



Tratamiento biológico del suelo

Esquema general

Al final del presente capítulo, deberá estar preparado para:

- Explicar algunos de los aspectos básicos de la biodegradación y los compuestos xenobióticos.
- Identificar dos enfoques del tratamiento biológico del suelo.
- Comparar las ventajas y desventajas del tratamiento biológico con el tratamiento convencional de desechos.
- Discutir cómo utilizar el enriquecimiento análogo de sustratos para mejorar el cometabolismo de los xenobióticos.
- Explicar algunos de los métodos utilizados para tratar biológicamente los residuos del petróleo en el suelo.
- Identificar los criterios y las técnicas que se emplean para tratar biológicamente los residuos acuíferos.
- Describir de qué manera se usan las enzimas para tratar biológicamente los compuestos tóxicos.
- Identificar los criterios necesarios para inocular microorganismos en el tratamiento biológico del suelo.

Introducción

El principio de la infalibilidad microbiana señala que todos los compuestos naturales son biodegradables siempre que se den ciertas condiciones ambientales favorables. El término «xenobiótico» hace referencia a compuestos artificiales extraños para los sistemas biológicos y contienen estructuras y enlaces que no se producen en los sistemas biológicos. Los compuestos xenobióticos pueden ser polímeros, gases, compuestos polihalogenados o polibromurados, o bien pesticidas. El tratamiento biológico es el proceso consistente en limpiar los lugares contaminados. La biodegradación hace referencia a los procesos del tratamiento biológico mediante los cuales se transforman los agentes xenobióticos en estados menos tóxicos. El simple hecho de que un compuesto haya sido biodegradado no significa que los productos de la descomposición sean menos tóxicos o indeseables. La mineralización suele significar la descomposición de iones xenobióticos para formar iones inorgánicos y CO_2 . Ésta es la situación más deseable, puesto que los productos finales por lo general no resultan tóxicos.

Las moléculas recalcitrantes son materia orgánica fosforizada (humus), compuestos poliaromáticos (tarinos y ligninas), microorganismos persistentes (endosporas y hongos fícos en melanina), moléculas sintéticas (fungicidas, nematocidas, herbicidas, insecticidas), bifenilos polihalogenados (agentes retardantes de la llama y disolventes), plásticos y detergentes. La persistencia de los compuestos xenobióticos, que puede ser de días o años, así como las imperceptibles alteraciones que experimentan algunos compuestos biodegradables pueden convertirlos en elementos recalcitrantes.

En el presente capítulo trataremos acerca de la biodegradación, explicando unos cuantos ejemplos específicos de tecnologías y prácticas utilizadas en el tratamiento biológico.

Enfoques acerca del tratamiento biológico

Existen dos enfoques principales sobre el tratamiento biológico:

1. Modificación ambiental (por ejemplo, mejorar la actividad potencial de los microorganismos existentes mediante la fertilización y la aireación).

2. Incorporación de microorganismos apropiados y, en ocasiones, selectivos.

El tratamiento biológico puede realizarse en el lugar (*in situ*) o en instalaciones especiales (*ex situ*).

Existen varias ventajas en el tratamiento biológico en comparación con la eliminación tradicional de desechos. Los productos finales no suelen ser tóxicos si se produce la mineralización completa. Otra actividad biológica en el lugar contaminado permanece relativamente intacta. El tratamiento biológico no resulta caro en comparación con los métodos físicos de limpieza, al tiempo que el tratamiento biológico requiere el uso de equipo simple.

Por otra parte, el tratamiento biológico presenta ciertas desventajas. Resulta necesaria una elevada concentración de desechos para estimular el crecimiento de los microorganismos del tratamiento. Existen limitaciones en los materiales que cabe tratar, puesto que pueden ser inherentemente recalcitrantes o tóxicos. El tratamiento biológico se limita a las condiciones ambientales existentes en el lugar contaminado. El destino de los compuestos xenobióticos depende de las propiedades intrínsecas de éstos y de la población microbiana, así como de los factores extrínsecos inherentes al ambiente. Si existe demasiado calor o frío, exceso de sequedad, o el ambiente está demasiado ácido o alcalino, el tratamiento biológico se ralentiza o se detiene por completo. El tratamiento biológico está limitado por el tiempo disponible para el tratamiento. Hace falta más tiempo para tratar biológicamente un lugar contaminado que para usar medios químicos o físicos.

Metabolismo, cometabolismo y tratamiento biológico

El tratamiento biológico está basado en el metabolismo microbiano. Los compuestos xenobióticos pueden servir de sustrato para el crecimiento microbiano y para la obtención de energía, o bien pueden ser cometabolizados. Los compuestos xenobióticos soportan el crecimiento microbiano si es metabolizado (véase la figura 31.1). Los compuestos xenobióticos se convierten en fuentes de C, N, S y energía. Si se añade un compuesto xenobiótico al suelo, la población microbiana aumenta. Los microorganismos que crecen específicamente a partir de un compuesto xenobiótico pueden aislarse mediante un cultivo de enriquecimiento.

El compuesto xenobiótico puede estar modificando, pero no sirve como fuente de nutrientes. Este he-

cho se denomina cometabolismo. Los microorganismos no obtienen energía de la reacción de transformación y requieren otro sustrato para su crecimiento, lo que suele producir modificaciones simples que pueden aumentar o disminuir la toxicidad del compuesto xenobiótico. De esta manera, no se produce crecimiento alguno, ni la población se desarrolla debido a la incorporación del sustrato. El nivel de degradación es constante y depende de los factores que controlen la población degradante. No es posible aislar a los

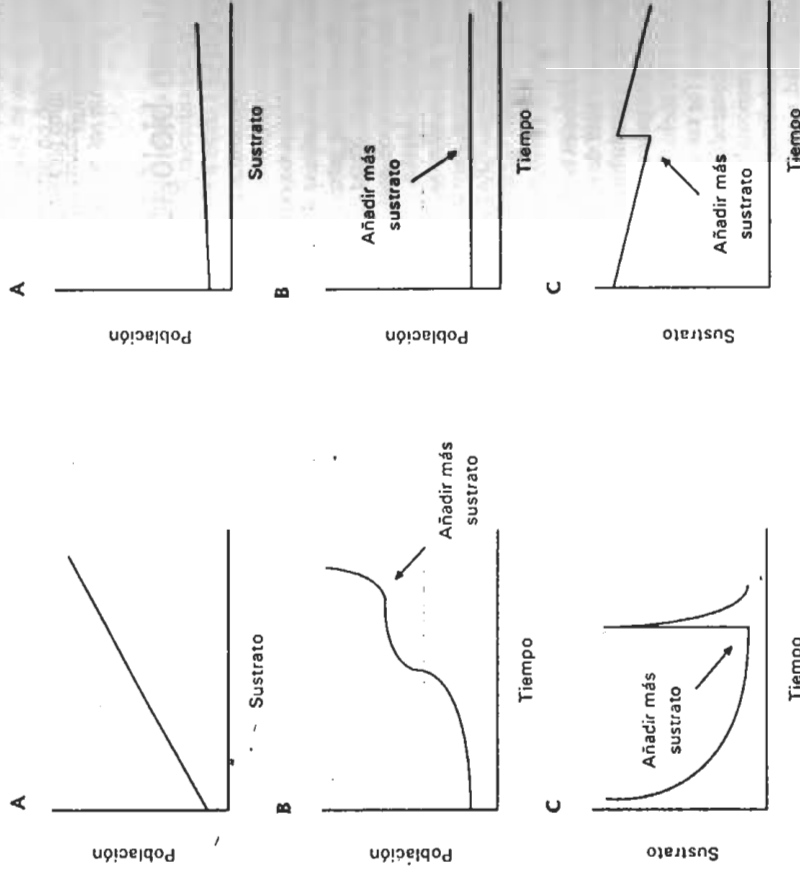
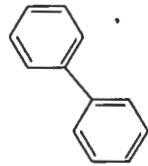


Figura 31.1. Cultivo de enriquecimiento. Si la concentración de compuesto xenobiótico no es tóxica, existe, por lo general, una relación directa entre la cantidad de producto xenobiótico añadido y la magnitud del crecimiento microbiano observado (a). Cada vez que se añade más compuesto xenobiótico, se estimula el crecimiento adicional (b). Una consecuencia del crecimiento estimulado es que cada incorporación de producto xenobiótico deberá desaparecer más rápidamente, puesto que hay más células que lo degradan y porque las enzimas implicadas en la biodegradación ya han sido inducidas (c).

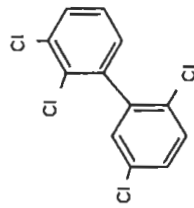
Figura 31.2. Falta de enriquecimiento por parte de los microorganismos que cometabolizan. En vista de que el compuesto xenobiótico añadido no soporta el crecimiento microbiano adicional (a), no hay efecto alguno en la incorporación del compuesto xenobiótico en una población cometabolizante (b). El compuesto xenobiótico se cometaboliza en un ritmo constante, independientemente de si se añade mayor cantidad, a la vez que nunca se podrá obtener más microbios metabolizantes a menos que se añada algo que estimule su crecimiento (c).

cometabolizadores mediante enriquecimiento (véase la figura 31.2). Los compuestos xenobióticos que han sido cometabolizados suelen ser relativamente persistentes.

Si un material es cometabolizado, los microorganismos que aceleran su degradación pueden enriquecerse utilizando un sustrato análogo (véase la figura 31.3). Por ejemplo, la incorporación de bifenil aumenta la población de los microorganismos que cometabolizan el PCB (Brunner y cols., 1985), a la



Bifenil



Bifenil policlorado (PCB)

Figura 31.3. El bifenil es análogo del PCB y puede usarse para aumentar su cometabolismo mediante el enriquecimiento análogo.

vez que cabe añadir anilina para aumentar el cometabolismo de la dicloroanilina.

Tratamiento biológico del petróleo

El tratamiento biológico ha experimentado su mejor aplicación en el tratamiento de la contaminación por petróleo. El vertido de petróleo del Exxon Valdez es un caso de esta índole. El 24 de marzo de 1989 se produjo un derramamiento masivo de petróleo en Prince William Sound, Alaska, que contaminó miles de kilómetros de playas intactas. Algunas playas fueron limpiadas físicamente, pero la Agencia de Protección del Medio Ambiente (EPA) de los Estados Unidos detectó muchos otros lugares que debían ser tratados para eliminar los restos de petróleo.

Los sistemas basados en la fertilización resultaron ser más eficaces a la hora de eliminar el petróleo de las playas de Alaska que la limpieza mecánica. Esta estimuló una pequeña, pero activa, comunidad de degradación de carbono del suelo. El experimento con el tratamiento biológico fue tan exitoso que la EPA de los Estados Unidos recomendó que la Exxon (la compañía que asumió la responsabilidad por el vertido) extendiera las labores de limpieza a otras playas afectadas. En la actualidad, ciertas empresas arriesgadas se han especializado en desarrollar cepas microbianas específicas para la degradación del petróleo en el suelo y el agua. Estas compañías suministran mezclas de pseudomonadas degradantes de hidrocarburos para tratar biológicamente las áreas contaminadas. En el invierno proporciona una mezcla de agentes degradantes psicófilos de hidrocarburos.

Los hidrocarburos no degradados no se lixivian fácilmente, de manera que el tratamiento biológico tiene potencial para tratar biológicamente el suelo contaminado de crudo. Si bien la limpieza de la gasolina en el suelo superficial puede realizarse en gran

medida mediante la volatilización, los combustibles menos volátiles pueden reducirse en un 90% en un plazo de 300 días mediante la labranza de la tierra (Kincannon, 1972). En una demostración, sólo se aplicó fango con un nivel de concentración del 5% (% de peso en peso) en los 15 o 20 cm superficiales del suelo. Esta relación fue aplicada, debido a que menos del 10% de fango oleoso inhibía la degradación. Este nivel de aplicación equivalió a 100.000 litros de hidrocarburos por hectárea. La relación de hidrocarburo:N fue de unos 200:1 y la relación de hidrocarburo:P fue de unos 800:1.

Este ejemplo ilustra tres consideraciones importantes de eliminación de restos petrolíferos de la tierra de labranza mediante el tratamiento biológico: 1) el material se incorpora a poca profundidad, porque es allí donde se realiza la actividad microbiana máxima, a la vez que esta ubicación facilita añadir a la mezcla N y P fertilizantes, así como airear el suelo mediante la práctica del arado; 2) el fango oleoso presenta una relación hidrocarburo/nutriente extremadamente elevada, de manera que, a menos que se añada más nitrógeno fertilizante, los agentes degradantes del hidrocarburo inmortalizarán todo el N y el P disponibles en el suelo, a la vez que se ralentizará la biodegradación de los desechos oleosos propiamente dichos, y 3) el nivel de aplicación se mantiene por debajo del 10%. Las tasas de aplicación que empiezan a afectar a la estructura física del suelo, así como la aireación en particular, disminuyen la biodegradación. A niveles de aplicación más elevados, los compuestos tóxicos de los desechos inhiben a la población microbiana.

Tratamiento biológico de los gases residuales

El tratamiento biológico del aire no es algo en lo que todos pensemos, pero suele realizarse y constituir

PCB - Productos útiles convertidos en agentes contaminantes del medio ambiente (continuación)

carga enorme de «Nutrimaster», un aditivo alimentario de óxido de magnesio, volcándose toda la mezcla en un molino de una fábrica alimentaria. El PBB se distribuyó mezclado con alimento por todo el estado. De esta manera, la leche y los huevos contaminados expusieron a la mayor parte de la población de Michigan al PBB. La contaminación, la exterminación de los animales y las consecuencias sanitarias se convirtieron en una catástrofe ambiental multimillonaria.

Desde entonces, los investigadores han aprendido que los microorganismos declaran lentamente el PCB bajo condiciones anaerobias y lo vuelven menos cancerígeno. En consecuencia, los depósitos de PCB, fundamentalmente en medios acuáticos, se verán atenuados con el tiempo si se los deja intactos.

ya una práctica común (Bohn, 1977). Para eliminar compuestos volátiles del aire se usan biofiltros y biolimpiadores. Estos limpiadores eliminan el H_2S , el dimetil sulfuro, el terpeno, los gases organosulfurados, el etil benceno, el tetracloretileno y el clorobenceno de las corrientes de aire. La adsorción de estos gases en biocepas o lechos también resulta habitual. Los materiales clásicos utilizados como biofiltros incluyen, entre otros, la tuba, el compost, la corteza de árboles y los suelos. La capa del suelo colocada en la mayor parte de las pilas de compost de los patios traseros sirve para absorber malos olores que pueda producir el compost. No se trata de otra cosa que de un biofiltro. Los gases residuales son filtrados por adsorción, seguido de la degradación, ya que el material del biofiltro se enriquece de comunidades microbianas.

Tratamiento biológico de los desechos del subsuelo

¿Qué se puede hacer para tratar biológicamente los desechos del subsuelo, tratándose de desechos enterrados a tal profundidad, que la excavación del suelo contaminado resultaría prohibitiva, o de residuos tan diluidos en el agua subterránea que resultaría poco práctico tratarlos? El tratamiento biológico *in situ* es posible para algunos lugares. El tratamiento biológico microbiano de los productos químicos del agua subterránea y el subsuelo está limitado por la disponibilidad de oxígeno. Una solución consiste en bombear oxígeno o una solución diluida de H_2O_2 . La descomposición del H_2O_2 proporciona O_2 , el cual sostiene el metabolismo aeróbico. Una concentración de 100 ppm resulta habitual. Este método suele servir en el tratamiento biológico de los compuestos BTEX

co. Si se reduce a (Cr^{6+}) , resulta menos soluble y menos tóxico. El arsénico (III) (As^{3+}), por otra parte, se oxida para formar As^{5+} , facilitando su precipitación por calcio fosfato. El manganeso (II) (Mn^{2+}), de la misma manera, puede oxidarse para formar Mn^{4+} , el cual se precipita como óxido de manganeso insoluble. En un ambiente no ácido, la oxidación del Fe^{2+} a Fe^{3+} hace que el hidróxido de hierro se precipite y arraiga a otros metales de la solución para formar la precipitación. En los ambientes anaerobios ricos en SO_4^{2-} , la formación de S^{2-} promueve la formación de sulfuros metálicos insolubles.

Tecnología enzimática

El tratamiento biológico y la detoxificación pueden producirse mediante el uso de exoenzimas (Bollag y Liu, 1990). Las enzimas no se ven afectadas por inhibidores del metabolismo microbiano y, de hecho, pueden utilizarse en una extensa variedad de condiciones ambientales. Las enzimas son eficaces en bajas concentraciones de sustrato y son activas en presencia de toxinas y depredadores microbianos. Las enzimas son muy específicas de los sustratos y no hay limitaciones de difusión a través de las membranas celulares cuando éstas se utilizan. La desventaja que presenta su uso es el elevado costo económico y de tiempo de su extracción y purificación. Muchas enzimas pueden requerir también la presencia de cofactores y son susceptibles a las proteasas microbianas. Algunas de estas desventajas pueden superarse mediante el uso de enzimática inmovilizada. Estas enzimas son más resistentes a la degradación que las libres.

Entre los ejemplos de exoenzimas empleadas en el tratamiento biológico destacan las estereasas, las acilamidasa, las fosfatasa, las liasa, las lipasa, las proteasa y las fenol oxidasas. Las peroxidasas, por ejemplo, catalizan la formación fenólica aromática o amina radical, y luego reaccionan para formar polímeros. Los polímeros son insolubles y pueden eliminarse por filtración. En vista de que el crecimiento de las células no es necesario, el pH puede variar de 3 a 12. Las acasas catalizan reacciones similares a las peroxidasas. Las acasas, peroxidasas y tirosinas catalizan reacciones de acoplamiento oxidativo, reacciones de compuestos orgánicos con ellas mismas y con otra materia orgánica. La toxicidad de los compuestos enlazados desciende, así como su disponibilidad.

Tratamiento biológico de los metales

¿Acaso resulta posible tratar los metales biológicamente? El fitotratamiento biológico hace referencia al uso de plantas para tratar biológicamente un ambiente. Las plantas suelen usarse cuando el ambiente está contaminado por metales pesados, como el plomo (Pb), el mercurio (Hg) o el selenio (Se). Así, por ejemplo, el astrágalo acumula selenio en los tejidos. La mostaza india es un acumulador de plomo. La planta puede ser cosechada, el tejido quemado y la ceniza contaminada de metal, ahora que ha alcanzado un volumen mucho menor, puede almacenarse en contenedores especiales de residuos tóxicos.

Los metales en estado químicamente indeseable pueden transformarse en formas más manejables, mediante el ajuste del potencial redox del ambiente. El cromo (VI) (Cr^{6+}) es hidrosoluble y altamente tóxico

La inseminación

Esta práctica consiste en la introducción de microorganismos extraños en el ambiente natural con el propósito de aumentar el ritmo o la eficacia del tratamiento biológico. Para resultar efectivo, los microorganismos inoculados deben ser capaces de degradar la mayor parte de los compuestos. De esta manera, deben ser genéticamente estables y permanecer viables durante su almacenamiento, si bien deben crecer rápidamente después de ser almacenados. Los organismos inseminados no deben ser patógenos ni producir metabolitos tóxicos. Finalmente, deben ser capaces de competir con los microorganismos nativos.

Ha habido resultados mixtos con esta práctica. De hecho, las poblaciones microbianas nativas del suelo que se adaptan en gran medida a un ambiente particular evitan que los organismos sembrados compitan y sobrevivan con éxito. Los agentes contaminantes también presentan una baja concentración (lo suficientemente elevada como para resultar relevante desde el punto de vista sanitario, pero demasiado baja para evitar el crecimiento de los organismos sembrados). El agente contaminante puede tener sustancias inhibidoras que evitan el crecimiento de los organismos sembrados. Estos organismos podrían preferir crecer en un material orgánico alternativo. Si los organismos sembrados son inmóviles, es posible que no entren en contacto con el agente contaminante en el caso de que éste sea poco soluble y el organismo sembrado no esté bien disperso. Los mejores resultados obtenidos mediante esta práctica se han producido allí donde el ambiente ha sido controlado. Resulta mucho más difícil mantener condiciones ambientales adecuadas en el campo.

Resumen

El tratamiento biológico es la práctica consistente en utilizar microorganismos, plantas y animales para biodegradar y detoxificar los compuestos químicos nocivos para el ambiente. Dos enfoques generales del tratamiento biológico son el tratamiento *in situ*, mediante el aumento de la actividad de los organismos nativos, y la contaminación de los lugares mediante la inseminación de los microorganismos capaces de tratar biológicamente desechos específicos.

El tratamiento biológico presenta varias ventajas frente a la eliminación tradicional de desechos. Los

Cuestionario práctico

productos finales no suelen ser tóxicos, otras actividades biológicas que tienen lugar en el área contaminada permanecen relativamente intactas y el tratamiento resulta más barato frente a los métodos físicos de limpieza y requiere equipo simple. No obstante, presenta ciertas desventajas. A veces resultan necesarias altas concentraciones de desechos para estimular el crecimiento, los desechos pueden ser inherentemente recalcitrantes o tóxicos, a la vez que el tratamiento biológico puede inhibirse por falta de oxígeno, un pH o una temperatura desfavorables o una falta de nutrientes y agua. Requiere más tiempo tratar biológicamente un lugar contaminado que utilizar medios químicos para el mismo fin.

El tratamiento biológico tiene excelentes aplicaciones en la limpieza de desechos petrolíferos. El método de la fertilización resultó ser el más eficaz a la hora de eliminar los restos de crudo de las playas en Alaska, después del vertido de petróleo del *Exxon Valdez* en 1989, el cual fue limpiado mecánicamente. La fertilización estimuló a una pequeña, pero activa, comunidad degradante de hidrocarburos del suelo. Varias compañías se han especializado en desarrollar espas microbianas específicas para la degradación del petróleo en el suelo y en el agua. Los biofiltros y los biolimpiadores se usan para tratar biológicamente los compuestos volátiles en el aire. El tratamiento biológico del petróleo y sus derivados en el agua subterránea y en el subsuelo suele limitarse en gran medida por las limitaciones de oxígeno.

El frotatamiento hace referencia al uso de plantas para tratar biológicamente un ambiente. Algunas plantas pueden acumular metales pesados como el plomo, el mercurio o el selenio. Para los compuestos que son cometabolizados, como es el caso del TCE (tricloroetileno), el metano puede añadirse simultáneamente para estimular el crecimiento de metanótrofos que cometabilicen el TCE. Los metales que presenten un estado químico no deseable pueden transformarse en formas más manejables mediante el ajuste del potencial redox del ambiente.

El tratamiento biológico y la destoxificación pueden conseguirse mediante el uso de exoenzimas. La insemminación introduce microorganismos extraños en el ambiente para conseguir aumentar el alcance del tratamiento. Se han producido resultados mixtos con esta práctica, puesto que los microorganismos nativos del suelo compiten con los microorganismos insemminados. Los mejores resultados obtenidos mediante esta práctica se han producido en ambientes controlados.

1. ¿Qué significa el término «xenobiótico»?
2. ¿Qué factores intrínsecos y extrínsecos pueden desatar el carácter recalcitrante de los compuestos xenobióticos?
3. ¿Qué es la insemminación comparada con la biodegradación?
4. ¿Por qué es la insemminación en ocasiones inservible?
5. ¿Qué pasos daría para tratar biológicamente el petróleo en una isla desierta?
6. ¿Cuáles son las ventajas que presenta usar plantas y/o enzimas para el tratamiento biológico?
7. Elabore un listado jerárquico de los siguientes compuestos según el orden de facilidad de degradación. Explique su sistema de jerarquización.
 - a. Catecol
 - b. Ácido protocatecuico
 - c. Ácido gentísico
 - d. Inositol fosfato
 - e. Glucosa
 - f. N-acetil glucosamina
 - g. Fenil propano
 - h. 2,4-D
 - i. Ácido grasos
 - j. Urea
8. De los compuestos químicos ilustrados en la figura 31.4, cuáles son los que presentan mayor probabilidad de degradarse en un ritmo acelerado si se aplican a un suelo continuamente tratado con 2,4-D? Explique su razonamiento.
9. ¿Acaso existe otro compuesto químico que pueda biodegradarse más rápidamente de lo normal en un suelo tratado con 2,4-D? ¿Por qué puede ocurrir esta situación?
10. El 24 de marzo de 1989, se produjo un derramamiento masivo de petróleo en Prince William Sound, Alaska. Muchas playas quedaron cubiertas de hidrocarburos. Según los principios de la microbiología del suelo, las tareas de limpieza

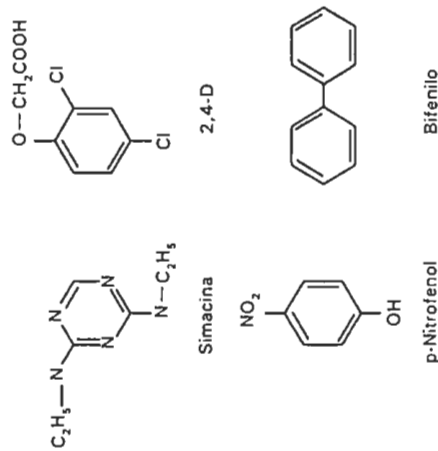


Figura 31.4.

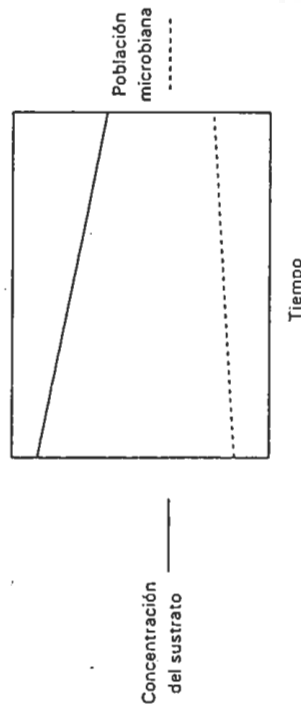


Figura 31.5.

incluirían la aplicación pulverizada de ácido oleico, urea y un compuesto orgánico de P. El ácido oleico hace que el aditivo se adhiera al petróleo. Las incubaciones de laboratorio demostraron que la incorporación de esta mezcla aumentaba las poblaciones degradantes de hidrocarburos y aceleraba la degradación de los hidrocarburos marcados con ^{14}C , si bien en el campo, los resultados eran mixtos. En las superficies de las rocas resultaba efectivo el tratamiento, pero los sedimentos subterráneos parecían menos eficaces. El lector ha sido llamado como testigo experto en la materia y se le plantean las siguientes cuestiones:

- a. ¿Por qué está usando la mezcla y cómo funcionan?
- b. ¿Por qué considera que el tratamiento tiene niveles variables de efectividad en las playas?

Cuestionario de desarrollo

La empresa Acme Bioengineering Corporation (ABC) desea obtener un contrato de 100.000 dólares de los fondos de la ciudad para liberar microorganismos diseñados genéticamente sobre un área contaminada por desechos en su comunidad. El microorganismo que desean liberar biodegrada los desechos en cuestión en un plazo de pocas semanas en el laboratorio, teniendo en cuenta que la biodegradación de los residuos suele requerir varios años en el campo. No obstante, la empresa ABC nunca ha efectuado una prueba de campo con su producto. Los residuos presentan problemas de salud crónicos sólo si la exposición es persistente. El área contaminada está en una zona de la ciudad ideal para el desarrollo urbanístico, el

cual podría generar millones de dólares para la ciudad a través de la venta y los impuestos futuros.

Como ciudadano preocupado por su ambiente, escriba una carta al alcalde de la ciudad, defendiendo su posición de la siguiente manera: ¿Acaso conviene contratar a la empresa ABC para liberar microorganismos diseñados genéticamente sobre un área de tierra contaminada de su comunidad?

Lectura adicional

Una introducción al tratamiento biológico es *Biodegradation and Bioremediation*, de Martin Alexander, 1994 (Academic Press, San Diego, CA). Alexander también describió de forma concisa las reacciones químicas que intervienen en el tratamiento biológico en «Biodegradation of Chemicals of Environmental Concern» (1980, *Science*, Vol. 211, No. 9). Horace Skipper y Ron Turco editaron una serie de informes sobre las tecnologías de tratamiento biológico en *Bioremediation: Science and Applications* (1995). *Understanding Bioremediation: A Guidebook for Citizens* (1991, EPA/540/2-91/002, U.S. Government Printing Office, Washington, DC) es un breve panfleto que explica el tratamiento biológico en un nivel básico.

Bibliografía

- Anónimo. 1966. Report of a new chemical hazard. *New Scientist* 32:612.

- Bohn, H. L. 1977. Soil treatment of organic waste gases. p. 607-618. En *Soils for management of organic wastes and waste waters*, L. F. Elliot y cols. (eds.), 607-18. Madison, WI: Soil Science Society of America.
- Bollag, J. M., y S.-Y. Liu. 1990. Biological transformation processes of pesticides. *Pesticides in the soil environment. Processes, impacts, and modeling*, En H. H. Cheng (ed.), 169-211. Madison, WI: Soil Science Society of America.
- Brunner, W., F. H. Sutherland y D. D. Focht. 1985. Enhanced biodegradation of polychlorinated biphenyls in soil by analog enrichment. *Journal of Environmental Quality* 14:324-28.
- Carter, L. 1976. Michigan's PBB incident: Chemical mix-up leads to disaster. *Science* 192:240-43.
- Chapelle, F. H. 1993. *Ground-water microbiology and geochemistry*. Nueva York: John Wiley & Sons.
- Gustafson, C. 1970. PCBs—prevalent and persistent. *Environmental Science and Technology* 4: 214-20.
- Kincannon, C. B. 1972. *Oily waste disposal by soil cultivation process*. USEPA, EPA-R2-72-110. U.S. Government Printing Office, Washington, DC.