentes soluciones de fósforo, que la presencia de fósforo no inhibe la acción de la fosfatasa que se encuentra presente en el suelo, pero si inhibe la producción de mas fosfatasa por los microorganismos. Lo anterior, puede dar explicación a los resultados encontrados en el presente estudio, donde el tratamiento con fósforo mostró

una degradación más lenta de los pesticidas evaluados, comparándolo con los otros tratamientos que poseían menor o ningún contenido adicional de fósforo.

El efecto de la adición de nutrientes en la degradación de pesticidas ha sido poco reportado y menor aún ha sido la búsqueda de una relación C:N:P adecuada para la degradación de estos compuestos. Sin embargo varios estudios han demostrado que la adición de fertilizantes de diferentes clases afectan la persistencia de los pesticidas en el suelo (Xie et al., 2008; Caracciolo, et al., 2005; Topp et al., 1996).

Entre los estudios revisados, algunos de ellos (Anwar, 2009; Akhtar et al., 2004; Rajagopal et al. 1983; Siddaramappa & Seiber, 1979; Rajaram et al., 1978; Agnihotri, 1978) reportan que la adición de nutrientes inorgánicos no presentan un efecto visible en la degradación de los pesticidas que evaluaron, comparándolos con ensayos sin adición de nutrientes. Otros casos (Xie et al., 2007; Senapati y Padhihari, 2002) comparan la adición de nutrientes inorgánicos con enmiendas orgánicas, reportándose mayor velocidad de degradación de pesticidas utilizando estas últimas, por encima del uso de fertilizantes o sales inorgánicas. Castañeda (2005) y Perrin et al. (2001) reportaron efectos positivos en la adición de compuestos a base de nitrógeno y nitrógeno-fósforo; encontrando que la adición de estos compuestos aceleran la degradación de los pesticidas clorpirifos y isoproturon, respectivamente.

Los tratamientos con nutrientes han sido exitosos en programas de biorremediación de hidrocarburos, en suelos con deficiencias nutricionales de nitrógeno y fósforo para la generación de biomasa a partir de las altas concentraciones de carbono suministradas por los hidrocarburos. En estudios con pesticidas los resultados han sido muy variables, y al parecer dependen de propiedades químicas y biológicas específicas del suelo utilizado. No se encuentra un factor común entre el tipo de nutrientes utilizados y el grupo de pesticidas evaluado. Por lo tanto, de acuerdo con los resultados del presente estudio, en los cuales la adición de nutrientes inorgánicos no presentó un efecto significativo en la degradación de los pesticidas clorpirifos, malatiÓN y metil paratiÓN; y según lo expresado por Roger & Bhiyan (1995), todavía no se cuenta con suficiente información para establecer el efecto que tendrá la adición de fertilizantes inorgánicos en la degradación de los pesticidas.

6.4.2 Efecto de la Composición de las Matrices

6.4.2.1 Efecto de la matriz en la actividad microbiana

En la Tabla 17 se presentan las ecuaciones que describen la mineralización generada por la micro-flora de cada matriz a lo largo del periodo de evaluación, sin la presencia de pesticidas. Los ensayos se encuentran representados por los términos: C-100, C-75, C-50, C-25 y C-0, que corresponden a los controles (matrices sin contaminar) 100:0, 75:25, 50:50, 25:75 y 0:100 Compost:Suelo, respectivamente.

Tabla 17. Ecuaciones de mineralización en las matrices evaluadas

ENSAYO	MODELO	P-VALOR	%R ²
C-100	Mineralización = 2.65356 * t	0.0000	99.4%
C-75	Mineralización = 2.66481 * t	0.0000	99.4%
C-50	Mineralización = 2.59873 * t	0.0000	99.3%
C-25	Mineralización = 1.94627 * t	0.0000	99.4%
C-0	Mineralización = 0.71389 * t	0.0000	99.6%

La mineralización presentó una relación lineal con el tiempo de evaluación para todas las mezclas compost:suelo evaluadas. La adición de compost al suelo en proporciones superiores a 50:50, generaron una actividad microbológica similar, las cuales alcanzaron valores de mineralización alrededor de los 85 mgCO₂/gramo de matriz (Figura 30).

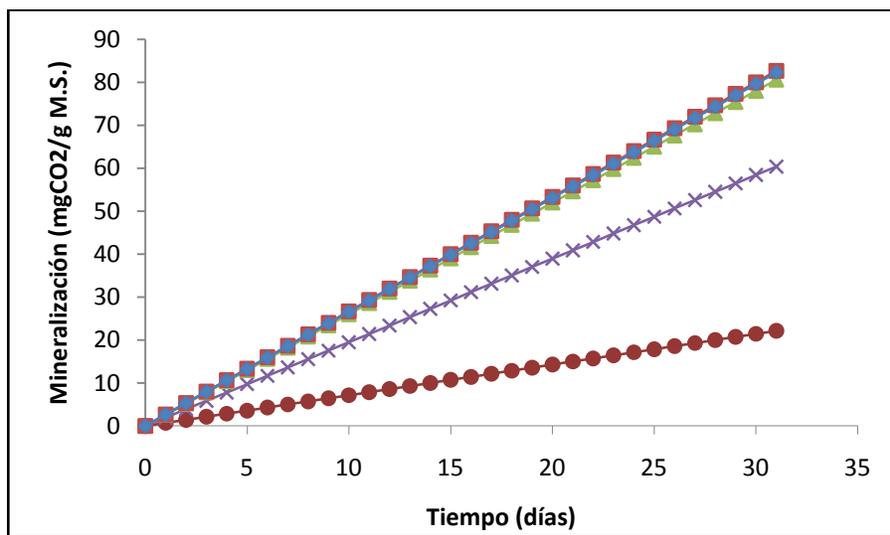


Figura 30. Mineralización en las matrices evaluadas.

Símbolos: Matriz (C:S) (◆)100:0, (■) 75:25, (▲) 50:50, (×) 25:75, (●) 0:100

Por su parte, la matriz 25:75 alcanzó un valor máximo de mineralización de 60 mg CO₂/gramo de matriz, y el suelo de Moravia (0:100) presentó valores de mineralización de tan sólo 22 mgCO₂/gramo de matriz.

Las cinéticas de mineralización para las matrices 100:0, 75:25 y 50:50, fueron de 2.65, 2.66 y 2.59 mgCO₂/día, respectivamente. Para la matriz 25:75 la producción de CO₂ se realizó con una cinética de 1.95 mgCO₂/g Matriz y para el suelo de Moravia (0:100) la producción de CO₂ fue de 0.71 mg/día.

De acuerdo con Mora (2006), la determinación de la actividad microbiana utilizando técnicas respirométricas, es una estimación de la dinámica de la biota, y por lo tanto, de los procesos metabólicos que se desarrollan en los suelos. Los cuales varían en función de los factores biofísicos y climáticos del suelo y del uso de la tierra, por lo cual su medición es un indicador de la biomasa microbiana presente en un medio.

La diferencia en la mineralización presentada entre las matrices, puede ser explicada por la disponibilidad de nutrientes, de acuerdo con el DEQ (1998), el número de microorganismos es directamente proporcional a la cantidad de carbono que puede ser metabolizado, ya que éste es el elemento que tiene mayor presencia en la biomasa celular. Según Carrillo (2003), el 50% de la biomasa celular está formada por carbono.

Adicionalmente, es importante considerar que el tipo de moléculas que conforman la materia orgánica, y que se encuentran disponibles para los

microorganismos, también es un factor determinante en el incremento de las poblaciones microbianas, ya que algunos estudios han mostrado que la abundancia de moléculas simples conlleva al incremento de poblaciones con menor exigencia de ataque enzimático para la liberación de nutrientes, mientras que la presencia de moléculas con estructuras químicas de mayor complejidad, favorece el desarrollo de comunidades microbianas especializadas, con generación de enzimas capaces de romper enlaces específicos –de difícil separación–, generándose ambientes propicios para la búsqueda de microorganismos útiles para su implementación en programas de biorremediación (Singer & Crohn, 2002; Department of Environmental Quality -DEQ-, 1998).

Según la Agencia para la Protección Ambiental -EPA- (1998), el compost es una matriz que posee poblaciones microbianas mucho más altas que las que pueden presentar suelos, por fértiles que estos sean; y supera aún más a las poblaciones microbianas presentes en suelos con alto grado de contaminación o agotamiento de nutrientes como el que se espera encontrar en un suelo como el del Moravia.

Con respecto a los pesticidas organofosforados y su potencial como nutrientes para los microorganismos, el Diazinon, Clorpirifos, Etion, Paratión, Fonofos, Malatión y Gusation han demostrado ser susceptibles a hidrólisis enzimática como resultado de la actividad microbiana, y son utilizados en gran medida como fuentes de carbono para el crecimiento de cultivos puros o consorcios microbianos (Digrak & Kazanici, 2001; Castañeda, 2005). Algunos estudios incluso han identificando algunos microorganismos con capacidades particulares para degradar estos compuestos, resaltándose los pertenecientes a los géneros *Flavobacterium* sp, *Pseudomonas* sp. y *Artrobacterias* sp, por presentar varias especies de microorganismos con grandes habilidades metabólicas para utilizar una gran variedad de compuestos orgánicos, incluidos un amplio rango de pesticidas, como fuente de carbono y energía para el incremento de biomasa microbiana (Digrak et al., 1995; Ghisalba et al., 1987).

6.4.2.2 Efecto de la matriz en la degradación de Clorpirifos, Malatión y Metil Paratión

• Clorpirifos

En la Tabla 18 se presentan las ecuaciones que describen la degradación del Clorpirifos en cada matriz evaluada, identificada por la proporción compost:suelo que contiene: 100:0, 75:25, 50:50, 25:75 y 0:100, según sea el caso.

Tabla 18. Ecuaciones de degradación del Clorpirifos en las matrices evaluadas

MATRIZ (C:S)	MODELO	P-VALOR	%R²
100:0	$\%R = e^{(4,660-0,003650*t)}$	0.0101	96.504
75:25	$\%R = e^{(4,644-0,002348*t)}$	0.4743	45.741
50:50	$\%R = e^{(4,649-0,00851*t)}$	0.0032	52.860
25:75	$\%R = e^{(4,612-0,01460*t)}$	0.0117	42.358
0:100	$\%R = e^{(4,564-0,0245*t)}$	0.0004	66.869

El Clorpirifos presentó una degradación poco significativa en la matriz 100:0 (Figura 31), con un comportamiento muy similar al encontrado en los estudios de adsorción del Clorpirifos a la matriz 100:0 (compost) estéril (Figura 19).

De igual manera, no se observó degradación de Clorpirifos en la matriz 75:25, mostrando un comportamiento similar a la adsorción de este compuesto a la matriz 75:25 estéril (Figura 20).

Para las matrices con menores proporciones de compost, los resultados fueron igualmente bajos, aunque en general presentaron mayores velocidades de degradación. En la matriz 50:50 se apreció degradación del Clorpirifos, disminuyendo su concentración hasta el 83% de la concentración inicial luego de 30 días de ensayo, con una velocidad de degradación de 0.0085 día⁻¹.

En la mezcla 25:75, la concentración de Clorpirifos disminuyó a través del tiempo, alcanzando un valor remanente de 69.5% para el día 30 de, con una velocidad de degradación de 0.0146 día⁻¹.

Los mayores porcentajes de degradación para el Clorpirifos fueron los obtenidos con la matriz 0:100, Suelo de Moravia, para la que se alcanzó una degradación al día 30, del 47% de la concentración inicial; en este caso la velocidad de degradación del Clorpirifos fue de 0.0245 día⁻¹.

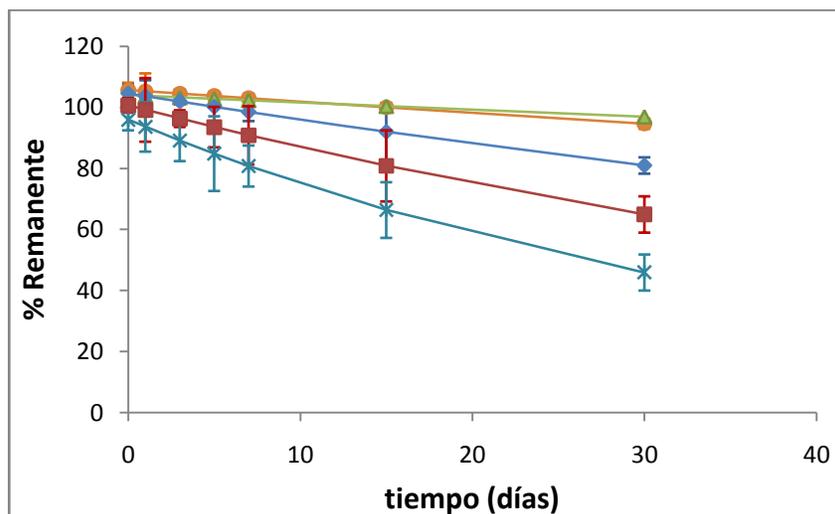


Figura 31. Degradación de Clorpirifos en la matriz 100:0 (●), 75:25 (▲), 50:50 (◆), 25:75 (■) y 0:100 (×)

• **Metil Paratión**

En la Tabla 19 se presentan las ecuaciones de degradación del Metil Paratión en las diferentes matrices estudiadas a lo largo del tiempo de evaluación. Los ensayos se encuentran identificados por la proporción Compost:Suelo que cada matriz posee.

Tabla 19. Ecuaciones de degradación del Metil Paratión en las matrices evaluadas

ENSAYO	MODELO	P-VALOR	%R ²
100:0	$\%R = e^{(4,36 - 0,072 * t)}$	0.0000	78.018
75:25	$\%R = e^{(4,36 - 0,072 * t)}$	0.0000	78.018
50:50	$\%R = e^{(4,42 - 0,150 * t)}$	0.0002	84.264
25:75	$\%R = e^{(4,44 - 0,194 * t)}$	0.0054	87.415
0:100	$\%R = e^{(4,349 - 0,162 * t)}$	0.0011	75.494

Las matrices compuestas principalmente por compost inmaduro (100:0 y 75,25) presentaron la velocidad más baja de degradación (0.072 día^{-1}), y alcanzaron porcentajes de remoción del 81% para el día 30 de evaluación. Las matrices 50:50, 25:75 y 0:100 presentaron mayores velocidades de degradación, aumentando las cinéticas conforme aumentó la proporción de suelo de Moravia en la matriz, siendo las matrices 25:75 y 0:100 las que reportaron los mayores porcentajes de remoción (94%) en el menor tiempo de evaluación (15 días) (Figura 32).

Sólo se utilizó el modelo para explicar la degradación del Metil Paratión en las matrices 50:50, 25:75 y 0:100 durante los primeros 15 días, ya que después de este momento, la degradación disminuyó abruptamente su velocidad. Por lo tanto, para el día 30 se representó en el gráfico el promedio de los valores reales.

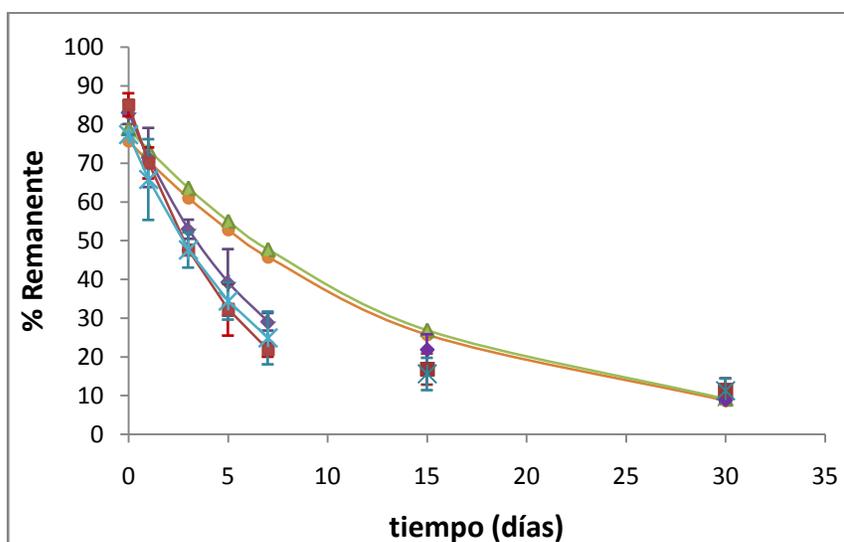


Figura 32. Degradación de Metil Paratión en la matriz 100:0 (●), 75:25 (▲), 50:50 (◆), 25:75 (■) y 0:100 (×)

• **Malatión**

La Tabla 20 presenta las ecuaciones que describen la degradación del Malatión en las matrices a lo largo del tiempo de evaluación, estas ecuaciones involucran el porcentaje remanente de Malatión y el tiempo de muestreo, para cada matriz.

Tabla 20. Ecuaciones de degradación del Malatión en las matrices evaluadas

MATRIZ (C:S)	MODELO	P-VALOR	%R ²
100:0	$\%R = e^{(4,709 - 0,4454*t)}$	0.0000	97.109
75:25	$\%R = e^{(4,646 - 0,5284*t)}$	0.0000	95.727
50:50	$\%R = e^{(4,702 - 0,5756*t)}$	0.0000	93.315
25:75	$\%R = e^{(4,419 - 0,607*t)}$	0.0003	89.928
0:100	$\%R = e^{(4,617 - 0,6620*t)}$	0.0019	92.931

El Malatión fue degradado en las matrices a diferentes velocidades, hasta alcanzar degradaciones superiores al 90% de la concentración inicial en todas las matrices, en un período de 3 a 7 días (Figura 33).

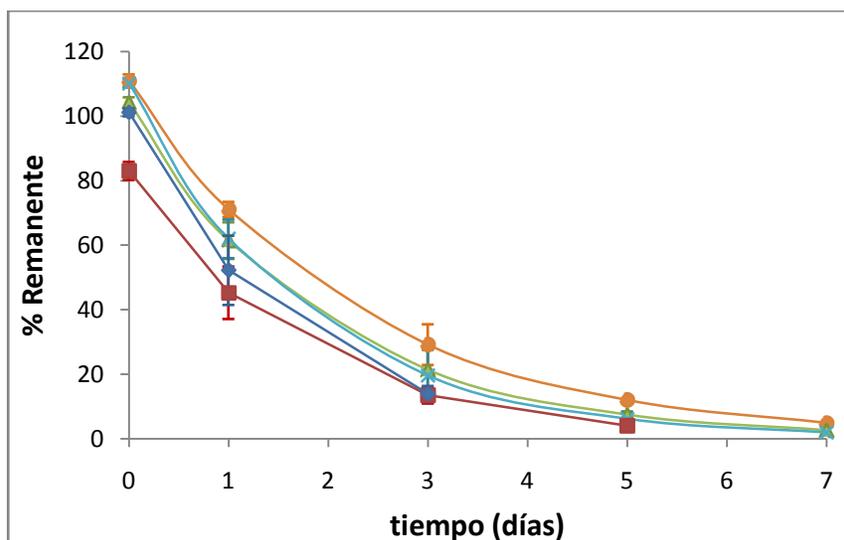


Figura 33. Degradación de Malatión en la matriz 100:0 (●), 75:25 (▲), 50:50 (×), 25:75 (■) y 0:100 (◆)

La velocidad en la degradación disminuyó de acuerdo con la proporción de compost inmaduro presente en la matriz, de esta manera, la micro-flora de las matrices 100:0, 75:25 y 50:50 tardaron entre 5 y 7 días para degradar el Malatión a porcentajes mayores de 90%, mientras que en el caso de la micro-flora de las matrices 25:75 y 0:100, éstas tardaron menos de 5 días para remover la misma cantidad de pesticida.

Los tiempos de vida media en el suelo del Malatión, Metil Paratión y Clorpirifos reportados obedecen a valores de: 3 días a 7 días (Newhart, 2006; West Nile Virus Control, 2005), 10 días a 2 semanas (EXTONET, 1995) y 60 a 120 días (Beyond Pesticides, 2000; Kamrin, 1997), respectivamente. Por lo tanto, comparando estos valores con los resultados logrados en las matrices evaluadas en el presente estudio, se puede deducir que éstas presentaron velocidades de degradación mayores para el Malatión y el Metil Paratión, ya que la vida media de estos pesticidas fueron inferiores a 3 días para el Malatión y a 7 días para el Metil Paratión en todas las matrices. Para el caso del Clorpirifos, el tiempo de vida media para el suelo de Moravia (30 días) se encontró por debajo del rango reportado en la literatura, y para el compost no

pudo determinarse este valor, ya que los microorganismos de esta matriz no mostraron capacidad para degradarlo.

Al comparar la actividad microbiológica de las matrices con los resultados de degradación obtenidos para los tres pesticidas evaluados, se puede observar que la capacidad de las matrices para degradar los pesticidas no se asoció directamente con la capacidad de mineralización. Esto fue evidenciado en las matrices cuyo principal componente fue el compost inmaduro, en las que, a pesar de mostrar mayor actividad microbiológica, no se presentó mejor capacidad para degradar el Clorpirifos, Malatión o Metil Paratión; por el contrario, estos pesticidas fueron degradados a menor velocidad que en las matrices con mayores contenidos de suelo de Moravia.

Estos resultados no están de acuerdo con lo reportado por muchos autores con respecto al potencial biorremediador del compost (Barker & Bryson, 2002; Chaney, et al., 2001; Keener, et al., 2001; Stratton & Rechcigl, 1998; Barker, 1997; Fogarty & Tuovinen, 1991), los cuales han comentado que el compost es una matriz con gran capacidad enzimática para degradar una amplia variedad de compuestos orgánicos como hidrocarburos, metales pesados, compuestos orgánicos volátiles, residuos explosivos, y plaguicidas como: Metil Clorpirifos, Malatión, Lindano y Endosulfan (Garrido et al., 2005), Metil Paratión (World Health Organization -WHO-, 1993) 2,4-D y Disulfón (Fogarty & Tuovinen, 1991).

De acuerdo con los reportes sobre las fases que involucra el proceso de compostaje y su potencialidad para degradar plaguicidas, los primeros 30 días de compostación son el tiempo en el cual se realiza la mayor parte de la degradación de los pesticidas (Barker & Bryson, 2002), por lo que era de esperarse que los plaguicidas fueran degradados durante el tiempo de evaluación llevado a cabo en este estudio (30 días), sin embargo, aunque el Malatión y el Metil paratión si presentaron gran disminución de su concentración en las matrices ricas en compost, el clorpirifos presento altos porcentajes remanentes durante todo el período de estudio.

Singer y Crohn (2002) argumentan que una de las razones que hacen al compost una matriz potencial para tratamientos biotecnológicos es la baja especificidad de algunas de las enzimas extracelulares generadas en su fase activa, que pueden reaccionar con muchos compuestos químicos diferentes; por lo tanto, si la enzima excretada por un microorganismo encuentra a un pesticida antes de reaccionar con su sustrato objetivo (celulosa, hemicelulosa, ligninina, etc.) ésta puede reaccionar con él, convirtiéndolo en un compuesto

menos tóxico o peligroso. De acuerdo con Fritsche y Hofrichter (2001) este cometabolismo juega un rol significativo en la degradación de pesticidas en compost.

Otro factor importante a considerar para explicar los resultados observados, es el tipo de microorganismos presentes en las matrices con altos contenidos de compost inmaduro. De acuerdo con Moreno et al. (2008), Stoffella (2005) y Singer y Crohn (2002) en los compost con pocos días de activación –como el utilizado en este estudio- hay una gran diversidad y riqueza microbiana, pero estas poblaciones comienzan por transformar los compuestos que presentan moléculas más simples, como los carbohidratos y lípidos de cadenas cortas, dejando las moléculas con mayor complejidad a microorganismos que aparecen en etapas más avanzadas del proceso de maduración, como los actinomicetos, quienes aparecen principalmente en la etapa termófila, y junto con los hongos lignolíticos, han sido reconocidos por su potencial enzimático para la degradación de xenobióticos (Semple, Reid, & Fermor, 2001). Fritsche y Hofrichter (2001) también resaltan la importancia de estos sistemas enzimáticos en la degradación cometabólica de contaminantes persistentes, y afirman que son en forma particular del dominio de los hongos basidiomicetos, por lo cual, estos hongos están ganando especial importancia y un estudio más profundo sobre sus capacidades.

Por otra parte, Vidali (2001) y DEQ (1998), exponen que el número de microorganismos presentes en un suelo –o matriz-, no es un indicador de la capacidad de degradación de un contaminante, ya que sólo una fracción del total de la comunidad microbiana puede metabolizar un determinado compuesto, y una gran mayoría de organismos utiliza otras fuentes de carbono que estén presentes.

Las condiciones de disponibilidad y tipo de nutrientes presentes en cada matriz son otro factor de importancia resaltado por varios autores en la degradación microbiana, sobre todo cuando ésta se realiza por mecanismos cometabólicos.

A pesar de las altas concentraciones de materia orgánica disponibles en las matrices ricas en compost –100:0, 75:25 y 50:50-, que se esperaría proporcionaran nutrientes y enzimas adecuadas para favorecer la transformación de los pesticidas por cometabolismo, este mecanismo no mostró ser una forma adecuada de transformación de los pesticidas. Mientras que en las matrices con mayor contenido de suelo de Moravia, debido a que las fuentes de carbono corresponden a materia orgánica muy estabilizada, los

pesticidas se convierten en un abastecimiento directo de nutrientes y por lo tanto, con grandes posibilidades de degradación catabólica, utilizándolos como fuente de carbono, nutrientes y energía. Fogarty y Tuovinen (1991), afirman que la degradación activa de una molécula de pesticida es un evento intracelular, y por lo tanto el ingreso a la célula es un prerequisite necesario para su destrucción. Por su parte, Karpouzas y Singh (2006), afirman que gran variedad de los microorganismos del suelo poseen la capacidad de utilizar los pesticidas organofosforados como fuente directa de carbono y fósforo. Anwar (2009), Castañeda (2005) y Singh et al. (2004), lograron aislar microorganismos de diferentes suelos, entre ellos: bacterias heterótrofas, actinomicetos y hongos, con capacidad para utilizar el Clorpirifos y el TCP como fuentes directas de carbono y fósforo. Xie et al. (2009), Zeinat et al. (2008), Mosquera (2007) e Imran et al. (2004) por su parte, aislaron microorganismos en medios con salinos con la adición de Malatión como únicamente de carbono y encontraron que éstos fueron capaces de degradar Malatión para el crecimiento de su biomasa, mientras que Ortiz et al. (2001), Cui et al. (2001) y Keprasertsup et al. (2001) logrando aislar microorganismos que fueron capaces de utilizar Metil Paratión como única fuente de carbono, para el mismo fin.

Leys et al., (2005), Bastiaens et al., (2000), comentan que la degradación de los contaminantes depende principalmente del crecimiento de los microorganismos adecuados, que poseen las habilidades necesarias para degradar estos contaminantes, mientras que Degens et. al. (2000), afirman que los suelos contaminados con uno o varios compuestos tóxicos, son un hábitat que alberga una amplia variedad de microorganismos con estas características específicas de degradación, como sucedería en este caso con el suelo de Moravia.

Estas capacidades metabólicas han sido un tema de gran estudio, sobre todo en lo que respecta a pesticidas Organofosforados y Carbamatos, y se han explicado bajo la definición de degradación acelerada; la cual según Ermakova et al. (2008), Shapir et al. (2007), Cabrera et al. (2005), Karpouzas et al. (2004), McLaren y Bollag (1993) y Racke y Coats (1990), es consecuencia de la adaptación y mejoramiento del catabolismo microbiano en diferentes tipos de microorganismos que han sido expuestos a repetidas aplicaciones de un mismo pesticida o de compuestos muy relacionados estructuralmente, lo que produce el aumento en las velocidades de degradación de estos compuestos; éste es un

mecanismo evidenciado en varios suelos, y ha sido descrito por autores como: Arbeli y Fuentes (2007), Karpouzias y Singh (2006) y Racke y Coats (1990).

Lo anterior es un aspecto importante a tener en cuenta para explicar la mayor eficacia del suelo de Moravia para degradar los tres pesticidas objeto de estudio en el presente trabajo, ya que este suelo, debido a su origen, ha estado en presencia de gran variedad de compuestos químicos por largos periodos de tiempo, presentándose susceptibilidad en los microorganismos que lo habitan a desarrollar mejoras en sus rutas degradadoras; mientras que en el caso del compost, ésta fue una matriz joven generada a partir de un sustrato libre de compuestos químicos contaminantes –residuos de alimentos–, por lo que los microorganismos de esta matriz aun estaban en proceso de adaptación y creación de mecanismos catabólicos moleculares para la obtención de nutrientes.

Una propiedad muy importante para el desarrollo de capacidades aceleradas de degradación es la biodegradabilidad de los compuestos, según Shapir et al. (2007) y Papini y De Andréa (2001), el hecho de que un pesticida como los Carbamatos sea biodegradable induce a la selección de las poblaciones microbianas habilitadas para utilizarlo como fuente de nutrientes y energía. Según Fritsche y Hofrichter (2001), Digrak y Kazanici (2001), DEQ (1998), (Matsumura, 1988) y son estas poblaciones adaptadas las que promueven la rápida degradación de los contaminantes. Debido a que los pesticidas organofosforados evaluados en este estudio, han sido catalogados como productos poco persistentes y susceptibles a degradación microbiana (Dorronsoro & García, 2004; Bavcon et al., 2003; Digrak & Kazanici, 2001; WHO, 1993), pueden haber inducido a la selección de poblaciones microbianas del suelo de Moravia con capacidades catabólicas adquiridas ó mejoradas –debido procesos catabólicos utilizados anteriormente para la destrucción de contaminantes– siendo capaces de utilizarlos como fuentes de nutrientes.

Es de resaltarse las similitudes en las velocidades de degradación del Malatión y Metil Paratión alcanzadas por las matrices 25:75 y 0:100 (Figuras 32 y 33), sugiriendo el desarrollo de degradación acelerada en la matriz 25:75 a partir de la mezcla con el suelo de Moravia, esto es soportado por Marvin et al. (2006), quienes evaluaron la degradación acelerada de Iprodiól en suelo, y reportaron que los suelos que no presentaban degradación acelerada pudieron adquirir esta habilidad luego de realizarse mezclas en una relación 1:3 (v:v) de éstos suelos con suelos que si presentaban el fenómeno; y comentan que la

actividad de la microflora responsable de esta adaptación, depende de las características físico-químicas del suelo. Por su parte Singh et al. (2003), indicaron que el pH es una propiedad del suelo relacionada con esta habilidad catabólica, debido a que en sus estudios encontraron que la capacidad de degradación acelerada para el pesticida Fenamifos fue transferida desde un suelo de Australia a varios suelos del Reino Unido, pero solo aquellos con un pH alto (>6.7) fueron capaces de adquirir esta capacidad por extendidos periodos de tiempo; mientras que suelos con pH's inferiores a 6.7 no retuvieron esta capacidad aún cuando fueron contaminados con tratamientos repetidos de Fenamifos. Debe tenerse en cuenta que para el presente estudio tanto el suelo de Moravia como el compost presentaron valores de pH superiores a 7.0, por lo que podría pensarse que el suelo de Moravia puede haber desarrollado degradación acelerada desde antes de ser recolectado y haberla mantenido hasta el momento de la realización de los ensayos en laboratorio.

Ajaz et al. (2009), Zeinat et al. (2008), Shapir et al. (2007), Schimidt y Baron (2003) y Fogarty y Touvinen (1991), han indagado en sus estudios sobre los procesos evolutivos de los microorganismos para acceder a nuevas rutas de degradación de xenobióticos, acelerando su desaparición de los suelos; y mencionan que esto se encuentra directamente relacionado con los plásmidos y su función en la transferencia de genes con la información necesaria para generar las enzimas degradadoras de los contaminantes por los microorganismos, Ghosal et al. (1985) resaltaron las bacterias gram negativas como un grupo de microorganismos con grandes capacidades en este sentido, y Glazer y Nikaidö (2007), Van der Meer y Sentchilo (2003) y Top y Springael (2003), afirman que incluso se puede presentar transferencia entre microorganismos de diferentes especies. Algunos microorganismos aislados en diversos estudios con capacidad para degradar algunos pesticidas de un mismo grupo, involucran los géneros: *Flavobacterium* sp. (Singh B.K., 2006), *Pseudomonas* sp. y *Arthrobacter* sp. (Shapir et al., 2005; Cho & Tiedje, 2000), *Sphingomonas* (Karpouzas et al., 2005) y *Bacillus* (Zeinat et al., 2008), e incluso se han aislado microorganismos capaces de degradar pesticidas de diferentes grupos químicos, como organofosforados y carbamatos (Digrak & Kazanici, 2001; Fukuto, 1990) destacándolos como microorganismos con grandes potencialidades para tratamientos biotecnológicos en suelos y aguas residuales.

(Fogarty & Tuovinen, 1991) argumentan que muchas veces la incapacidad para degradar pesticidas puede deberse a pérdidas físicas de plásmidos, debido a la falta de presión selectiva cuando los organismos están en presencia de sustratos alternativos. Este argumento puede explicar en cierta medida los resultados hallados para las matrices con altos contenidos de compost –100:0, 75:25 y 50:50–, y podría suceder que esta situación no permitiera el desarrollo de degradación acelerada en estas matrices, sobre todo para la degradación de Clorpirifos, que no mostró indicios de degradación microbiana en las matrices 100:0 y 75:25.

Por lo tanto, de acuerdo con (Fogarty & Tuovinen, 1991) y según lo encontrado en este estudio, es necesario establecer qué fuentes de carbono presentes en una fase activa del proceso de compostaje ejercen control regulatorio sobre las enzimas relevantes para la degradación de residuos de pesticidas.

6.4.2.3 Efecto cruzado de degradación

- **Matriz 100:0 (Compost:Suelo)**

Los estudios de tolerancia determinados mediante pruebas de mineralización en las matrices mostraron, que en el caso de la matriz 100:0 los modelos se ajustaron a una representación lineal de la mineralización con el tiempo, con producciones diarias de 3.35 y 2.65 mgCO₂/día-g matriz, y valores acumulativos de 104 mg/g y 82 mg/g para el ensayo contaminado y sin contaminar, respectivamente (P<0.005) (Figura 34).

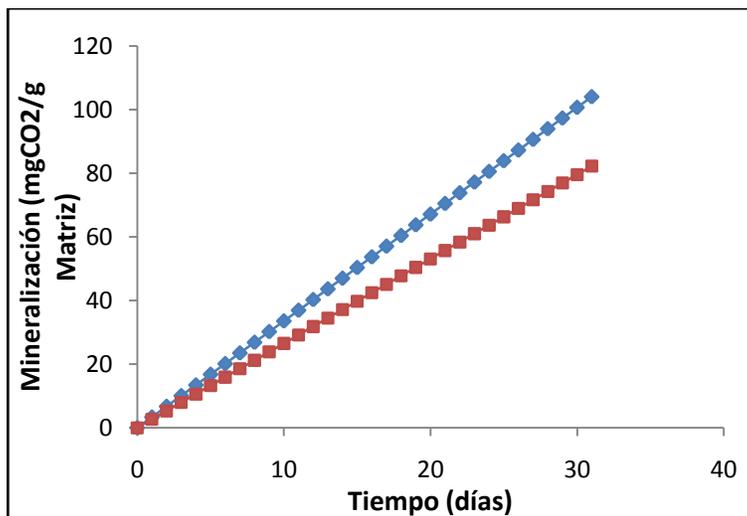


Figura 34. Mineralización en la matriz 100:0 sin adición de pesticidas (■) y con adición de pesticidas (◆)

En la comparación de la degradación de los pesticidas en la matriz 100:0, se observó una gran diferencia en las velocidades de degradación del Malatión, Metil Paratión y Clorpirifos. Siendo el Malatión el pesticida con mayor velocidad de degradación a porcentajes superiores al 90% para el día 5. En el caso del Metil Paratión, presentó una mayor velocidad de degradación durante los primeros 15 días de cultivo, alcanzando valores de degradación del 70% y lográndose luego de 30 días de cultivo valores de degradación de 90%, similares a los obtenidos con Malatión. Para el Clorpirifos sin embargo, los resultados mostraron que en el compost inmaduro, este compuesto no es degradado y los valores obtenidos luego de 30 días de cultivo no sobrepasaron el 5% de remanente (Figura 35).

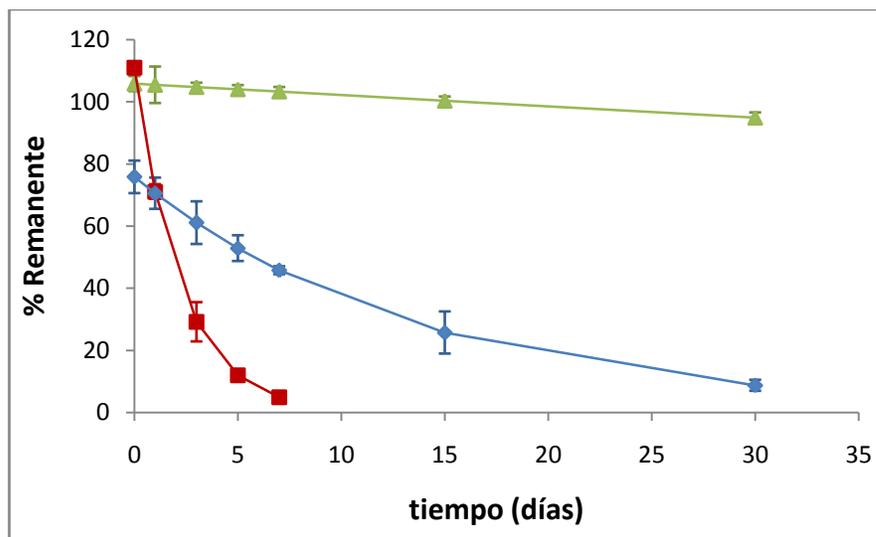


Figura 35. Comparación de la degradación del Clorpirifos (▲), Metil Paratión (◆) y Malatión (■) en la matriz 100:0

- **Matriz 75:25 (Compost:Suelo)**

La tolerancia de los microorganismos a los pesticidas en la matriz 75:25 (C:S) presentó una relación lineal con el tiempo ($P < 0.005$), y no mostró diferencia significativa entre el ensayo contaminado y el ensayo sin contaminar, con valores de mineralización de 82.6 y 81.1 $\text{mgCO}_2/\text{día}$ y velocidades de 2.61 y 2.66 $\text{mg CO}_2/\text{día-g}$ para el día final de muestreo (día 30), respectivamente (Figura 36).

Comparando la degradación del Clorpirifos, el Malatión y el Metil Paratión en la matriz 75:25, se observó que esta matriz fue capaz de degradar Malatión y Metil Paratión a porcentajes remanentes inferiores al 10 % en 6 y 30 días,

respectivamente. Por su parte, el Clorpirifos no mostró degradación microbiana en esta matriz, obteniéndose durante todo el tiempo de evaluación porcentajes remanentes de Clorpirifos superiores al 85% de la concentración inicial (Figura 37).

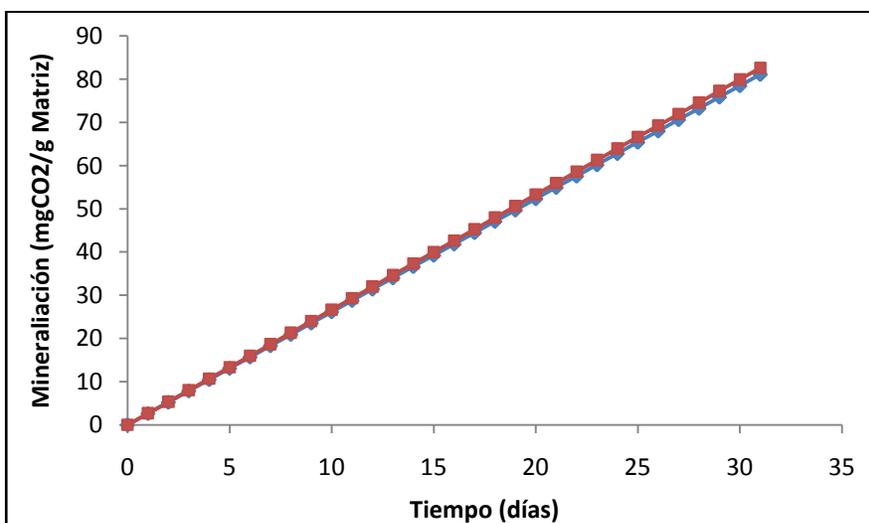


Figura 36. Mineralización en la matriz 75:25 sin adición de pesticidas (■) y con adición de pesticidas (◆)

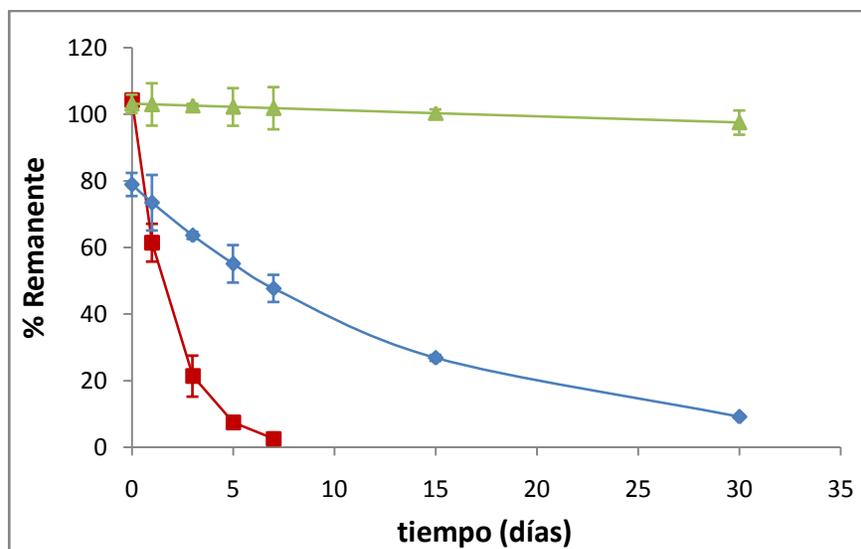


Figura 37. Comparación de la degradación del Clorpirifos (▲), Metil Paratió (◆) y Malatió (■) en la matriz 75:25

• **Matriz 50:50 (Compost:Suelo)**

Los pesticidas no presentaron inhibición o efectos tóxicos sobre los microorganismos en la matriz 50:50. La mineralización en función del tiempo se ajustó a un modelo lineal en ambos ensayos ($P < 0.005$), cuya pendiente o velocidad de mineralización fue de 2.67 y 2.60 mg CO₂/g matriz – día y la producción de CO₂ fue de 82.9 mg CO₂/gramo-matriz de 80.56 mg CO₂/gramo-matriz en el ensayo sin contaminar y el ensayo contaminado, para el último día de muestreo (Figura 38).

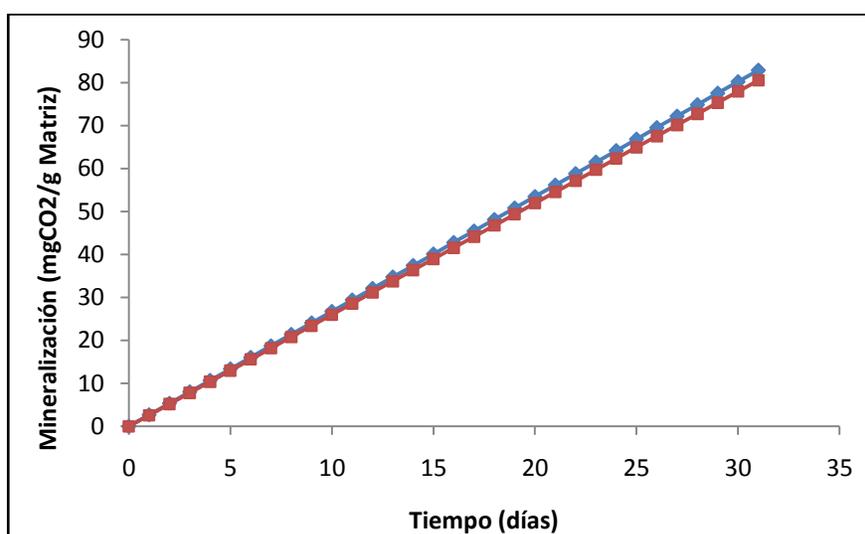


Figura 38. Mineralización en la matriz 50:50 sin adición de pesticidas (■) y con adición de pesticidas (◆)

En esta matriz el Malatión fue degradado en más del 90% en los primeros 5 días de cultivo, el Metil Paratión presentó su mayor degradación durante los primeros 15 días hasta un valor remanente del 85%, degradándose un 10% adicional durante los siguientes 15 días. El Clorpirifos presentó menor degradación, sin embargo se presentó disminución de su concentración, aunque a muy baja velocidad, alcanzando un 83% remanente para el día 30 (Figura 39).

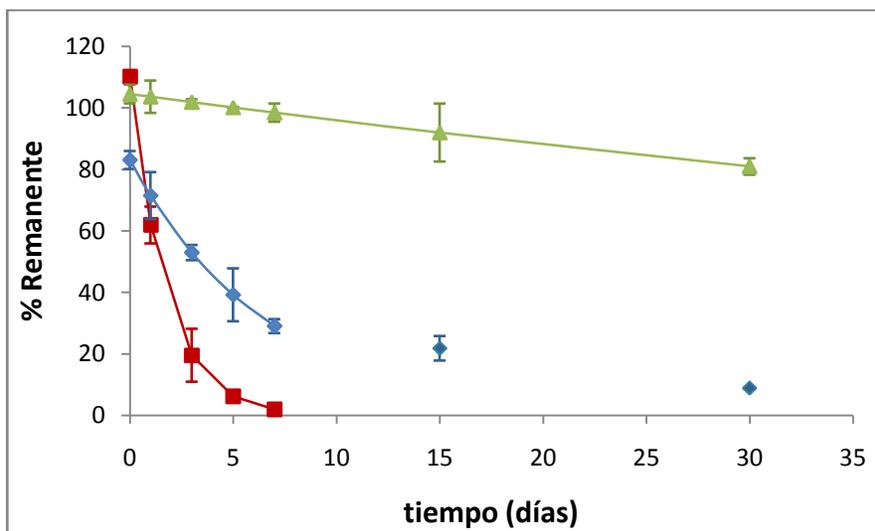


Figura 39. Comparación de la degradación del Clorpirifos (▲), Metil Paratión (◆) y Malatión (■) en la matriz 50:50

• **Matriz 25:75 (Compost:Suelo)**

La mineralización en la matriz 25:75 presentó baja diferencia entre el ensayo contaminado y el ensayo sin contaminar, lográndose valores de 65.5 y 60.3 mg CO₂/g matriz, e incrementos de 2.11 y 1.95 mgCO₂/g-día, respectivamente (Figura 40). Ambos modelos se ajustaron a una relación lineal (P<0.005) entre la producción de CO₂ y tiempo de cultivo.

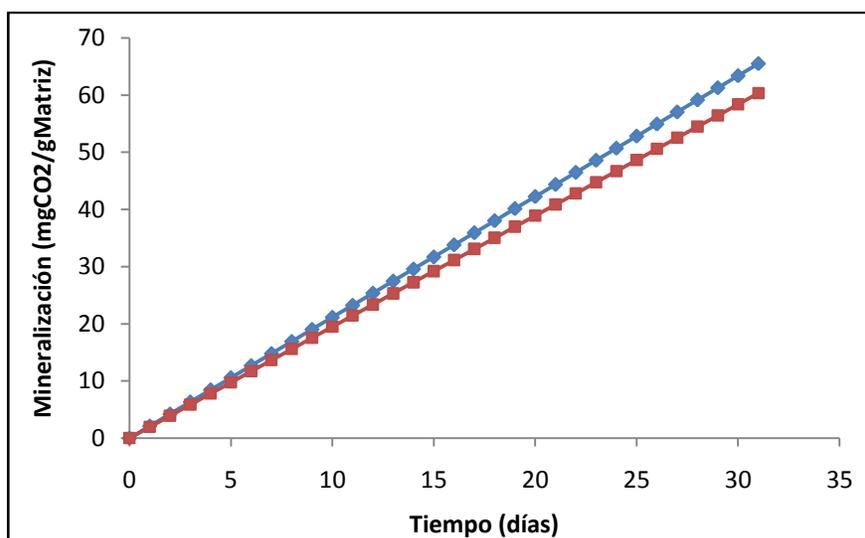


Figura 40. Mineralización en la matriz 25:75 sin adición de pesticidas (■) y con adición de pesticidas (◆).

Comparando la degradación de los pesticidas en esta matriz, se observó una mayor velocidad de degradación del Malatión, hasta un remanente superior al 90%, en un tiempo inferior a 5 días, mientras que el Metil Paratión tomó 15 días para ser degradado hasta el 6% de su concentración inicial, y 30 días para llegar a un valor de 4.5%. El Clorpirifos fue degradado a menor velocidad que estos dos últimos, pero a mayor velocidad que otras matrices con mayor contenido de compost, obteniéndose valores remanentes de 69.5% para el día 30 de evaluación (Figura 41).

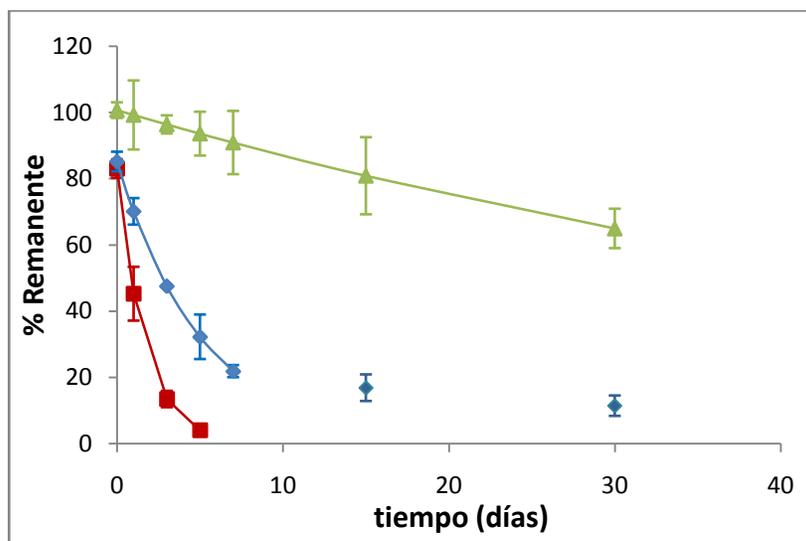


Figura 41. Comparación de la degradación del Clorpirifos (▲), Metil Paratión (◆) y Malatión (■) en la matriz 25:75

- **Matriz 0:100 (Compost:Suelo)**

La mineralización en ambos ensayos presentó una relación lineal ($P < 0.005$) con el tiempo, y no mostró efecto tóxico alguno sobre la micro-flora del suelo de Moravia, ya que se encontró igual producción de CO_2 ($22 \text{ mg CO}_2/\text{g matriz}$) y velocidad de mineralización (0.71 mg/g matriz), en el ensayo contaminado y sin contaminar (Figura 42).

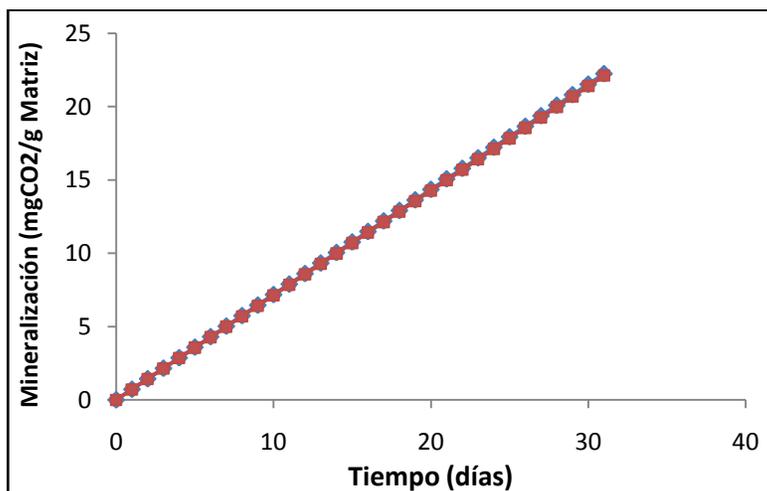


Figura 42. Mineralización en la matriz 0:100 sin adición de pesticidas (■) y con adición de pesticidas (◆).

Al comparar la degradación de Clorpirifos, Malatión y Metil Paratión en el suelo de Moravia se encontró que la degradación del Malatión ocurrió en un tiempo inferior a 5 días para alcanzar valores remanentes inferiores al 10%. Por su parte, el Metil Paratión fue degradado durante los primeros 15 días hasta un porcentaje remanente de 8.7%, presentando una degradación muy reducida durante los 15 días siguientes, hasta el 4.5% de la concentración inicial. El Clorpirifos se degradó a menor velocidad que el Malatión y el Metil Paratión en esta matriz, pero sin embargo, fue aquí donde logró su mayor velocidad de degradación, alcanzando valores de degradación superiores al 50% para el último día de evaluación (Figura 43).

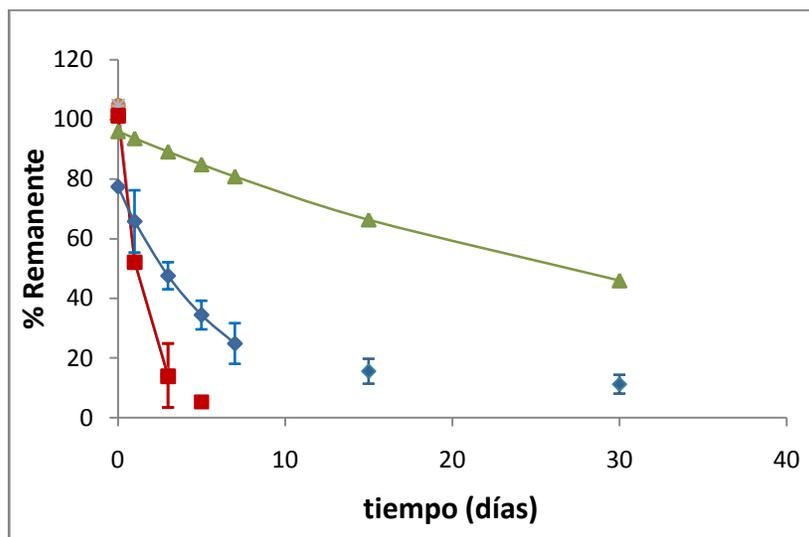


Figura 43. Comparación de la degradación del Clorpirifos (▲), Metil Paratión (◆) y Malatión (■) en la matriz 0:100

En todas las matrices evaluadas, el orden de degradación de los pesticidas fue: Malatión, con un porcentaje de degradación superior al 90% en un tiempo de 4 a 7 días, seguido por el Metil Paratión, con porcentajes de degradación superiores al 90% en un tiempo de 15 a 30 días, y por último el Clorpirifos, que alcanzó una máxima degradación del 63% en un periodo de 30 días. Las matrices con mayor contenido de suelo (25:75 y 0:100) fueron las que presentaron las mayores velocidades de degradación para los tres pesticidas evaluados.

Algunos autores han evaluado el efecto cruzado entre pesticidas, así por ejemplo, Morel et al. (1996) y Horng y Kaufman (1987), determinaron el efecto cruzado entre Carbamatos; Mitchell y Cain (1996), lo evaluaron entre Dicarboximidias y Warton et al. (2003), lo determinaron entre Isotiocianatos.

En este caso específico de organofosforados, Singh et al. (2005), evaluaron la degradación cruzada entre los pesticidas organofosforados Clorpirifos, Fenamifos, Diazinon, Fonofos, Etoprofos, Cadusafos, Coumafos, Isasofos y Paratión. En su estudio, usaron dos suelos que presentaban degradación acelerada para el Fenamifos, y un suelo que presentaba degradación cruzada para el Clorpirifos. Los resultados mostraron que no se presentó degradación cruzada en suelos con capacidad para degradar Fenamifos, sin embargo, los suelos con capacidad para degradar Clorpirifos presentaron degradación cruzada con los demás pesticidas organofosforados evaluados. En sus análisis,

los autores atribuyen este efecto a la similitud de las estructuras químicas entre los pesticidas evaluados. Estos reportes concuerdan con lo encontrado en este estudio, en el cual, el Clorpirifos mostró ser el pesticida más recalcitrante ante procesos de degradación cruzada entre organofosforados evaluados, debiéndose esto al efecto inhibitorio que su principal producto de degradación, el TCP, presenta sobre la microflora, lo que según Castañeda (2005) y Racke et al. (1990), lo han hecho un pesticida difícil descomposición por actividad microbiana en suelos.

Aunque el estudio realizado por Singh et al. (2005), utilizó suelos que habían sido contaminados consecutivamente con Clorpirifos y Fenamifos por varios años; Singh et al. (2003), afirman que la degradación acelerada también puede presentarse sin un acondicionamiento previo de la microflora a los pesticidas. Según indican el DEQ (1998) y Tarradellas et al. (1997), este efecto de degradación cruzada incluso puede ser inducido por la similitud de un compuesto sintético (como los pesticidas) con otro que los microorganismos degradan naturalmente o que han degradado antes.

Roger y Bhuiyan (1995), comenta que cuando dos o más pesticidas son aplicados simultáneamente, uno puede inhibir los microorganismos responsables de la degradación de los otros, o modificar las condiciones físico-químicas en una forma tal que reduce su degradación. Esto fue observado con *Clostridium rectum*, microorganismo con capacidad para degradar Lindano (γ -BHC) aislado de un cultivo de arroz, cuyo crecimiento y capacidad para degradar Lindano fueron inhibidos por la presencia de Pentaclorofenol (Ohisa & Yamaguchi, 1978). Similarmente, Benomil aplicado en combinación con Paratión incrementó la persistencia del Paratión en el suelo por inhibición de la hidrólisis y la reducción del grupo nitro, reacciones ocasionadas por la actividad microbiana del suelo. Destacando que el Paratión generalmente presenta corta vida en el suelo (Sudhakar-Barik & Sethunathan, 1979).

Au (1980), encontró en un ecosistema modelado, que la combinación de Metil Paratión con Atrazina sustancialmente disminuyó la degradación de ambos compuestos en las raíces de arroz, e incrementó su persistencia en agua y suelo.

Por su parte, Singh, Walker & Wright (2002), evaluaron el efecto de la adición conjunta de los pesticidas Clorpirifos, Fenamifos y Clorotalonil sobre su degradación, reportando que la aplicación conjunta de Fenamifos y Clorotalonil suprimió ambas velocidades de degradación. Cuando se aplicó Clorotalonil,

Clorpirifos y Fenamifos, la presencia de Clorotalonil redujo la velocidad de degradación de Clorpirifos y Fenamifos. Y la vida media de Clorotalonil se extendió en presencia del Clorpirifos. Además de esto, los parámetros microbianos evaluados en suelo (actividad enzimática y biomasa microbiana total) fueron estables en los cultivos libres de pesticidas durante 90 días, pero resultaron adversamente afectados por la presencia de Clorotalonil en el suelo. El efecto de Fenamifos y Clorpirifos sobre las características microbianas del suelo fue insignificante.

Con respecto a la tolerancia de los microorganismos a los pesticidas organofosforados, en el presente estudio no se evidenció efecto inhibitorio sobre la micro-flora de las matrices durante el tiempo de evaluación, ya que en ningún tratamiento se presentaron valores de mineralización superiores en los ensayos sin contaminar con los pesticidas al compararlos con los ensayos contaminados. Esto es corroborado por Fang et al. (2009), Mosquera (2007), Digrak y Kazanici (2001), Digrak y Özçelik (1998) y Kearney y Kellogg (1985), quienes han estudiado el efecto de gran variedad de pesticidas de diferentes categorías químicas, entre ellos organofosforados, sobre la micro-flora del suelo; y afirman que los tratamientos con pesticidas, generalmente no presentan efectos inhibitorios sobre la micro-flora total de los suelos, excepto en aquellos grupos de microorganismos para los cuales ha sido aplicado el pesticida, como es el caso de la inhibición de hongos por aplicación de fungicidas.

7 CONCLUSIONES

El método de extracción empleado, utilizando acetato de etilo como solvente y aplicando agitación mecánica y con ultrasonido, permitió porcentajes de recuperación iniciales superiores a 85% para los pesticidas evaluados.

Los pesticidas evaluados presentaron mayor retención en el suelo que en el compost. Y a su vez, la retención dentro de cada matriz fue menor para el Clorpirifos, que para el Malatión y el Metil Paratión, siendo este último el pesticida que más se adsorbió a las matrices.

La adición de fósforo en una relación 100:1 (C:P) y fertilizante comercial con relación 20-10-15 (N, P, K) sobre la matriz 25:75 (C:S), no mostraron aumentos significativos en la velocidad de degradación de los pesticidas con respecto a la misma matriz sin adición de nutrientes.

Las matrices que presentaron mayores velocidades de degradación de Malatión, Metil Paratión y Clorpirifos fueron aquellas con mayor contenido de suelo de Moravia, 25:75 y 0:100 (C:S). El Malatión fue degradado en un tiempo comprendido entre 4 y 7 días de incubación en los ensayos, el Metil Paratión presentó una degradación superior al 90% entre los 15 y 30 días de evaluación, y el Clorpirifos no alcanzó a ser degradado en más del 63% de su concentración inicial, en ningún tratamiento.

El Suelo de Moravia (0:100) y las matrices 25:75 y 50:50 (C:S) presentaron capacidad para degradar Malatión, Metil Paratión y Clorpirifos. El Compost y la matriz 75:25 (C:S) presentaron capacidad para degradar solo Malatión y Metil Paratión. El Clorpirifos no presentó degradación significativa al compararlo con los controles estériles.

El Compost fue la matriz más activa microbiológicamente, con producciones de CO₂ alrededor de 4 veces la producción en el suelo. Con ninguno de los tratamientos evaluados se presentó evidencia de inhibición de la actividad microbiana por la adición de los pesticidas.

La actividad microbiana no presentó relación directa con la capacidad de degradación del Clorpirifos, Malatión o Metil Paratión en las matrices evaluadas.

8 RECOMENDACIONES

En vista que el compost inmaduro con 5 días de cultivo no mostró capacidad de potenciar la degradación de los pesticidas organofosforados, sería adecuado evaluar diferentes tiempos de maduración de compost para hallar poblaciones microbianas en sucesiones más avanzadas, que puedan tener mayor capacidad para degradar estos compuestos.

Identificar productos y rutas de degradación de los pesticidas, usando el suelo de Moravia, para identificar los mecanismos de degradación empleados por los microorganismos de esta matriz.

Igualmente, es necesaria la identificación de los microorganismos o poblaciones microbianas encargadas de degradar estos pesticidas, con el fin de evaluar alternativas de bioaumentación o su uso en otras técnicas para el tratamiento in situ de pesticidas, como el tratamiento y acondicionamiento de compost o enmiendas con estos microorganismos para la detoxificación de suelos agrícolas que contienen alguno o varios de los pesticidas organofosforados evaluados en el presente estudio.

Es pertinente evaluar el efecto de la concentración de los pesticidas en la degradación cruzada, para determinar efectos inhibitorios de la biomasa, o afectaciones en la persistencia de pesticidas en suelo, por adición conjunta o subsecuente de varios pesticidas.

Analizar las propiedades físicas, químicas y microbiológicas del suelo, una vez realizado el tratamiento de biorremediación, con el fin de conocer el estado en el cual queda el suelo, e implementar las técnicas agropecuarias pertinentes para mejorar su productividad y crecimiento de las poblaciones microbianas benéficas para los cultivos.

Variar las dosis de fósforo para corroborar efectos inhibitorios en la degradación de pesticidas organofosforados, o en caso contrario, si puede potenciarse la degradación de estos compuestos bajo alguna relación C:P preestablecida en una matriz.

9 BIBLIOGRAFÍA

Abhilash, P. C., Singh, N. (2008). Multiple Residue Extraction for Organochlorine Pesticides in Medicinal Plants. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 81 (6), 604-607.

ACS Symposium series. (1986). *Evaluation of pesticides in groundwater*. Washington, DC: Series 315.

Agencia de Noticias UN. (2008). Recuperación integral ambiental en El Morro de Moravia. Recuperado el 14 de marzo de 2010, de: <http://www.mineducacion.gov.co/cvn/1665/article-174961.html>

Agnihotri, N. (1978). The degradation of pesticides in soil. En Edwards, G. Veeresh, & H. Krueger, *Pesticides Residues in the environment in India* (págs. 343-356). Bangalore: University of Agricultural Sciences.

Ajaz, M., Jabeen, N., Ali, A., & Rasool, H. (2009). Split Role of Plasmid Genes in the Degradation of Chlorpyrifos by Indigenously Isolated *Pseudomonas putida* MAS-1. *Pak. J. Bot*, 41 (4), 2055-2060.

Akhtar, S., Shaheen G., S., & Hasan, N. (2004). Persistence of Chlorpyrifos and Fenpropathrin Alone and in Combination with Fertilizers in Soil and Their Effect on Soil Microbes. *Pakistan Journal of Botanic*, 863-870.

Albert, L. (1998). Los plaguicidas persistentes y sus efectos a largo plazo. *II Simposio Internacional Sobre Agricultura Sostenible*. México D.F.

Alcalá del Olmo, L. (1995). Ensayos para la caracterización físico-química de las muestras en contaminación de suelos. En Instituto Tecnológico de España, *Contaminación y depuración de suelos*. Madrid.

Alcaldía de Medellín. (2006). Intervención integral del barrio Moravia y su área de influencia. Recuperado el 15 de Marzo de 2010. Versión Web: http://www.medellin.gov.co/alcaldia/jsp/modulos/I_gestion/moravialogros.jsp

Alexander, M. (1999). *Biodegradation and Bioremediation*. London: Academic Press.

Antunes, P., Viana, P., Vinhas, T., Capelo, J.L., Rivera, J., Gaspar, E.M.S.M. (2008). Optimization of pressurized liquid extraction (PLE) of dioxin-furans and dioxin-like PCBs from environmental samples. *Talanta*, 75 (4), 916-925.

Anwar, S., Liaquat, F., Khan, Q. M., Khalid, Z. M., & Iqbal, S. (2009). Biodegradation of chlorpyrifos and its hydrolysis product 3,5,6-trichloro-2-pyridinol by *Bacillus pumilus* strain C2A1. *Journal of Hazardous Materials*, 400 - 405.

Arana, V.A., Paez, M.I. (2005). Determinación de residuos de insecticidas organofosforados en aguas de la Laguna de Sonso mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas. *Revista Universidad de Caldas*, Julio – Diciembre. 107 – 119.

Arbeli, Z., & Fuentes, C. (2007). Accelerated biodegradation of pesticides: An overview of the phenomenon, its basis and possible solutions; and a discussion on the tropical dimension. *Crop protection*, 26 (12), 1733-1746.

Ardila, S. (1995). *Los Agroquímicos y la Relación Agricultura y Medio Ambiente*. Bogotá: Universidad de los Andes. Fac. de Economía.

Área Metropolitana del Valle de Aburrá (AMVA). (2006). Formulación del plan de gestión integral de residuos sólidos regional del valle de aburrá. Revisado el 6 de Marzo de 2010, de: <http://www.corantioquia.gov.co/sitio/images/stories/PGIRS/IIANTECEDENTES/AMVA325ANTECEDENTES.pdf>

Área Metropolitana del Valle de Aburrá (AMVA). (2007). Plan de Gestión Integral de Residuos Sólidos (PGIRS Regional). Presentación. Revisado el 17 de Marzo de 2010, de: <http://www.tecspar.org/Documentos/pgirsregional.pdf>.

Arroyo, A.G. (2002). Producción de enzimas pectinasas por actinomicetos en cultivo sumergido utilizando pectina y cáscara de naranja. Tesis Maestría. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima.

Ashley, K., Andrews, R. N., Cavazos, L., Demange, M. (2001). Ultrasonic extraction as a sample preparation technique for elemental analysis by atomic spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.*, 16, 1147 – 1153.

Atlas, R., & Unterman, R. (1999). Bioremediation. En A. Demain, & J. Davies, *Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology* (págs. 666-681). Washington D.C.: ASM Press.

ATSDR. (2003). Toxicological profile for Malathion. U.S. Department of health and human services. Informe. 217 págs. Version web: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp154.pdf>

ATSDR. (2001). Toxicological profile for methyl parathion. U.S. Department of health and human services. Informe. 267 págs. Versión Web: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp48.pdf>

ATSDR. (1997). Toxicological profile for Chlorpyrifos. U.S. Department of health and human services. Informe. 217 págs. Versión web: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp84.pdf>

Au, L. (1980). Pesticide interactions in the laboratory rice paddy model ecosystem. *Dissertation Abstracts International* , 3567-3568.

Auditoría General de la Nación. (2004). Auditoría analítica de gestión al uso y manejo de plaguicidas en Colombia. Bogotá D.C. Recuperado el 15/03/2010 de http://www.auditoria.gov.co/9_documentos/2_3_2_plaguicidas.pdf.

Babic, S., Petrovic, M., Kastelan-Macan, M. (1998). Ultrasonic solvent extraction of pesticides from soil. *Journal of Chromatography A*, 823 (1-2),3-9.

Banegas, V., Moreno, J., Moreno, J., García, G., León, G., & Hernández, T. (2007). Composting anaerobic and aerobic sewage sludges using two proportions of sawdust . *Waste Management* , 1317-1327.

Barker, A. (1997). Composition and uses of composts. En J. Rechcigl, & H. MacKinnon, *Agricultural Uses of By-products and Wastes* (págs. 140–162). Washington, DC.: American Chemical Society.

Barker, A., & Bryson, G. (2002). Bioremediation of Heavy Metals and Organic Toxicants by Composting. *TheScientificWorldJOURNAL* , 2, 407–420.

Barriuso, E., & Koskinen, W. (1996). Incorporating Nonextractable Atrazine Residues Into Soil Size Fractions as a Function of Time. *Soil Sci. Soc. Am. J.* , 60, 150-157.

Baskaran, S., Kookana, R. S., & Naidu, R. (1999). Degradation of bifenthrin, chlorpyrifos and imidacloprid in soil and bedding materials at termiticidal application rates. *Pesticide Science* , 1222-1228.

Bastiaens, L., Springael, D., P., W., H., H., De Wachter, R., Verachtert, H., et al. (2000). Isolation of adherent polycyclic aromatic hydrocarbon (PHA)-degrading bacteria using PAH-sorbing carriers. *Applied and Environmental Microbiology* , 1834-1843.

Bavcon, M., Trebse, P., & Zupancic-Kralj, L. (2003). Investigations of the Determination and Transformations of Diazinon and Malathion under

Environmental Conditions Using Gas Chromatography Coupled with a Flame Ionisation Detector. *Chemosphere* , 50, 595-601.

Beyond Pesticides. (2000). *Safety Source for Peste Management: Chlorpyrifos*.

Revisado en Julio de 2009, de:

<http://www.beyondpesticides.org/infoservices/pesticidefactsheets/toxic/chlorpyrifos.htm>

BIOAGRO. (S.F.). *Biorremediación y Prevención de la Polución*. Revisado el 17 de Agosto de 2008 en: http://www.bioagro.com.uy/bioremediacion_y_preencion.htm

Blasco, C., Font, G., Pico, Y. (2005). Analysis of pesticides in fruits by pressurized liquid extraction and liquid chromatography-ion trap-triple stage mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1098 (1-2), 37-43.

Bobadilla, C., Rincón, S.C. (2008). Aislamiento y producción de bacterias fosfato solubilizadoras a partir de compost obtenido de residuos de plaza. Tesis Pregrado. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá D.C. 87 Págs.

Bollag, J., Myers, C., & Minard, R. (1992). Biological and chemical interactions of pesticides with soil organic matter. *The Science of the Total Environment* , 205-217.

Bolliger, S. (Julio/Agosto de 2007). The Garden: The Power of Flowers. *Countryside & Small Stock Journal* , 75.

Bouchez, M., Blanchet, D., & Vandecasteele, J. (1995). Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbon by pure strains and by defined strain associations: inhibition phenomena and cometabolism. *Applied and Environmental Microbiology* , 43, 156-164.

Brewer, L. W. (1973). Gas Chromatography. En: U.S. Department of Health and Human Services. The industrial environment: its evaluation & control. Chapter 21. U.S. Government Printing Office. Washington D.C.

Broudiscou, L., & Papon Y., B. A. (1999). Effects of minerals on feed degradation and protein synthesis by rumen micro-organisms in a dual effluent fermenter. *Reprod. Nutr. Dev.* , 39, 255-268.

Cabrera, A., Pocasangre, L., & Sikora, R. (11-13 de Octubre de 2005). Importance and Strategies of Screening for Enhanced Biodegradation of Pesticides in Banana Plantations. *The Global Food & Product Chain Dynamics*,

Innovations, Conflicts, Strategies (Conferencia) . (N. R. International Research on Food Security, Ed.)

Cahill, T., & Mackay, D. (2003). A high-resolution model for estimating the environmental fate of multi-species chemicals: application to Malathion and pentachlorophenol. *Chemosphere* , 53, 571-581.

Camberato, J. J. (2001). *Cation Exchange Capacity – Everything You Want to Know and Much More*. South Carolina: Clemson University, Crop and Soil Environmental Science.

Candwell, S., & Raushel, F. (1990). Detoxification of Organophosphate Pesticides Using an Immobilized Phosphotriesterasa from *Pseudomonas diminuta*. *Biotechnology and Bioengineering* , 37, 103-109.

Caracciolo, A. B., Giuseppe, G., Grenni, P., Cremisini, C., Ciccoli, R., & Ubaldi, C. (2005). Effect of urea on degradation of terbuthylazine in soil. *Environ. Toxicol. Chem* , 1035–1040.

Cardona, A.C., Giraldo, L.F. (2008). Evaluación del grado de contaminación por pesticidas organofosforados, de la cuenca del Rio Otún, departamento de Risaralda. Tesis. 83 págs.

Cariello, M.E., Castañeda, L., Riobo, I., González, J. (2007). Inoculante de microorganismos endógenos para acelerar el proceso compostaje de residuos sólidos urbanos. *Revista de la Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal*, 7 (3), 26-37.

Carrillo, L. (2003). Capítulo 3: Actividad Microbiana. En: Carrillo, L. *Microbiología Agrícola*. Universidad Nacional de Salta. Revisado en Julio de 2009. Versión Web: <http://www.unsa.edu.ar/matbib/micragri/micagricap3.pdf>

Cashman, J., Perotti, B., Berkman, C., & Lin, J. (1996). Pharmacokinetics and Molecular Detoxication. *Environmental Health Perspect* , 23-40.

Castañeda, L. M. (2005). *Estudio de la biodegradación del Clorpirifos y su principal producto de degradación, el TCP, en muestras de suelo contaminado con clorpirifos*. Medellín: Universidad de Antioquia.

Castillo, G. (2004). *Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones*. Canada: Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo.

Chaney, R., Ryan, J., Kukier, U., Brown, S., Siebielec, G., Malik, M., et al. (2001). Heavy metal aspects of compost use. In P. Stoffella, & B. Kahn, *Compost Utilization in Horticultural Cropping Systems* (pp. 323–359). Boca Raton, FL: Lewis Publishers.

Chaudhry, G., Ali, A., & Wheeler, W. (1988). Isolation of a methyl parathion-degrading *Pseudomonas* sp. that possesses DNA homologous to the opd gene from a *Flavobacterium* sp. *Appl. Environ. Microbiol.* , 288–293.

Cho, J., & Tiedje, J. (2000). Biogeography and degree of endemicity of fluorescent *Pseudomonas* strains in soil. *Appl. Environ. Microbiol.* , 66, 5448–5465.

Chu, X. Fang, H. PAN, X. Wang, X. Shan, M. Feng, B. & Yu, Y. (2008). Degradation of chlorpyrifos alone and in combination with chlorothalonil and their effects on soil microbial populations. *Journal of Environmental Sciences* Volume 20, Issue 4. Pags 464-469.

Clínica de Toxicología Uribe Cualla. (2001). *Supuestos Efectos del Glifosato en la Salud Humana*. Bogotá D.C.: Embajada de los Estados Unidos de América.

Cloyd, R. (2006). Fitotoxicidad: No Queme Sus Plantas. *Growertalks* .

Cordoba, D. (2001). *Toxicología. El Manual Moderno*. Bogotá.

CORPOICA. (2007). Manejo Seguro de Plaguicidas. En CORPOICA, *Buenas Practicas Agricolas en la Producción de Tomate Bajo Condiciones Protegidas*. Medellín.

Cox, C., & Surgan, M. (2006). Unidentified Inert Ingredients in Pesticides: Implications for Human and Environmental Health. *Environmental Health Perspectives* , 114 (12), 1803-1806.

Cui, Z., Li, S., & Fu, G. (2001). Isolation of Methyl Parathion-Degrading Strain M6 and Cloning of the Methyl Parathion Hydrolase Gene. *Appl Environ Microbiol.* , 67 (10), 4922-4925.

Defensoria del Pueblo. (2003). *Impactos ambientales del Plan Colombia (2001)*. Revisado el 9 de Agosto de 2008, de República Bolivariana de Venezuela: Impactos ambientales del Plan Colombia (2001). <http://200.44.98.254/detalle.asp?sec=190103&id=167&plantilla=8>

Degens, B., Schippers, L. A., Sparling, G. P., & Vojvodic, M. (2000). Decreases in organic C reserves in soils can reduce the catabolic diversity of soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry*, 26, 189-196.

Delgado, E. (S.F.). *Síntomas Comunes de Envenenamiento por Plaguicidas*. Revisado el 12 de 08 de 2008, de Hojiblanca y cordoliva: http://www.hojiblancaycordoliva.com/el%20aceite/efectos_de_los_plaguicidas_en_la.htm

Department of Environmental Quality -DEQ-. (1998). *Fundamental Principles of Bioremediation*. Michigan: EPA.

Díaz, P. (2005). *Tamaron que te muerde*.

Diaz, R. (1996). *Seminario Impacto del uso de los plaguicidas sobre la biodiversidad y la salud de la comunidad*. Manizales: Universidad de Caldas.

Dibble, J., & Bartha, R. (1979). Effect of Environmental Parameters on the Biodegradation of Oil Sludge. *Appl Environ Microbiol*, 37, 729-739.

Digrak, M., & Kazanici, F. (2001). Effect of Some Organophosphorus Insecticides on Soil Microorganisms. *Turkish Journal of Biology*, 25, 51-58.

Digrak, M., & Özçelik, S. (1998). Effect of Some Pesticides on Soil Microorganisms. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 60, 916-922.

Digrak, M., Ozçelik, S., & Çelik, S. (1995). Degradation of ethion and methidation by some microorganisms. *35 th IUPAC*, (pág. 84). Istanbul.

Donézar, M. (1995). Estudios de suelos y evaluación de tierras. En I. T. España, *Contaminación y depuración de suelos*. Madrid.

Dorronsoro, C., & García, I. (2004). Contaminación por pesticidas. En C. Dorronsoro, & I. García, *Contaminación del Suelo*. España: Universidad de Granada. Departamento de Edafología y Química Agrícola. Revisado en Agosto de 2008, Versión Web: <http://edafologia.ugr.es/conta/tema00/progr.htm>

Dow Agrosciences. (2008). *Acerca del Clorpirifos*. Recuperado el 28 de Julio de 2008, de http://www.dowagro.com/chlorp/chlorp_es/na/about/

El Mundo. (2006). Más medidas para El Morro. Revisado el 06 de Marzo de 2010, de El Mundo: http://www.elmundo.com/sitio/noticia_detalle.php?idcuerpo=2&dscuerpo=La

%20Metro&idseccion=54&dsseccion=Primera%20P%Elgina&idnoticia=32781&imagen=&vl=1&r=primera_pagina.php&idediccion=392

Environmental Protection Agency (EPA). (1998). *An Analysis of Composting As an Environmental Remediation Technology*. EPA.

Environmental Protection Agency -EPA-. (1997). *Innovative Uses of Compost: Bioremediation and pollution prevention*. Washington D.C.: EPA.

EPA, Environmental Protection Agency. (1984). *Health and Environmental Effect Profile for Methyl Parathion*. OH, Cincinnati.

EPA, Environmental Protection Agency. (2000). *Study of Off-Site Deposition of Malathion Using Operational Procedures for the Southeastern Cotton Boll Weevil Eradication Program*.

Ercolí, E., Gálvez, J., Di Paola, M., Cantero, J., Videla, S., Medaura, M., et al. (2001). *Análisis y Evaluación de Parámetros Críticos en Biodegradación de Hidrocarburos en Suelo*. Revisado en Agosto de 2008, de eco2site: <http://www.eco2site.com/informes/biorremediacion.asp>

Ermakova, I., Shushkova, T., & Leont'evskii, A. (2008). Microbial degradation of organophosphonates by soil bacteria. *Mikrobiologiya* , 77 (5), 689-695.

Everett, K., & Dickerson, H. (2003). Ichthyophthirius multifiliis and Tetrahymena thermophila Tolerate Glyphosate But Not a Commercial Herbicidal Formulation. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* , 731-738.

Extension Toxicology Network (EXTONET). (Mayo de 1995). *Pesticide Information Profile: Methyl Parathion*. Revisado en Septiembre de 2008, de <http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/extoxnet/haloxypop-methylparathion/methyl-parathion-ext.html>

Fang, H., Yu, Y., Chu, X., Wang, X., Yang, X., & Yu, J. (2009). Degradation of chlorpyrifos in laboratory soil and its impact on soil microbial functional diversity. *Journal of Environmental Sciences* , 21, 380-386.

FAO, O. D. (2000). *Evaluación de la contaminación del suelo. Manual de referencia*. Roma.

Fogarty, A., & Tuovinen, O. (1991). Microbiological Degradation of Pesticides in Yard Waste Composting. *Microbiological Review* , 225-233.

Frankenberger, W. (1992). The Need for a Laboratory Feasibility Study in Bioremediation of Petroleum Hydrocarbons. En E. Calabrese, & P. Kostecki,

Hydrocarbon Contaminated Soils and Groundwater (págs. 237-293). Boca Raton: Lewis Publisher.

Fritsche, W., & Hofrichter, M. (2001). Aerobic Degradation by Microorganisms. En H. Rehm, G. Reed, A. Pühler, & P. Stadler, *Biotechnology* (págs. 146-155). Jena, Germany: WILEY-VCH.

Fukuto, T. (1990). Mechanism of Action of Organophosphorus and Carbamate Insecticides. *Environmental Health Perspective* , 87, 245-254.

Fukuto, T., & Metcalf, R. (1969). Metabolism of insecticides in plants and animals. *Ann. NY Acad. Sci.* , 160 (1), 97-113.

Funch, F. (1981). Analysis of residues of seven pesticides in some fruits and vegetables by high-pressure liquid chromatography. *Z. Lebensm.-Unters* , 173, 95-98.

Fundación EROSKI. (2 de Diciembre de 2005). Recuperación de Suelos Contaminados. *CONSUMER EROSKI* .

U.S. Department of Agriculture. (Enero de 1998). Soil Quality Concerns: Pesticides. *Soil Quality Information Sheet* .

ACS Symposium series. (1986). *Evaluation of pesticides in groundwater*. Washington, DC: Series 315.

Agnihotri, N. (1978). The degradation of pesticides in soil. En Edwards, G. Veeresh, & H. Krueger, *Pesticides Residues in the environment in India* (págs. 343-356). Bangalore: University of Agricultural Sciences.

Ajaz, M., Jabeen, N., Ali, A., & Rasool, H. (2009). Split Role of Plasmid Genes in the Degradation of Chlorpyrifos by Indigenously Isolated *Pseudomonas putida* MAS-1. *Pak. J. Bot* , 41 (4), 2055-2060.

Akhtar, S., Shaheen G., S., & Hasan, N. (2004). Persistence of Chlorpyrifos and Fenprothrin Alone and in Combination with Fertilizers in Soil and Their Effect on Soil Microbes. *Pakistan Journal of Botanic* , 863-870.

Albert, L. (1998). Los plaguicidas persistentes y sus efectos a largo plazo. *II Simposio Internacional Sobre Agricultura Sostenible*. México D.F.

Alcalá del Olmo, L. (1995). Ensayos para la caracterización físico-química de las muestras en contraminación de suelos. En I. T. España, *Contaminación y depuración de suelos*. Madrid.

Alexander, M. (1999). *Biodegradation and Bioremediation*. London: Academic Press.

Anwar, S., Liaquat, F., Khan, Q. M., Khalid, Z. M., & Iqbal, S. (2009). Biodegradation of chlorpyrifos and its hydrolysis product 3,5,6-trichloro-2-pyridinol by *Bacillus pumilus* strain C2A1. *Journal of Hazardous Materials* , 400 - 405.

Arbeli, Z., & Fuentes, C. (2007). Accelerated biodegradation of pesticides: An overview of the phenomenon, its basis and possible solutions; and a discussion on the tropical dimension. *Crop protection* , 26 (12), 1733-1746.

Ardila, S. (1995). *Los Agroquímicos y la Relación Agricultura y Medio Ambiente*. Bogotá: Universidad de los Andes. Fac. de Economía.

Atlas, R., & Unterman, R. (1999). Bioremediation. En A. Demain, & J. Davies, *Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology* (págs. 666-681). Washington D.C.: ASM Press.

ATSDR, A. f. (1997). *Clorpirifos*. Departamento de Salud y Servicios Humanos de los EEUU.

ATSDR, A. f. (2003). *Malation*. Departamento de Salud y Servicios Humanos de los EEUU.

ATSDR, A. f. (2001). *Metil Paration*. Atlanta: Departamento de Salud y Servicios Humanos de los EEUU.

Au, L. (1980). Pesticide interactions in the laboratory rice paddy model ecosystem. *Dissertation Abstracts International* , 3567-3568.

Banegas, V., Moreno, J., Moreno, J., García, G., León, G., & Hernández, T. (2007). Composting anaerobic and aerobic sewage sludges using two proportions of sawdust . *Waste Management* , 1317-1327.

Barker, A. (1997). Composition and uses of composts. En J. Rechcigl, & H. MacKinnon, *Agricultural Uses of By-products and Wastes* (págs. 140-162). Washington, DC.: American Chemical Society.

Barker, A., & Bryson, G. (2002). Bioremediation of Heavy Metals and Organic Toxicants by Composting. *TheScientificWorldJOURNAL* , 2, 407-420.

Barriuso, E., & Koskinen, W. (1996). Incorporating Nonextractable Atrazine Residues Into Soil Size Fractions as a Function of Time. *Soil Sci. Soc. Am. J.* , 60, 150-157.

Baskaran, S., Kookana, R. S., & Naidu, R. (1999). Degradation of bifenthrin, chlorpyrifos and imidacloprid in soil and bedding materials at termiticidal application rates. *Pesticide Science* , 1222-1228.

Bastiaens, L., Springael, D., P., W., H., H., De Wachter, R., Verachtert, H., et al. (2000). Isolation of adherent polycyclic aromatic hydrocarbon (PHA)-degrading bacteria using PAH-sorbing carriers. *Applied and Environmental Microbiology* , 1834-1843.

Bavcon, M., Trebse, P., & Zupancic-Kralj, L. (2003). Investigations of the Determination and Transformations of Diazinon and Malathion under Environmental Conditions Using Gas Chromatography Coupled with a Flame Ionisation Detector. *Chemosphere* , 50, 595-601.

Beyond Pesticides. (2000). *Safety Source for Peste Management: Chlorpyrifos*. Obtenido de <http://www.beyondpesticides.org/infoservices/pesticidefactsheets/toxic/chlorpyrifos.htm>

BIOAGRO. (S.F.). *Biorremediación y Prevención de la Polución*. Recuperado el Agosto de 2008, de http://www.bioagro.com.uy/bioremediacion_y_preencion.htm

Bollag, J., Myers, C., & Minard, R. (1992). Biological and chemical interactions of pesticides with soil organic matter. *The Science of the Total Environment* , 205-217.

Bolliger, S. (Julio/Agosto de 2007). The Garden: The Power of Flowers. *Countryside & Small Stock Journal* , 75.

Bouchez, M., Blanchet, D., & Vandecasteele, J. (1995). Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbon by pure strains and by defined strain associations: inhibition phenomena and cometabolism. *Applied and Environmental Microbiology* , 43, 156-164.

Broudiscou, L., & Papon Y., B. A. (1999). Effects of minerals on feed degradation and protein synthesis by rumen micro-organisms in a dual effluent fermenter. *Reprod. Nutr. Dev.* , 39, 255-268.

Cabrera, A., Pocasangre, L., & Sikora, R. (11-13 de Octubre de 2005). Importance and Strategies of Screening for Enhanced Biodegradation of Pesticides in Banana Plantations. *The Global Food & Product Chain Dynamics*,

Innovations, Conflicts, Strategies (Conferencia) . (N. R. International Research on Food Security, Ed.)

Cahill, T., & Mackay, D. (2003). A high-resolution model for estimating the environmental fate of multi-species chemicals: application to Malathion and pentachlorophenol. *Chemosphere* , 53, 571-581.

Camberato, J. J. (2001). *Cation Exchange Capacity – Everything You Want to Know and Much More*. South Carolina: Clemson University, Crop and Soil Environmental Science.

Candwell, S., & Raushel, F. (1990). Detoxification of Organophosphate Pesticides Using an Immobilized Phosphotriesterase from *Pseudomonas diminuta*. *Biotechnology and Bioengineering* , 37, 103-109.

Caracciolo, A. B., Giuseppe, G., Grenni, P., Cremisini, C., Ciccoli, R., & Ubaldi, C. (2005). Effect of urea on degradation of terbuthylazine in soil. *Environ. Toxicol. Chem* , 1035–1040.

Carillo, L. (2003). *Microbiología Agrícola*.

Cashman, J., Perotti, B., Berkman, C., & Lin, J. (1996). Pharmacokinetics and Molecular Detoxication. *Environmental Health Perspect* , 23-40.

Castañeda, L. M. (2005). *Estudio de la biodegradación del Clorpirifos y su principal producto de degradación, el TCP, en muestras de suelo contaminado con clorpirifos*. Medellín: Universidad de Antioquia.

Castillo, G. (2004). *Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones*. Canada: Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo.

Chaney, R., Ryan, J., Kukier, U., Brown, S., Siebielec, G., Malik, M., et al. (2001). Heavy metal aspects of compost use. In P. Stoffella, & B. Kahn, *Compost Utilization in Horticultural Cropping Systems* (pp. 323–359). Boca Raton, FL: Lewis Publishers.

Chaudhry, G., Ali, A., & Wheeler, W. (1988). Isolation of a methyl parathion-degrading *Pseudomonas* sp. that possesses DNA homologous to the opd gene from a *Flavobacterium* sp. *Appl. Environ. Microbiol.* , 288–293.

Cho, J., & Tiedje, J. (2000). Biogeography and degree of endemicity of fluorescent *Pseudomonas* strains in soil. *Appl. Environ. Microbiol.* , 66, 5448–5465.

Clínica de Toxicología Uribe Cualla. (2001). *Supuestos Efectos del Glifosato en la Salud Humana*. Bogotá D.C.: Embajada de los Estados Unidos de América.

Cloyd, R. (2006). Fitotoxicidad: No Queme Sus Plantas. *Growertalks* .

Cordoba, D. (2001). *Toxicología. El Manual Moderno*. Bogotá.

CORPOICA. (2007). Manejo Seguro de Plaguicidas. En CORPOICA, *Buenas Practicas Agricolas en la Producción de Tomate Bajo Condiciones Protegidas*. Medellín.

Cox, C., & Surgan, M. (2006). Unidentified Inert Ingredients in Pesticides: Implications for Human and Environmental Health. *Environmental Health Perspectives* , 114 (12), 1803-1806.

Cui, Z., Li, S., & Fu, G. (2001). Isolation of Methyl Parathion-Degrading Strain M6 and Cloning of the Methyl Parathion Hydrolase Gene. *Appl Environ Microbiol* , 67 (10), 4922-4925.

Defensoria del Pueblo. (2003). *Impactos ambientales del Plan Colombia (2001)*. Recuperado el 9 de Agosto de 2008, de República Bolivariana de Venezuela: Impactos ambientales del Plan Colombia (2001)

Degens, B., Schippers, L. A., Sparling, G. P., & Vojvodic, M. (2000). Decreases in organic C reserves in soils can reduce the catabolic diversity of soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry* , 26, 189-196.

Delgado, E. (S.F.). *Síntomas Comunes de Envenenamiento por Plaguicidas*. Recuperado el 12 de 08 de 2008, de Hojiblanca y cordoliva: http://www.hojiblancaycordoliva.com/el%20aceite/efectos_de_los_plaguicidas_en_la.htm

Department of Environmental Quality -DEQ-. (1998). *Fundamental Principles of Bioremediation*. Michigan: EPA.

Díaz, P. (2005). *Tamaron que te muerde*.

Diaz, R. (1996). *Seminario Impacto del uso de los plaguicidas sobre la biodiversidad y la salud de la comunidad*. Manizales: Universidad de Caldas.

Dibble, J., & Bartha, R. (1979). Effect of Environmental Parameters on the Biodegradation of Oil Sludge. *Appl Environ Microbiol* , 37, 729-739.

Digrak, M., & Kazanici, F. (2001). Effect of Some Organophosphorus Insecticides on Soil Microorganisms. *Turkish Journal of Biology* , 25, 51-58.

Digrak, M., & Özçelik, S. (1998). Effect of Some Pesticides on Soil Microorganisms. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* , 60, 916-922.

Digrak, M., Ozçelik, S., & Çelik, S. (1995). Degradation of ethion and methidation by some microorganisms. *35 th IUPAC*, (pág. 84). Istanbul.

Donézar, M. (1995). Estudios de suelos y evaluación de tierras. En I. T. España, *Contaminación y depuración de suelos*. Madrid.

Dorronsor, C., & García, I. (2004). Contaminación por pesticidas. En C. Dorronsor, & I. García, *Contaminación del Suelo*. España: Universidad de Granada. Departamento de Edafología y Química Agrícola.

Dow Agrosiences. (2008). *Acerca del Clorpirifos*. Recuperado el 28 de Julio de 2008, de http://www.dowagro.com/chlorp/chlorp_es/na/about/

Durand, M., Beaumatin, P., & Dumay, C. (1983). Estimation in vitro à l'aide du phosphore radioactif des besoins en phosphore des microorganismes du rumen. *Reprod. Nutr. Dev.* , 23, 727-739.

Environmental Protection Agency (EPA). (1998). *An Analysis of Composting As an Environmental Remediation Technology*. EPA.

Environmental Protection Agency -EPA-. (1997). *Innovative Uses of Compost: Bioremediation and pollution prevention*. Washington D.C.: EPA.

EPA, Environmental Protection Agency. (1984). *Health and Environmental Effect Profile for Methyl Parathion*. OH, Cincinnati.

EPA, Environmental Protection Agency. (2000). *Study of Off-Site Deposition of Malathion Using Operational Procedures for the Southeastern Cotton Boll Weevil Eradication Program*.

Ercolí, E., Gálvez, J., Di Paola, M., Cantero, J., Videla, S., Medaura, M., et al. (2001). *Análisis y Evaluación de Parámetros Críticos en Biodegradación de Hidrocarburos en Suelo*. Retrieved Agosto 15, 2008, from [eco2site: http://www.eco2site.com/informes/biorremediacion.asp](http://www.eco2site.com/informes/biorremediacion.asp)

Ermakova, I., Shushkova, T., & Leont'evskiĭ, A. (2008). Microbial degradation of organophosphonates by soil bacteria. *Mikrobiologiya* , 77 (5), 689-695.

Everett, K., & Dickerson, H. (2003). Ichthyophthirius multifiliis and Tetrahymena thermophila Tolerate Glyphosate But Not a Commercial Herbicidal Formulation. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* , 731-738.

Extension Toxicology Network (EXTONET). (Mayo de 1995). *Pesticide Information Profile: Methyl Parathion*. Obtenido de <http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/extoxnet/haloxfop-methylparathion/methyl-parathion-ext.html>

Fang, H., Yu, Y., Chu, X., Wang, X., Yang, X., & Yu, J. (2009). Degradation of chlorpyrifos in laboratory soil and its impact on soil microbial functional diversity. *Journal of Environmental Sciences* , 21, 380-386.

FAO, O. D. (2000). *Evaluación de la contaminación del suelo. Manual de referencia*. Roma.

Fogarty, A., & Tuovinen, O. (1991). Microbiological Degradation of Pesticides in Yard Waste Composting. *Microbiological Review* , 225-233.

Frankenberger, W. (1992). The Need for a Laboratory Feasibility Study in Bioremediation of Petroleum Hydrocarbons. En E. Calabrese, & P. Kosteci, *Hydrocarbon Contaminated Soils and Groundwater* (págs. 237-293). Boca Raton: Lewis Publisher.

Fritsche, W., & Hofrichter, M. (2001). Aerobic Degradation by Microorganisms. En H. Rehm, G. Reed, A. Pühler, & P. Stadler, *Biotechnology* (págs. 146-155). Jena, Germany: WILEY-VCH.

Fukuto, T. (1990). Mechanism of Action of Organophosphorus and Carbamate Insecticides. *Environmental Health Perspective* , 87, 245-254.

Fukuto, T., & Metcalf, R. (1969). Metabolism of insecticides in plants and animals. *Ann. NY Acad. Sci.* , 160 (1), 97-113.

Funch, F. (1981). Analysis of residues of seven pesticides in some fruits and vegetables by high-pressure liquid chromatography. *Z. Lebensm.-Unters* , 173, 95-98.

Fundación EROSKI. (2 de Diciembre de 2005). Recuperación de Suelos Contaminados. *CONSUMER EROSKI* .

G4moravia. (02 de 05 de 2007). *Historia de Moravia*. Recuperado el 06 de 03 de 2010, de G4moravia: <http://g4moravia.blogspot.com/2007/05/historia-moravia.html>

Gálviz, C., Burbano, H., & Bonilla, C. (2007). Actividad de fosfatasa ácida en suelos cultivados con papa y praderas del corregimiento de Catambuco, Pasto-Colombia. *Acta Agronómica* , 56 (1).

Garrido, A., González, M., Martínez, J., Arrebola, F., & Hernández, M. (2005). A study of the disappearance of pesticides during composting using a gas chromatography-tandem mass spectrometry technique. *Pest Management Science* , 61 (5), 458-466.

Ghisalba, O., Küenzi, M., Tombo, G., & Schar, H. (1987). Organophosphorus microbial degradation and utilization of selected organophosphorus compounds: strategies and applications. *Chemia* , 41, 206-210.

Ghosal, D., You, I., Chatterjee, D., & Chakrabarty, A. (1985). Microbial Degradation of Halogenated Compounds. *Science Magazine* , 135-142.

Glazer, A., & Nikaidō, H. (2007). *Microbial biotechnology: fundamentals of applied microbiology*. Cambridge: Cambridge University Press.

Gonçalves, C., & Alpendurada, M. (2005). Assessment of pesticide contamination in soil samples from an intensive horticulture area, using ultrasonic extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Talanta* , 65, 1179-1189.

González, D. (2007). El complejo enzimático Citocromo P450 en las plantas. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* , 23 (4), 177-183.

Hang, S. (2002). *Adsorción y Degradación de Atrazina en Suelos de Superficie y Subsuelo de la Provincia de Córdoba*. Argentina: FCA-Universidad Nacional de Córdoba.

Hang, S. (2003). *Destino de los Plaguicidas en el Ambiente Suelo*. Córdoba, Argentina: Universidad Nacional de Córdoba. Depto de Recursos Naturales. Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Havens, P., & Rase, H. (1993). Reusable Immobilized Enzyme/Polyurethane Sponge for Removal and Detoxification of Localized Organophosphate Pesticide Spills. *Industrial and Engineering Chemistry Research* , 32, 2254-2252.

Hayo, M. (1996). Assessing the impact of pesticides on the environment-agriculture. *Ecosystems and Environment* , 60, 81-96.

Hetch, D. (Junio de 1998). Bening Urine: industrial cotton is the world's favourite - and most polluting - fabric fibre. *New Internationalist* .

Hornig, L., & Kaufman, D. (1987). *Accelerated biodegradation of several organophosphate insecticides*. Washington, DC.: American Chemical Society.

Hyman, M., & Dupont, R. R. (2001). *Groundwater and soil remediation: process design and cost estimating of proven technologies*. ASCE Publications.

ICA. (2000). *Incidencia de factores sociales, Culturales y Técnicos en el Uso de Agroquímicos por pequeños Productores del Departamento de Antioquia*. Medellín.

Imran, H., Mohammed, A., & Kim, J. (2004). Malathion degradation by Pseudomonas Using activated Sludge treatment System (Biosimulator). *Biotechnology* , 3, 82-89.

INKOA SISTEMAS S.L. (S.F.). *Proyecto "life" de demostración de la tecnología de biorremediación con compostaje para la recuperación y gestión urbanística sostenible de zonas contaminadas en desuso*. Recuperado el Agosto de 2008, de BiOSOIL: http://www.lifebiosoil.com/ca_tecnologia.asp

Interstate Technology and Regulatory Council. (2002). *A Systematic Approach to In Situ Bioremediation in Groundwater*. Kentucky, Louisville.

Jaramillo, J., Rodríguez, V., Guzmán, M., Zapata, M., & Rengifo, T. (2007). *Manual Técnico: Buenas Prácticas Agrícolas en la Producción de Tomate Bajo Condiciones Protegidas*. Medellín: FAO, CORPOICA, MANA.

Jiménez, R., & Gutiérrez, A. (1995). Factores de Control de los Contaminantes. El Suelo como receptor y amortiguador de la contaminación. En F. López, & F. Ayala, *Contaminación y Depuración de Suelos* (págs. 35-47). Madrid: Instituto Tecnológico Geominero de España.

Jin, G., Englande, A., & Qiu, Y. (2003). An Integrated Treatability Protocol for Biotreatment/Bioremediation of Toxic Pollutants Generated by Chemical Industries. *Journal of Environmental Science and Health Part A - Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering* , 38 (4), 597-607.

Jokanovic', M. (2001). Biotransformation of organophosphorus compounds. *Toxicology* , 166, 139-160.

Juhasz, A., Waller, N., Lease, C., Bentham, R., & Stewart, R. (2005). Pilot Scale Bioremediation of Creosote-Contaminated Soil—Efficacy of Enhanced Natural Attenuation and Bioaugmentation Strategies. *Bioremediation Journal* , 141-157.

Kamrin, M. (1997). *Pesticide profiles: toxicity, environmental impact, and fate*. Florida, US: CRC Press.

Karickhoff, S. (1979). Sorption of hydrophobic pollutants on natural sediments. *Water resources* (13).

Karpouzas, D. G., Fotopoulou, A., Menkissoglu, U., & Singh, B. K. (2005). Non-specific biodegradation of the organophosphorus pesticides, cadusafos and ethoprophos, by two bacterial isolates. *FEMS microbiology ecology* , 369-378.

Karpouzas, D., & Singh, B. (2006). Microbial Degradation of Organophosphorus Xenobiotics: Metabolic Pathways and Molecular Basis. *Advances in Microbial Physiology* , 51, 119-225.

Karpouzas, D., Hatziapostolou, P., Papadopoulou, E., Giannakou, I., & Georgiadou, A. (2004). The Enhanced Biodegradation of Fenamiphos in Soils from Previously Treated Sites and the Effect of Soil Fumigants. *Environmental Toxicology and Chemistry* , 23 (9), 2099–2107.

Kearney, P., & Kellogg, S. (1985). Microbial adaptation to pesticides. *Pure & Appl. Chem.* , 389-403.

Keener, H., Dick, W., & Hoitink, H. (2001). Composting and beneficial utilization of composted by-product materials. En J. Power, & W. Dick, *Land Application of Agricultural, Industrial, and Municipal By-products* (págs. 315–341). Madison, WI.: Soil Science Society of America.

Kennes, C., Lema, J., & Veiga, M. (1994). *Biodegradación de Compuestos Orgánicos Tóxicos*. España: Universidad de Santiago de Compostela. Ingeniería Química.

Keprasertsupa, C., Upathamb, E., Sukhapanthb, N., & Prempreed, P. (2001). Degradation of Methyl Parathion in an Aqueous Medium by Soil Bacteria. *ScienceAsia* , 27, 261-270.

Kerle, E., Jenkins, J., & Vogue, P. (2007). *Understanding pesticide persistence and mobility for groundwater and surface water protection*. U.S.A.: Oregon State University.

Kohmann, K. (1999). Side-effects of Formulations of Permethrin and Fenvalerate Insecticides on Frost Resistance and Field Performance of Picea Abies Seedlings. *Scandinavian Journal of Forest Research* , 14, 355-360.

Kong, W.-D., Zhu, Y.-G., Fu, B.-J., Han, X.-Z., Zhang, L., & He, J.-Z. (2008). Effect of Long-Term Application of Chemical Fertilizers on Microbial Biomass and Functional Diversity of a Black Soil. *Pedosphere* , 18 (6), 801-808.

- Kudsk, P., & Mathiassen, S. (2004). Joint action of amino acid biosynthesis-inhibiting herbicides. *Weed Research* , 44 (3), 313-322.
- Lacorte, S., Ehresmann, N., & Barcelo, D. (1995). Stability of Organophosphorus Pesticides on Disposable Solid-Phase Extraction Precolumns. *Environmental Science and Technology* , 29, 2834-2841.
- LeNoir, J., Cahill, T., Sieber, J., McConnell, L., & Fellers, G. (1999). Summertime Transport of Current Use Pesticides from the California Central Valley to Sierra Nevada Mountain Range. *Environ. Toxicol. and Chem.* , 18 (12), 2715-2722.
- Leys, N., Bastiaens, L., & Verstraete, W. (2005). Influence of the carbon/nitrogen/phosphorus ratio on the polycyclic aromatic hydrocarbon degradation by Mycobacterium and Sphingomonas in soil. *Environmental Biotechnology* , 726-736.
- López, J. I., Navarro, M., & González, S. (2000). Tratamiento de Descontaminación de Materia Orgánica Residual: Límites Alcanzados en Metales Pesados. *Edafología* , 7 (3), 151-157.
- Malato, S., Blanco, J., Estrada, C., & Bandala, E. (2000). *Degradación de Pesticidas*. Recuperado el 11 de Agosto de 2008, de <http://www.psa.es/webeng/solwater/files/CYTED01/19cap12.pdf>
- Maroto, M. E., & Rogel, J. M. (2000). Aplicación de Sistemas de Biorremediación de Suelos y Aguas Contaminadas por Hidrocarburos. *GEOCISA. Div. Protección Ambiental de Suelos.* , 297-305.
- Marquez, S. (2001). *Evaluación de algunos efectos de la contaminación por aplicación de Lorsban (clorpirifos) en un suelo y un cultivo de Kikuyo. (Pennisetum clandestinum Hochst ex Chiov) en el Norte Antioqueño.*. Medellín: Universidad de Antioquia.
- Martin, C., Vega, D., Bastide, J., & Davet, P. (2006). Enhanced degradation of iprodione in soil after repeated treatments for controlling Sclerotinia minor. *Plant and soil* , 127 (1), 140-142.
- Matsumura, F. (1988). Degradation of pesticides in the environment by microorganisms and sunlight. En K. Matsumura F., *Biodegradation of pesticides* (págs. 67-87). New York: Academic Press.
- McLaren, A., & Bollag, J. (1993). *Soil Biochemistry*. New York, NY: Marcel Dekker, INC.

Mediterranea de Agroquímicos. (S.F.). *El Suelo*. Recuperado el 29 de Julio de 2008, de <http://www.mediterraneadeagroquimicos.es/Informa/suelo2.htm>

Mennendez, G., & Cañibano., J. (1985). *Técnicas de Tratamiento de Residuos Tóxicos y Peligrosos*. Asturias, España: Ingeniería Química. Universidad de Oviedo.

Milla, O., & Palomino, W. (2002). *Niveles de colinesterasa sérica en agricultores de la localidad de Carapongo (Perú) y determinación de residuos de plaguicidas inhibidores de la Acetilcolinesterasa en frutas y hortalizas cultivadas*. Lima, Peru: Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Miller, E., & Cox, J. (2002). *Control Menos Tóxico de Plagas. Pesticidas que presentan problemas*. California: Distrito Sanitario de Central Contra Costa (CCCSD).

Ministerio del Medio Ambiente. (2000). *Informe Nacional sobre el Uso y Manejo de Plaguicidas en Colombia, Tendiente a Identificar y Proponer Alternativas para Reducir el Ecurrimiento de Plaguicidas al Mar Caribe*. Bogotá.

Mitchell, J., & Cain, R. (1996). Rapid onset of the accelerated degradation of dicarboximide fungicides in a UK soil with a long history of agrochemicals exclusion. *Pesticide Science* , 1–11.

Mojocoa, M. (2004). *Efecto del Uso del Clorpirifos en Maíz (Zea mays L.) Sobre los Artropodos No Blanco del Suelo*. Ibague: Universidad del Tolima.

Montenegro, R. (2001). *Informe sobre los riegos sanitarios del Malatión*. Cordoba, Argentina.

Mora, J. (1998). La Actividad Microbiana: Un indicador integral de la calidad del suelo. *Lunazul* (05-06).

Morel-Chevillet, C., Parekh, N., Pautrel, D., & Fournier, J. (1996). Cross-enhancement of carbofuran biodegradation in soil samples previously treated with carbamate pesticides. *Soil Biology and Biochemistry* (28), 1767–1776.

Moreno, J., & Mormeneo, S. (2008). Microbiología y bioquímica del proceso de compostaje. In J. Moreno, & R. Moral, *Compostaje* (p. 570).

Morgan, P., & Watkinson, R. (1989). Hydrocarbon degradation in soils and methods for soils biotreatment. *CRC Critical Rev. in Biotechnol* , 8, 308-310.

Mosquera, R. (2007). *Biodegradación de Malatión Utilizando Microorganismo Nativos de Suelos Agrícolas*. Medellín: Universidad de Antioquia.

Motta, B. (1990). *Métodos analíticos del laboratorio de suelos*. (5ª ed.). Santa Fé de Bogotá.

Müller, S., Núñez, J., & Ramírez, L. (1998). *Indicadores para el uso de la tierra*. IICA/GTZ, Costa Rica.

Munnecke, D. (1976). Enzymatic hidrolisis of organophosphate insecticides, a possible pesticide disposal method. *Applied and Environmental Microbiology*, 32, 7-13.

Naciones Unidas. (2005). *Objetivos de Desarrollo del Milenio: Una Mirada desde América Latina y el Caribe*. Santiago de Chile.

Nápoles, J., Marañón, A., Cumbá, F., Anllo, Y., & Abalos, A. (2005). Tratabilidad de Suelos Contaminados con Petróleo Aplicando Microcosmos. *Revista Cubana de Química*, 179-188.

Navarrete, P. (1995). Contaminación de Suelos por Productos Orgánicos. Plaguicidas. En F. López, & F. Ayala, *Contaminación y Depuración de Suelos* (págs. 59-75). Madrid: Instituto Tecnológico GeoMinero de España.

Neal, R., McCool, P., & Younglove, T. (1993). *Assessment of Malathion and Malaoxon Concentration and Persistence in Water, Sand, Soil and Plant Matrices Under Controlled Exposure Conditions*. University of California. Riverside, CA: California Department of Pesticide Regulation.

New Jersey Department of Health and Senior Services. (1999). *Metil ParatiÓN. Hoja Informativa sobre Sustancias Peligrosas*. New Jersey.

Newhart, K. (2006). *Environmental Fate of Malathion*. California: Department of Pesticide Regulation. California Environmental Protection Agency.

Nivia, E. (1993). Degradación de Suelos por el Uso de Plaguicidas. *La Era Agrícola* (18).

NOTICyT, A. d. (2003). *En Colombia Las cifras que hablan de plaguicidas son deficientes*.

Nyer, E. (1993). *Practical Techniques for Groundwater and Soil Remediation*. Boca Ratón, U.S.A. : Lewis Publishers.

Ohisa, N., & Yamaguchi, M. (1978). Gamma-BHC degradation accompanied by the growth of *Clostridium rectum* isolated from paddy field soil. *Agricultural Biology and Chemistry*, 1819-1821.

Organización Mundial de la Salud (OMS). (1998). Investigación en Salud y Ambiente XXXIII. Reunión del Comité Asesor de Investigaciones en Salud de la Organización Panamericana de la Salud. Caracas, Venezuela: OPS/CAIS/98.05.

Ortiz, M., Monterrosas, M., Yáñez, G., & Sánchez, E. (2001). Biodegradation of Methyl Parathion by Bacteria Isolated of Agricultural Soil. *Rev. Int. Contam. Ambient.* , 17, 147-155.

Ospina, J. (1999). *Tecnología del Cultivo de Maíz*. Santa Fé de Botogá: Promedios.

Papini, S., & De Andréa, M. (2001). Enhanced degradation of metalaxyl in agricultural soils of São Paulo State, Brazil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* , 36 (1).

Paschal, D., & Neville, M. (1976). Chemical and Microbial Degradation of Malaoxon in an Illinois Soil. *Journal Environmetnal Quality* , 5, 441-443.

Perrin-Ganier, C., Schiavon, F., Morel, J.-L., & Schiavon, M. (2001). Effect of sludge-amendment or nutrient addition on the biodegradation of the herbicide isoproturon in soil. *Chemosphere* , 887-892.

Pignatello, J. (1998). Soil organic matter as a nanoporous sorbent of organic pollutants. *Advances in Colloid and Interface Science* , 445-467.

PRTR-España. (2007). *Clorpirifos*. Recuperado el 24 de Julio de 2008, de Ministerio de Medio Ambiente: <http://www.prtr-es.es/Clorpirifos,15619,11,2007.html>

Racke, K., & Coats, J. (1990). *Enhanced biodegradation of pesticides in the environment*. Washington, DC: American Chemical Society.

Racke, K., & Coats, J. (1990). Pesticide in Soil microbial ecosystems. *American Chemical Society Symposium Series* , 426, 1-12.

Racke, K., Laskowski, D., & Schultz, M. (1990). Resistance of chlorpyrifos to enhanced biodegradation in soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* , 38 (6), 1430-1436.

Rajagopal, B., Brahma Prakash, G., & Sethunathan, N. (1983). *Degradation of Carbofuran by enrichment cultures and pure culture of bacteria from flooded soils*. India: CRRRI - ICAR.

Rajaram, K., Rao, Y., & Sethunathan, N. (1978). Inhibition of biological hydrolysis of parathion in rice straw-amended flooded soil in its reversal by nitrogen compounds and aerobic conditions. *Pesticide Science* , 155-160.

Ramirez, A. H., & Meschy, F. (2005). Requerimiento de fósforo de los Microorganismos ruminales: una revisión. *INCI* , 30 (11), 664-670.

Rodríguez, J. L., & Sánchez, J. (2004). Aspectos tecnológicos y aplicación al vertido del Prestige: Biorremediación. *Universidad de Oviedo* .

Roger, P., & Bhuiyan, S. (1995). Behavior of pesticides in rice-based agroecosystems: A Review. En P. L. Pingali, & P. A. Roger, *Impact of pesticides on farmer health and the rice environment* (pág. 664). Washington D.C.: International Rice Research Institute.

Roldan-Martin, e. (2007). Solid culture amended with small amounts of raw coffee beans for the removal of petroleum hydrocarbon from weathered contaminated soil. *International Biodeterioration & Biodegradation* , 60, 35-39.

Ruiz, S. (10 de Febrero de 2001). *Desarrollo de métodos de electroforesis capilar en fase micelar. Aplicación al análisis de herbicidas y de sus productos de degradación*. Obtenido de <http://www.tdx.cat/TDX-0130102-115958>

Sánchez, J., & Rodríguez, J. L. (2004). Biorremediación. Fundamentos y Aspectos Microbiológicos. . *Universidad de Oviedo* , 12-16.

Saval, S. (1998). *La Biorremediación como Alternativa para la Limpieza de Suelos y Acuíferos*. México D.F.: Universidad Nacional Autónoma de México.

Schmidt, H., & Baron, C. (2003). The Competitiveness of *Pseudomonas chlororaphis* Carrying pJP4 Is Reduced in the *Arabidopsis thaliana* Rhizosphere. *Applied and Environmental Microbiology* , 1827-1831.

Schroll, R., Becher, H. H., Dörfler, U., Gayler, S., Grundmann, S., Hartmann, H. P., y otros. (2006). Quantifying the Effect of Soil Moisture on the Aerobic Microbial Mineralization of Selected Pesticides in Different Soils. *Environmental Science & Technology* , 40 (10), 3305-3312.

Semple, K., Reid, B., & Fermor, T. (2001). Impact of composting strategies on the treatment of soils contaminated with organic pollutants. *Environmental Pollution* , 112, 269-283.

Senapati, H., & Padhihari, H. (2002). Effect of organic, inorganic fertilizers and liming on persistence and degradation of phorate in acid laterite soil of Orissa . *Journal of the Indian Society of Soil Science* , 168-171.

Shapir, N., Mongodin, E., Sadowsky, M., Daugherty, C., Nelson, E., & Wackett, L. (2007). Evolution of Catabolic Pathways: Genomic Insights into Microbial s-Triazine Metabolism. *Journal of Bacteriology* , 189 (3), 674-682.

Shapir, N., Rosendahl, C., Johnson, G., Andreina, M., Sadowsky, M., & Wackett, L. (2005). Substrate specificity and colorimetric assay for recombinant TrzN derived from *Arthrobacter aurescens* TC1. *Appl. Environ. Microbiol* , 71, 2214–2220.

Siddaramappa, R., & Seiber, J. (1979). Persistence of Carbofuran in flooded rice soils and water. *Progressive water technology* , 103-111.

Sikora, L., Kaufman, D., & Horng, L. (1990). Enzyme activity in soils showing enhanced degradation of organophosphate insecticides. *Biology and Fertility of Soils* , 9 (1), 14-18.

Singer, A., & Crohn, D. (2002). *Persistence and Degradation of Pesticides in Composting*. California: University of California.

Singh B.K., W. A. (2006). Microbial degradation of organophosphorus compounds. *FEMS Microbiol. Rev* , 30 (3), 428-471.

Singh, A., & Ward, O. P. (2004). *Applied bioremediation and phytoremediation*. Springer.

Singh, B., Walker, A., & Wright, D. (2005). Cross-enhancement of accelerated biodegradation of organophosphorus compounds in soils: Dependence on structural similarity of compounds. *Soil Biology and Biochemistry* , 1675-1682.

Singh, B., Walker, A., & Wright, D. (2005). Cross-enhancement of accelerated biodegradation of organophosphorus compounds in soils: Dependence on structural similarity of compounds. *Soil Biology and Biochemistry* , 1675-1682.

Singh, B., Walker, A., & Wright, D. (2002). Degradation of chlorpyrifos, fenamiphos, and chlorothalonil alone and in combination and their effects on soil microbial activity. *Environmental toxicology and chemistry* , 21 (12), 2600-2605.

Singh, B., Walker, A., J.A., M., & Wright, D. (2004). Biodegradation of Chlorpyrifos by Enterobacter Strain B-14 and Its Use in Bioremediation of Contaminated Soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 70 (8), 4855-4863.

Singh, B., Walker, A., Morgan, J., & Wright, D. (2003). Role of Soil pH in the Development of Enhanced Biodegradation of Fenamiphos. *Applied and Environmental Microbiology*, 69 (12), 7035-7043.

Skujins, J. (1976). Extracellular enzymes in soil. *Crit. Rev. Microbiol*, 383-421.

Spectrum Laboratory. (2003). *Methyl Parathion. Chemical Fact Sheet*. FL, U.S.A.: Spectrum Laboratory.

Spier, T., & Ross, D. (1978). Soil phosphatase and Arylsuphatase. En R. Burns, *Soil Enzymes* (págs. 197-250). New York: Academic Press.

Spiers, G., & McGill, W. (1979). Effects of phosphorus addition and energy supply on acid phosphatase production and activity in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 11 (1), 3-8.

Stoffella, P. (2005). *Utilización de Compost en los Sistemas de Cultivo Hortícola*. Mundi-Prensa.

Stratton, M., & Rechcigl, J. (1998). Agronomic benefits of agricultural, municipal, and industrial by products and their co-utilization: an overview. En S. Brown, J. Angle, & L. Jacobs, *Beneficial Co-utilization of Agricultural, Municipal, and Industrial By-products* (págs. 9-34). Dordrecht, the Netherlands: Kluwer Academic Publishers.

Sublette, K., Jennings, E., Mehta, C., Duncan, K., Brokaw, J., Todd, T., y otros. (2007). Monitoring Soil Ecosystem Recovery Following Bioremediation of a Terrestrial Crude Oil Spill With and Without a Fertilizer Amendment. *Soil & Sediment Contamination*, 181-208.

Sudhakar-Barik, & Sethunathan, N. (1979). Persistence of parathion increased by benomyl in flooded soil. *Progressive Water Technology*, 113-119.

Tabatabai, A. (1994). Soil Enzymes. En R. Weaver, J. Angle, & P. Bottomley, *Methods of soil analysis, Part. 2. Microbiological and Biochemical Properties*. (Second Edition ed., págs. 775-833). Madison, U.S.A.: Soil Science Society.

Tang, C., & Song, L. (1996). Spontaneous N,N'-dibutylurea (DBU) formation in benlate DF® formulation under elevated temperatures. *Environmental Intoxication and Toxicology*, 30, 403-406.

- Tarradellas, J., Bitton, G., & Rossel, D. (1997). *Soil ecotoxicology*. CRC Press.
- Top, E., & Springael, D. (2003). The role of mobile genetic elements in bacterial adaptation to xenobiotic organic compounds. *Curr. Opin. Biotechnol* , 262–269.
- Topp, E., Tessier, L., & E.G., G. (1996). Dairy manure incorporation stimulates rapid atrazine mineralization in an agricultural soil. *Canadian Journal of Soil Science* , 403-409.
- Torres, L., Santacruz, G., & Bandala, E. (1999). *Bioremediation of Nitroaromatic and Haloaromatic Compounds*. Ohio, U.S.A.: Columbus.
- Universidad de Extremadura. (2004). Contaminación del suelo por Pesticidas. En A. d. Agrícola, *Gestión y conservación del suelo*. España: Universidad de Extremadura.
- Vallejos, M. (2003). *Efectos de los Plaguicidas en el Suelo*. Managua: Gobierno de Nicaragua. Ministerio del Ambiente y los Recursos Naturales (MARENA).
- van der Meer, J., & Sentchilo, V. (2003). Genomic islands and the evolution of catabolic pathways in bacteria. *Curr. Opin. Biotechnol* , 248–254.
- Van Der Wef, H. (1996). Assessing the impact of pesticides on the environment. *Agriculture, Ecosystems & Environment* , 60, 81-96.
- Vidali, M. (2001). Bioremediation. An Overview. *Pure Appl. Chem.* , 73 (7), 1163-1172.
- Wackett, L., & Hershberger, C. (2001). *Biocatalysis and Biodegradation: Microbial Transformation of Organic Compounds*. Washington, D.C.: ASM Press.
- Walter, M. (1997). Bioaugmentation. En C. Hurst, *Manual of Environmental Microbiology* (págs. 753-765). Washington, D.C.: ASM Press.
- Warton, B., Matthiessen, J., & Shackleton, M. (2003). Cross-enhancement: enhanced biodegradation of isothiocyanates in soils previously treated with metham sodium. *Soil Biology and Biochemistry* , 1123–1127.
- Weber, J. B. (1994). Properties and Behavior of Pesticides in Soil. En R. Honeycutt, & D. Schabacker, *Mechanisms of pesticides movement into ground water* (págs. 15-41).
- Weber, J. (1994). Properties and Behavior of Pesticides in Soil. En R. Honeycutt, & D. Schabacker, *Mechanisms of pesticides movement into groundwater* (págs. 15-41).

West Nile Virus Control. (Abril de 2005). *Toxicologic Information About Insecticides: Malathion*. Obtenido de http://www.atsdr.cdc.gov/consultations/west_nile_virus/Malathion.html

WHO. (1976). *Organophosphorus Insecticides: A General Introduction*. Geneva: Environmental Health Criteria.

WHO, World Health Organization. (1993). *Methyl Parathion*. Geneva: International Programme on Chemical Safety .

Wilson, S., & Jones, K. (1993). Bioremediation of soil contaminants with polynuclear aromatic hydrocarbon (PAHs): a review. *Environmental Pollution* , 1103-1106.

World Health Organization -WHO-. (1993). *Methyl Parathion: Environmental Health Criteria*. Geneva: Fraunhofer Institute of Toxicology and Aerosol.

XIE, S., LIU, J., LI, L., & QIAO, C. (2009). Biodegradation of malathion by *Acinetobacter johnsonii* MA19 and optimization of cometabolism substrates. *Journal of Environmental Sciences* , 21, 76-82.

Xie, W., Zhou, J., Chen, X., & Wang, H. (2007). Effect of Long-Term Fertilization on the Persistence of Cypermethrin in Soil. *Better Crops* , 10-11.

Xie, W., Zhou, J., Wang, H., & Chen, X. (2008). Effect of Nitrogen on the Degradation of Cypermethrin and Its Metabolite 3-Phenoxybenzoic Acid in Soil. *Pedosphere* , 18 (5), 638-644.

Zeinat, K. M., Mohamed, A., & Sherif, E. (2008). Biodegradation and Detoxification of Malathion by of *Bacillus Thuringiensis* MOS-5. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* , 2 (3), 724-732.

Gálviz, C., Burbano, H., & Bonilla, C. (2007). Actividad de fosfatasa ácida en suelos cultivados con papa y praderas del corregimiento de Catambuco, Pasto-Colombia. *Acta Agronómica* , 56 (1).

Garrido, A., González, M., Martínez, J., Arrebola, F., & Hernández, M. (2005). A study of the disappearance of pesticides during composting using a gas chromatography-tandem mass spectrometry technique. *Pest Management Science* , 61 (5), 458-466.

Ghisalba, O., Küenzi, M., Tombo, G., & Schar, H. (1987). Organophosphorus microbial degradation and utilization of selected organophosphorus compounds: strategies and applications. *Chemia*, 41, 206-210.

Ghosal, D., You, I., Chatterjee, D., & Chakrabarty, A. (1985). Microbial Degradation of Halogenated Compounds. *Science Magazine*, 135-142.

Glazer, A., & Nikaidō, H. (2007). *Microbial biotechnology: fundamentals of applied microbiology*. Cambridge: Cambridge University Press.

Gómez Alvarez, Lilliam Eugenia. (2007). La problemática con los pesticidas en Colombia. Revisado el 07 de Marzo de 2010, de La Pluma: http://lapluma.net/es/index.php?option=com_content&task=view&id=258&Itemid=136

Gonçalves, C., & Alpendurada, M. (2005). Assessment of pesticide contamination in soil samples from an intensive horticulture area, using ultrasonic extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Talanta*, 65, 1179-1189.

Goncalves, C., Carvalho, J.J., Azenha, M.A., Alpendurada, M.F. (2006). Optimization of supercritical fluid extraction of pesticide residues in soil by means of central composite design and analysis by gas chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1110 (1-2), 6-14.

González, D. (2007). El complejo enzimático Citocromo P450 en las plantas. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 23 (4), 177-183.

Gutiérrez, M.C., Droguett, M. (2002). La cromatografía de gases y la espectrometría de masas: identificación de compuestos causantes de mal olor. Boletín Intexter (U.P.C.) N 122. Versión Web: <http://upcommons.upc.edu/revistes/bitstream/2099/2733/1/5CROMGASES.pdf>

Hang, S. (2002). *Adsorción y Degradación de Atrazina en Suelos de Superficie y Subsuelo de la Provincia de Córdoba*. Argentina: FCA-Universidad Nacional de Córdoba.

Hang, S. (2003). *Destino de los Plaguicidas en el Ambiente Suelo*. Córdoba, Argentina: Universidad Nacional de Córdoba. Depto de Recursos Naturales. Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Havens, P., & Rase, H. (1993). Reusable Immobilized Enzyme/Polyurethane Sponge for Removal and Detoxification of Localized Organophosphate Pesticide Spills. *Industrial and Engineering Chemistry Research* , 32, 2254-2252.

Hayo, M. (1996). Assesing the impact of pesticides on the environment-agriculture. *Ecosystems and Environment* , 60, 81-96.

Hernández-Soriano, M.C. Mingorance, M.D. Y Peña, A. (2009). Dissipation of insecticides in a Mediterranean soil in the presence of wastewater and surfactant solutions. A kinetic model approach. *Water Research Volume 43*, Issue 9. Pags 2481-2492.

Hetch, D. (Junio de 1998). Bening Urine: industrial cotton is the world's favourite - and most polluting - fabric fibre. *New Internationalist* .

Hornig, L., & Kaufman, D. (1987). *Accelerated biodegradation of several organophosphate insecticides*. Washington, DC.: American Chemical Society.

Hussen A., Westbom R., Megersa N., Mathiasson L., Bjorklund E. (2006). Development of a pressurized liquid extraction and clean-up procedure for the determination of α -endosulfan, β -endosulfan and endosulfan sulfate in aged contaminated Ethiopian soils. *Journal of Chromatography A*, 1103 (2), 202-210.

Hyman, M., & Dupont, R. R. (2001). *Groundwater and soil remediation: process design and cost estimating of proven technologies*. ASCE Publications.

ICA. (2000). *Incidencia de factores sociales, Culturales y Técnicos en el Uso de Agroquímicos por pequeños Productores del Departamento de Antioquia*. Medellín.

Imran, H., Mohammed, A., & Kim, J. (2004). Malathion degradation by Pseudomonas Using activated Sludge treatment System (Biosimulator). *Biotechnology* , 3, 82-89.

INKOA SISTEMAS S.L. (S.F.). *Proyecto "life" de demostración de la tecnología de biorremediación con compostaje para la recuperación y gestión urbanística sostenible de zonas contaminadas en desuso*. Recuperado el Agosto de 2008, de BiOSOIL: http://www.lifebiosoil.com/ca_tecnologia.asp

Interstate Technology and Regulatory Council. (2002). *A Systematic Approach to In Situ Bioremediation in Groundwater*. Kentucky, Louisville.

Jaramillo, J., Rodríguez, V., Guzmán, M., Zapata, M., & Rengifo, T. (2007). *Manual Técnico: Buenas Prácticas Agrícolas en la Producción de Tomate Bajo Condiciones Protegidas*. Medellín: FAO, CORPOICA, MANA.

Jiménez, R., & Gutiérrez, A. (1995). Factores de Control de los Contaminantes. El Suelo como receptor y amortiguador de la contaminación. En F. López, & F. Ayala, *Contaminación y Depuración de Suelos* (págs. 35-47). Madrid: Instituto Tecnológico Geominero de España.

Jin, G., Englande, A., & Qiu, Y. (2003). An Integrated Treatability Protocol for Biotreatment/Bioremediation of Toxic Pollutants Generated by Chemical Industries. *Journal of Environmental Science and Health Part A - Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering*, 38 (4), 597-607.

Jokanovic', M. (2001). Biotransformation of organophosphorus compounds. *Toxicology*, 166, 139-160.

Juhasz, A., Waller, N., Lease, C., Bentham, R., & Stewart, R. (2005). Pilot Scale Bioremediation of Creosote-Contaminated Soil—Efficacy of Enhanced Natural Attenuation and Bioaugmentation Strategies. *Bioremediation Journal*, 141-157.

Kamrin, M. (1997). *Pesticide profiles: toxicity, environmental impact, and fate*. Florida, US: CRC Press.

Karickhoff, S., Brown, D., Scott, T. (1979). Sorption of hydrophobic pollutants on natural sediments. *Water research*, 13 (3), 241-248.

Karnchanasest, B., Hawker, D., Luepromchai, E., Romyen, S. (2007). Potential of Agricultural By-product in Reducing Chlorpyrifos Leaching Through Soil. *Journal of Applied Sciences*, 7 (18), 2686-2690.

Karpouzas, D. G., Fotopoulou, A., Menkissoglu, U., & Singh, B. K. (2005). Non-specific biodegradation of the organophosphorus pesticides, cadusafos and ethoprophos, by two bacterial isolates. *FEMS microbiology ecology*, 369-378.

Karpouzas, D., & Singh, B. (2006). Microbial Degradation of Organophosphorus Xenobiotics: Metabolic Pathways and Molecular Basis. *Advances in Microbial Physiology*, 51, 119-225.

Karpouzas, D., Hatziapostolou, P., Papadopoulou, E., Giannakou, I., & Georgiadou, A. (2004). The Enhanced Biodegradation of Fenamiphos in Soils from Previously Treated Sites and the Effect of Soil Fumigants. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 23 (9), 2099-2107.

- Kearney, P., & Kellogg, S. (1985). Microbial adaptation to pesticides. *Pure & Appl. Chem.* , 389-403.
- Keener, H., Dick, W., & Hoitink, H. (2001). Composting and beneficial utilization of composted by-product materials. En J. Power, & W. Dick, *Land Application of Agricultural, Industrial, and Municipal By-products* (págs. 315-341). Madison, WI.: Soil Science Society of America.
- Kennes, C., Lema, J., & Veiga, M. (1994). *Biodegradación de Compuestos Orgánicos Tóxicos*. España: Universidad de Santiago de Compostela. Ingeniería Química.
- Keprasertsupa, C., Upathamb, E., Sukhapanthb, N., & Prempreed, P. (2001). Degradation of Methyl Parathion in an Aqueous Medium by Soil Bacteria. *ScienceAsia* , 27, 261-270.
- Kerle, E., Jenkins, J., & Vogue, P. (2007). *Understanding pesticide persistence and mobility for groundwater and surface water protection*. U.S.A.: Oregon State University.
- Kleiböhmer, Wolfgang. (2001). Environmental analysis. Elsevier Science B.V. Ámsterdam. 324 págs.
- Kohmann, K. (1999). Side-effects of Formulations of Permethrin and Fenvalerate Insecticides on Frost Resistance and Field Performance of Picea Abies Seedlings. *Scandinavian Journal of Forest Research* , 14, 355-360.
- Kong, W.-D., Zhu, Y.-G., Fu, B.-J., Han, X.-Z., Zhang, L., & He, J.-Z. (2008). Effect of Long-Term Application of Chemical Fertilizers on Microbial Biomass and Functional Diversity of a Black Soil. *Pedosphere* , 18 (6), 801-808.
- Kramer, B.K., Ryan, P.B. (2000). Soxhlet and microwave extraction in determining the bioaccessibility of pesticides from soil and model solids. *Conf. Hazard. Waste Res.*, 196-210.
- Kudsk, P., & Mathiassen, S. (2004). Joint action of amino acid biosynthesis-inhibiting herbicides. *Weed Research* , 44 (3), 313-322.
- Lacorte, S., Ehresmann, N., & Barcelo, D. (1995). Stability of Organophosphorus Pesticides on Disposable Solid-Phase Extraction Precolumns. *Environmental Science and Technology* , 29, 2834-2841.

Leconte, M.C., Mazzarino, M.J., Satti, P., Iglesias, M.C., Laos, F. (2009). Co-composting rice hulls and/or sawdust with poultry manure in NE Argentina. *Waste Management*, 29 (9), 2446-2453.

LeNoir, J., Cahill, T., Sieber, J., McConnell, L., & Fellers, G. (1999). Summertime Transport of Current Use Pesticides from the California Central Valley to Sierra Nevada Mountain Range. *Environ. Toxicol. and Chem.* , 18 (12), 2715-2722.

Leys, N., Bastiaens, L., & Verstraete, W. (2005). Influence of the carbon/nitrogen/phosphorus ratio on the polycyclic aromatic hydrocarbon degradation by Mycobacterium and Sphingomonas in soil. *Environmental Biotechnology* , 726-736.

Lopera, M.M., Peñuela, G.A., Domínguez, M.C., Mejía, G.M. (2005). Evaluación de la degradación del plaguicida clorpirifos en muestras de suelo utilizando el hongo *Phanerochaete chrysosporium*. *Revista Facultad de Ingenierías*. No 33. Págs. 58-69.

López, J. I., Navarro, M., & González, S. (2000). Tratamiento de Descontaminación de Materia Orgánica Residual: Límites Alcanzados en Metales Pesados. *Edafología* , 7 (3), 151-157.

Ludwig H. (1994). Buenas prácticas de laboratorio y Buenas prácticas de fabricación actuales. Hewlett-Packard Company.

Malato, S., Blanco, J., Estrada, C., & Bandala, E. (2000). *Degradación de Pesticidas*. Recuperado el 11 de Agosto de 2008, de <http://www.psa.es/webeng/solwater/files/CYTED01/19cap12.pdf>

Maroto, M. E., & Rogel, J. M. (2000). Aplicación de Sistemas de Biorremediación de Suelos y Aguas Contaminadas por Hidrocarburos. *GEOCISA. Div. Protección Ambiental de Suelos.* , 297-305.

Marquez, S. (2001). *Evaluación de algunos efectos de la contaminación por aplicación de Lorsban (clorpirifos) en un suelo y un cultivo de Kikuyo. (Pennisetum clandestinum Hochst ex Chiov) en el Norte Antioqueño.*. Medellín: Universidad de Antioquia.

Martin, C., Vega, D., Bastide, J., & Davet, P. (2006). Enhanced degradation of iprodione in soil after repeated treatments for controlling *Sclerotinia minor*. *Plant and soil* , 127 (1), 140-142.

Matsumura, F. (1988). Degradation of pesticides in the environment by microorganisms and sunlight. En K. Matsumura F., *Biodegradation of pesticides* (págs. 67-87). New York: Academic Press.

McLaren, A., & Bollag, J. (1993). *Soil Biochemistry*. New York, NY: Marcel Dekker, INC.

Medina Franco, Gilberto (2006) En publicación: Medina Franco, Gilberto. Historia sin fin. Las milicias en Medellín en la década del 90. Capítulo VII. Moravia. Instituto Popular de Capacitación (IPC), Medellín, Colombia. Revisado el 6 de Marzo de 2010, de: <http://bibliotecavirtual.clacso.org.ar/ar/libros/colombia/ipc/historiamilicias.pdf> ISBN: 9589783007.

Mediterranea de Agroquímicos. (S.F.). *El Suelo*. Recuperado el 29 de Julio de 2008, de <http://www.mediterraneadeagroquimicos.es/Informa/suelo2.htm>

Mennendez, G., & Cañibano., J. (1985). *Técnicas de Tratamiento de Residuos Tóxicos y Peligrosos*. Asturias, España: Ingeniería Química. Universidad de Oviedo.

Milla, O., & Palomino, W. (2002). *Niveles de colinesterasa sérica en agricultores de la localidad de Carapongo (Perú) y determinación de residuos de plaguicidas inhibidores de la Acetilcolinesterasa en frutas y hortalizas cultivadas*. Lima, Peru: Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Miller, E., & Cox, J. (2002). *Control Menos Tóxico de Plagas. Pesticidas que presentan problemas*. California: Distrito Sanitario de Central Contra Costa (CCCSD).

Ministerio del Medio Ambiente. (2000). *Informe Nacional sobre el Uso y Manejo de Plaguicidas en Colombia, Tendiente a Identificar y Proponer Alternativas para Reducir el Esguerrimiento de Plaguicidas al Mar Caribe*. Bogotá.

Mitchell, J., & Cain, R. (1996). Rapid onset of the accelerated degradation of dicarboximide fungicides in a UK soil with a long history of agrochemicals exclusion. *Pesticide Science* , 1-11.

Mohd, M.S., Nurul, F.Y., Mazidatulakmam, M., Wan, A.W., Hassan, Y. (2010). Analysis of organophosphorus pesticides in vegetable samples by hollow fiber liquid phase microextraction coupled with gas chromatography-electron capture detection. *Journal of liquid chromatography & related technologies*, 33 (5), 693 – 703.

Mojocoa, M. (2004). *Efecto del Uso del Clorpirifos en Maíz (Zea mays L.) Sobre los Artrópodos No Blanco del Suelo*. Ibagué: Universidad del Tolima.

Montenegro, R. (2001). *Informe sobre los riegos sanitarios del Malatión*. Córdoba, Argentina.

Moreno, J., Mormeneo, S. (2008). Microbiología y bioquímica del proceso de compostaje. En: Moreno, J., Moral, R., Compostaje. Mundi-prensa. Madrid. 570 Págs.

Mora, J. (2006). La actividad microbiana: un indicador integral de la calidad del suelo. *Revista Luna Azul*. No 5. Universidad de Caldas.

Morel-Chevillet, C., Parekh, N., Pautrel, D., & Fournier, J. (1996). Cross-enhancement of carbofuran biodegradation in soil samples previously treated with carbamate pesticides. *Soil Biology and Biochemistry* (28), 1767–1776.

Moreno, J., & Mormeneo, S. (2008). Microbiología y bioquímica del proceso de compostaje. In J. Moreno, & R. Moral, *Compostaje* (p. 570).

Morgan, P., & Watkinson, R. (1989). Hydrocarbon degradation in soils and methods for soils biotreatment. *CRC Critical Rev. in Biotechnol* , 8, 308-310.

Mosquera, R. (2007). *Biodegradación de Malatión Utilizando Microorganismo Nativos de Suelos Agrícolas*. Medellín: Universidad de Antioquia.

Motta, B. (1990). *Métodos analíticos del laboratorio de suelos*. (5ª ed.). Santa Fé de Bogotá.

Müller, S., Núñez, J., & Ramírez, L. (1998). *Indicadores para el uso de la tierra*. IICA/GTZ, Costa Rica.

Munnecke, D. (1976). Enzymatic hidrolisis of organophosphate insecticides, a possible pesticide disposal method. *Applied and Environmental Microbiology* , 32, 7-13.

Murcia, A.M., Stashenko, E. (2008). Determinación de plaguicidas organofosforados en vegetales producidos en Colombia. *Agro Sur*, 36 (2), 71-81.

Naciones Unidas. (2005). *Objetivos de Desarrollo del Milenio: Una Mirada desde América Latina y el Caribe*. Santiago de Chile.

Nápoles, J., Marañón, A., Cumbá, F., Anllo, Y., & Abalos, A. (2005). Tratabilidad de Suelos Contaminados con Petróleo Aplicando Microcosmos. *Revista Cubana de Química* , 179-188.

Navarrete, P. (1995). Contaminación de Suelos por Productos Orgánicos. Plaguicidas. En F. López, & F. Ayala, *Contaminación y Depuración de Suelos* (págs. 59-75). Madrid: Instituto Tecnológico GeoMinero de España.

Neal, R., McCool, P., & Younglove, T. (1993). *Assessment of Malathion and Malaoxon Concentration and Persistence in Water, Sand, Soil and Plant Matrices Under Controlled Exposure Conditions*. University of California. Riverside, CA: California Department of Pesticide Regulation.

New Jersey Department of Health and Senior Services. (1999). *Metil ParatiÓN. Hoja Informativa sobre Sustancias Peligrosas*. New Jersey. Revisado en Agosto de 2008, de: <http://nj.gov/health/eoh/rtkweb/documents/fs/1283.pdf>

Newhart, K. (2006). *Environmental Fate of Malathion*. California: Department of Pesticide Regulation. California Environmental Protection Agency.

Nivia, E. (1993). Degradación de Suelos por el Uso de Plaguicidas. *La Era Agrícola*. Revisado en Septiembre de 2008, Versión Web: http://www.eraecologica.org/revista_18/era_agricola_18.htm?degradacion_suelos.htm~mainFrame

NOTICyT, A. d. (2003). *En Colombia Las cifras que hablan de plaguicidas son deficientes*.

Nollet, L., Signh H. (2009). *Handbook of Pesticides: Methods of Pesticide Residues Analysis*. CRC Press. Boca Ratón. 608 Págs.

Núñez, C.E. (2008). Extracción con Soxhlet. Consultado el 21/03/2010 de: <http://www.cenunez.com.ar/Documentos%20lab.%20quím/Extracción%20con%20equipo%20Soxhlet.pdf>

Nyer, E. (1993). *Practical Techniques for Groundwater and Soil Remediation*. Boca Ratón, U.S.A. : Lewis Publishers.

Ohisa, N., & Yamaguchi, M. (1978). Gamma-BHC degradation accompanied by the growth of *Clostridium rectum* isolated from paddy field soil. *Agricultural Biology and Chemistry* , 1819-1821.

Olguín L.P., Rodríguez, H.M. (2004). Métodos de Biotecnología: Cromatografía de gases. Instituto de Biotecnología. Universidad Nacional Autónoma de México. 46 págs.

Onuska, F. I., Terry, K. A. (1993). Extraction of pesticides from sediments using a microwave technique. *Chromatographia*, 36 (1), 191-194.

Organización Mundial de la Salud (OMS). (1998). Investigación en Salud y Ambiente XXXIII. Reunión del Comité Asesor de Investigaciones en Salud de la Organización Panamericana de la Salud. Caracas, Venezuela: OPS/CAIS/98.05.

Ortiz, M., Monterrosas, M., Yáñez, G., & Sánchez, E. (2001). Biodegradation of Methyl Parathion by Bacteria Isolated of Agricultural Soil. *Rev. Int. Contam. Ambient.* , 17, 147-155.

Osorio, L.M., Corrales, R., Ossa, C.M. (2000). Situación de saneamiento básico relacionado con la infestación de roedores en el barrio Moravia de la ciudad de Medellín. Tesis. Facultad Nacional de Salud Pública. Universidad de Antioquia. Medellín. 172 págs.

Ospina, J. (1999). *Tecnología del Cultivo de Maíz*. Santa Fé de Botogá: Promedios.

Papini, S., & De Andréa, M. (2001). Enhanced degradation of metalaxyl in agricultural soils of São Paulo State, Brazil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* , 36 (1).

Paschal, D., & Neville, M. (1976). Chemical and Microbial Degradation of Malaoxon in an Illinois Soil. *Journal Environmetnal Quality* , 5, 441-443.

Perrin-Ganier, C., Schiavon, F., Morel, J.-L., & Schiavon, M. (2001). Effect of sludge-amendment or nutrient addition on the biodegradation of the herbicide isoproturon in soil. *Chemosphere* , 887-892.

Pignatello, J. (1998). Soil organic matter as a nanoporous sorbent of organic pollutants. *Advances in Colloid and Interface Science* , 445-467.

PRTR-España. (2007). *Clorpirifos*. Recuperado el 24 de Julio de 2008, de Ministerio de Medio Ambiente: <http://www.prtr-es.es/Clorpirifos,15619,11,2007.html>

Racke, K., & Coats, J. (1990). *Enhanced biodegradation of pesticides in the environment*. Washington, DC: American Chemical Society.

Racke, K., & Coats, J. (1990). Pesticide in Soil microbial ecosystems. *American Chemical Society Symposium Series*, 426, 1-12.

Racke, K., Laskowski, D., & Schultz, M. (1990). Resistance of chlorpyrifos to enhanced biodegradation in soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38 (6), 1430-1436.

Rajagopal, B., Brahma Prakash, G., & Sethunathan, N. (1983). *Degradation of Carbofuran by enrichment cultures and pure culture of bacteria from flooded soils*. India: CRRI - ICAR.

Rajaram, K., Rao, Y., & Sethunathan, N. (1978). Inhibition of biological hydrolysis of parathion in rice straw-amended flooded soil in its reversal by nitrogen compounds and aerobic conditions. *Pesticide Science*, 155-160.

Ramirez, A. H., & Meschy, F. (2005). Requerimiento de fósforo de los Microorganismos ruminales: una revisión. *INCI*, 30 (11), 664-670.

Ramírez, L.G. (2009). Determinación de pesticidas en vegetales mediante cromatografía de gases-espectrometría de masa/masa (GC-MS/MS). Tesis. Universidad Tecnológica de la Mixteca. Oaxaca, México. 104 págs.

Reverchon, E., De Marco, I. (2006). Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter. *Journal of Supercritical Fluids*, 38 (2), 146-166.

Rodríguez, J. L., & Sánchez, J. (2004). Aspectos tecnológicos y aplicación al vertido del Prestige: Biorremediación. *Universidad de Oviedo*.

Roger, P., & Bhuiyan, S. (1995). Behavior of pesticides in rice-based agroecosystems: A Review. En P. L. Pingali, & P. A. Roger, *Impact of pesticides on farmer health and the rice environment* (pág. 664). Washington D.C.: International Rice Research Institute.

Roldan-Martin, e. (2007). Solid culture amended with small amounts of raw coffee beans for the removal of petroleum hydrocarbon from weathered contaminated soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 60, 35-39.

Ruiz, S. (10 de Febrero de 2001). *Desarrollo de métodos de electroforesis capilar en fase micelar. Aplicación al análisis de herbicidas y de sus productos de degradación*. Revisado en Septiembre de 2008, de <http://www.tdx.cat/TDX-0130102-115958>

Saenz B., Sanz, J. Plaza, M., Pkez, M. (1995). Evaluation of the decay of malathion, dichlofluanid and fenitrothion pesticides in apple samples, using gas chromatography. *Food Chemimy*, 52, 305-309.

Sánchez, J., & Rodríguez, J. L. (2004). Biorremediación. Fundamentos y Aspectos Microbiológicos. . *Universidad de Oviedo* , 12-16.

Saleh, N., Sanagi, M. M. (2009). Comparison of pressurized liquid extraction with soxhlet extraction in the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil. *The malaysian journal of analytical sciences*, 13 (1), 141 – 145.

Saval, S. (1998). *La Biorremediación como Alternativa para la Limpieza de Suelos y Acuíferos*. México D.F.: Universidad Nacional Autónoma de México.

Schmidt, H., & Baron, C. (2003). The Competitiveness of *Pseudomonas chlororaphis* Carrying pJP4 Is Reduced in the *Arabidopsis thaliana* Rhizosphere. *Applied and Environmental Microbiology* , 1827-1831.

Schroll, R., Becher, H. H., Dörfler, U., Gayler, S., Grundmann, S., Hartmann, H. P., y otros. (2006). Quantifying the Effect of Soil Moisture on the Aerobic Microbial Mineralization of Selected Pesticides in Different Soils. *Environmental Science & Technology* , 40 (10), 3305-3312.

Semple, K., Reid, B., & Fermor, T. (2001). Impact of composting strategies on the treatment of soils contaminated with organic pollutants. *Environmental Pollution* , 112, 269-283.

Senapati, H., & Padhihari, H. (2002). Effect of organic, inorganic fertilizers and liming on persistence and degradation of phorate in acid laterite soil of Orissa . *Journal of the Indian Society of Soil Science* , 168-171.

Sanghi, R., Kannamkumarath, S. S. (2004). Comparison of Extraction Methods by Soxhlet, Sonicator, and Microwave in the Screening of Pesticide Residues from Solid Matrices. *Journal of Analytical Chemistry*, 59 (11), 1032–1036.

Shapir, N., Mongodin, E., Sadowsky, M., Daugherty, C., Nelson, E., & Wackett, L. (2007). Evolution of Catabolic Pathways: Genomic Insights into Microbial s-Triazine Metabolism. *Journal of Bacteriology* , 189 (3), 674-682.

Shapir, N., Rosendahl, C., Johnson, G., Andreina, M., Sadowsky, M., & Wackett, L. (2005). Substrate specificity and colorimetric assay for recombinant TrzN

derived from *Arthrobacter aurescens* TC1. *Appl. Environ. Microbiol* , 71, 2214–2220.

Siddaramappa, R., & Seiber, J. (1979). Persistence of Carbofuran in flooded rice soils and water. *Progressive water technology* , 103-111.

Sikora, L., Kaufman, D., & Horng, L. (1990). Enzyme activity in soils showing enhanced degradation of organophosphate insecticides. *Biology and Fertility of Soils* , 9 (1), 14-18.

Singer, A., & Crohn, D. (2002). *Persistence and Degradation of Pesticides in Composting*. California: University of California.

Singh B.K., W. A. (2006). Microbial degradation of organophosphorus compounds. *FEMS Microbiol. Rev* , 30 (3), 428-471.

Singh, A., & Ward, O. P. (2004). *Applied bioremediation and phytoremediation*. Springer.

Singh, B., Walker, A., & Wright, D. (2005). Cross-enhancement of accelerated biodegradation of organophosphorus compounds in soils: Dependence on structural similarity of compounds. *Soil Biology and Biochemistry* , 1675-1682.

Singh, B., Walker, A., & Wright, D. (2005). Cross-enhancement of accelerated biodegradation of organophosphorus compounds in soils: Dependence on structural similarity of compounds. *Soil Biology and Biochemistry* , 1675-1682.

Singh, B., Walker, A., & Wright, D. (2002). Degradation of chlorpyrifos, fenamiphos, and chlorothalonil alone and in combination and their effects on soil microbial activity. *Environmental toxicology and chemistry* , 21 (12), 2600-2605.

Singh, B., Walker, A., J.A., M., & Wright, D. (2004). Biodegradation of Chlorpyrifos by *Enterobacter* Strain B-14 and Its Use in Bioremediation of Contaminated Soils. *Applied and Environmental Microbiology* , 70 (8), 4855-4863.

Singh, B., Walker, A., Morgan, J., & Wright, D. (2003). Role of Soil pH in the Development of Enhanced Biodegradation of Fenamiphos. *Applied and Environmental Microbiology* , 69 (12), 7035-7043.

Skoog, D., Holler, F.J., Nieman, T.A. (1992). *Principios de Análisis Instrumental*. McGraw-Hill. Quinta Edición. Madrid.

Skujins, J. (1976). Extracellular enzymes in soil. *Crit. Rev. Microbiol* , 383-421.

Spectrum Laboratory. (2003). *Methyl Parathion. Chemical Fact Sheet*. FL, U.S.A.: Spectrum Laboratory. Revisado en Agosto de 2008, de <http://www.speclab.com/compound/c298000.htm>

Spier, T., & Ross, D. (1978). Soil phosphatase and Arylsuphatase. En R. Burns, *Soil Enzymes* (págs. 197-250). New York: Academic Press.

Spiers, G., & McGill, W. (1979). Effects of phosphorus addition and energy supply on acid phosphatase production and activity in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 11 (1), 3-8.

Stoffella, P. (2005). *Utilización de Compost en los Sistemas de Cultivo Hortícola*. Mundi-Prensa.

Stratton, M., & Rechcigl, J. (1998). Agronomic benefits of agricultural, municipal, and industrial by products and their co-utilization: an overview. En S. Brown, J. Angle, & L. Jacobs, *Beneficial Co-utilization of Agricultural, Municipal, and Industrial By-products* (págs. 9-34). Dordrecht, the Netherlands: Kluwer Academic Publishers.

Sublette, K., Jennings, E., Mehta, C., Duncan, K., Brokaw, J., Todd, T., y otros. (2007). Monitoring Soil Ecosystem Recovery Following Bioremediation of a Terrestrial Crude Oil Spill With and Without a Fertilizer Amendment. *Soil & Sediment Contamination*, 181-208.

Sudhakar-Barik, & Sethunathan, N. (1979). Persistence of parathion increased by benomyl in flooded soil. *Progressive Water Technology*, 113-119.

Sun, N., Hao, L., Xue, J., Jin, H., Tian, J., Lin, R. (2007). Multi-residue Analysis of 18 Organochlorine Pesticides in 10 Traditional Chinese Medicines by Gas Chromatography (GC). *J. Health Sci.*, Vol. 53, 464-469.

Tabatabai, A. (1994). Soil Enzymes. En R. Weaver, J. Angle, & P. Bottomley, *Methods of soil analysis, Part. 2. Microbiological and Biochemical Properties*. (Second Edition ed., págs. 775-833). Madison, U.S.A.: Soil Science Society.

Tang, C., & Song, L. (1996). Spontaneous N,N'-dibutylurea (DBU) formation in benlate DF® formulation under elevated temperatures. *Environmental Intoxication and Toxicology*, 30, 403-406.

Tarradellas, J., Bitton, G., & Rossel, D. (1997). *Soil ecotoxicology*. CRC Press.

Top, E., & Springael, D. (2003). The role of mobile genetic elements in bacterial adaptation to xenobiotic organic compounds. *Curr. Opin. Biotechnol*, 262-269.

Topp, E., Tessier, L., & E.G., G. (1996). Dairy manure incorporation stimulates rapid atrazine mineralization in an agricultural soil. *Canadian Journal of Soil Science* , 403-409.

Tor, A., Aydin, M.E., Ozcan, S. (2006). Ultrasonic solvent extraction of organochlorine pesticides from soil. *Analytica Chimica Acta*, 559 (2),173-180.

Torres, L., Santacruz, G., & Bandala, E. (1999). *Bioremediation of Nitroaromatic and Haloaromatic Compounds*. Ohio, U.S.A.: Columbus.

U.S. Department of Agriculture. (Enero de 1998). Soil Quality Concerns: Pesticides. *Soil Quality Information Sheet* .

U.S. Congress-Office of technology assessment. (1988). Pesticide residues in food: Technologies for Detection. OTA-F-398. U.S. Government printin office Washington, D.C.

Universidad de Extremadura. (2004). Contaminación del suelo por Pesticidas. En A. d. Agrícola, *Gestión y conservación del suelo*. España: Universidad de Extremadura.

Vallejos, M. (2003). *Efectos de los Plaguicidas en el Suelo*. Managua: Gobierno de Nicaragua. Ministerio del Ambiente y los Recursos Naturales (MARENA).

van der Meer, J., & Sentchilo, V. (2003). Genomic islands and the evolution of catabolic pathways in bacteria. *Curr. Opin. Biotechnol* , 248–254.

Van Der Wef, H. (1996). Assessing the impact of pesticides on the environment. *Agriculture, Ecosystems & Environment* , 60, 81-96.

Vidali, M. (2001). Bioremediation. An Overview. *Pure Appl. Chem.* , 73 (7), 1163-1172.

Wackett, L., & Hershberger, C. (2001). *Biocatalysis and Biodegradation: Microbial Transformation of Organic Compounds*. Washington, D.C.: ASM Press.

Walter, M. (1997). Bioaugmentation. En C. Hurst, *Manual of Environmental Microbiology* (págs. 753-765). Washington, D.C.: ASM Press.

Wang, X., Wu, N., Guo, J., Chu, X., Tian, J., Yao, B., Fan, Y. (2008). Phytodegradation of organophosphorus compounds by transgenic plants expressing a bacterial organophosphorus hydrolase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 365 (3), 453-458.

Warton, B., Matthiessen, J., & Shackleton, M. (2003). Cross-enhancement: enhanced biodegradation of isothiocyanates in soils previously treated with metham sodium. *Soil Biology and Biochemistry* , 1123–1127.

Weber, J. B. (1994). Properties and Behavior of Pesticides in Soil. En R. Honeycutt, & D. Schabacker, *Mechanisms of pesticides movement into ground water* (págs. 15-41).

Weber, J. (1994). Properties and Behavior of Pesticides in Soil. En R. Honeycutt, & D. Schabacker, *Mechanisms of pesticides movement into groundwater* (págs. 15-41).

West Nile Virus Control. (Abril de 2005). *Toxicologic Information About Insecticides: Malathion*. Revisado en Septiembre de 2008, de: http://www.atsdr.cdc.gov/consultations/west_nile_virus/Malathion.html

World Health Organization (WHO). (1993). Environmental Health Criteria for Methyl Parathion. Geneva. 244 págs.

WHO. (1976). *Organophosphorus Insecticides: A General Introduction*. Geneva: Environmental Health Criteria.

WHO, World Health Organization. (1993). *Methyl Parathion*. Geneva: International Programme on Chemical Safety .

Wilson, S., & Jones, K. (1993). Bioremediation of soil contaminates with polynuclear aromatic hydrocarbon (PAHs): a review. *Environmental Polluted* , 1103-1106.

World Health Organization -WHO-. (1993). *Methyl Parathion: Environmental Health Criteria*. Geneva: Fraunhofer Institute of Toxicology and Aerosol.

XIE, S., LIU, J., LI, L., & QIAO, C. (2009). Biodegradation of malathion by *Acinetobacter johnsonii* MA19 and optimization of cometabolism substrates. *Journal of Environmental Sciences* , 21, 76-82.

Xie, W., Zhou, J., Chen, X., & Wang, H. (2007). Effect of Long-Term Fertilization on the Persistence of Cypermethrin in Soil. *Better Crops* , 10-11.

Xie, W., Zhou, J., Wang, H., & Chen, X. (2008). Effect of Nitrogen on the Degradation of Cypermethrin and Its Metabolite 3-Phenoxybenzoic Acid in Soil. *Pedosphere* , 18 (5), 638–644.

Zhang, X.X. Cheng S. P., Zhu, C.J., Sunm, S.L. (2006). Microbial PAH-degradation in soil: degradative pathways and contributin factors. *Pedosphere*, 16(5):555-565.

Zhang, B., Pan, X., Cobb, G.P., Anderson, T.A. (2005). Use of pressurized liquid extraction (PLE)/gas chromatography-electron capture detection (GC-ECD) for the determination of biodegradation intermediates of hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine (RDX) in soils. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 824 (1-2), 277-282.

Zeinat, K. M., Mohamed, A., & Sherif, E. (2008). Biodegradation and Detoxification of Malathion by of *Bacillus Thuringiensis* MOS-5. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* , 2 (3), 724-732.