

Biorremediación de ambientes contaminados con petróleo

Biorremediation of environment polluted with petroleum

Nelly Patricia Lozano P. *

Resumen

El petróleo está compuesto por sustancias hidrocarbonadas y otras tóxicas, que lo hacen de difícil degradación, por lo cual contamina ambientes naturales cuando se producen derrames; es por esto que se requiere crear tecnologías que reduzcan el impacto generado cuando se presenta un accidente donde esté involucrado el petróleo. Hay diferentes métodos de tratamiento para la recuperación del equilibrio natural, entre los que se destaca la biorremediación.

Palabras clave:

Petróleo, Biorremediación, contaminación alifático, aromático, hidrocarburo, bacterias.

Abstract

The petroleum is compound for hydrocarbonated substances and other toxic ones that make it a substance of difficult degradation being a pollutant in natural atmospheres when spills take place, it is for this reason that they are required to create technologies that reduce the generated impact when an accident is presented where this is involved. They are different treatment methods for the recovery of the natural balance among those that the biorremediation stands out.

Key words:

Petroleum, Biorremediation, contamination alifatic, aromatic, hydrocarbon, bacterium.

Introducción

El petróleo se compone en gran parte por sustancias hidrocarbonadas y por pequeñas cantidades de azufre, nitrógeno y oxígeno. Los hidrocarburos del petróleo tienen desde uno a 50 o más átomos de carbono y encierran una gran variedad de formas moleculares, como parafinas, naftalenos, aromáticos, etc. Algunos de estos hidrocarburos como el metano, están constituidos por pocos átomos y son gaseosos a temperatura ambiente; otros, como el decano, son más pesados y menos volátiles. A temperaturas no muy elevadas algunos son gaseosos, como el propano, mientras que otros son sólidos, como la parafina y los asfaltos.

La contaminación de ambientes con petróleo se considera de elevada persistencia y afecta el equilibrio de los ecosistemas. La fragilidad de éstos es tal que la naturaleza no tiene la facilidad de biodegradar el petróleo de una forma

Fecha de recepción: agosto 10 de 2005

Fecha de aceptación: septiembre 1 de 2005

*Microbióloga industrial Pontificia Universidad Javeriana.

fácil y rápida. Un litro del crudo ocupa sobre el medio acuoso una superficie aproximada de medio campo de fútbol.

Accidentes reportados a nivel mundial

En el mundo los accidentes de derrames se han dado de manera constante; los más notables son los naufragios petroleros descritos en la tabla 1, los cuales sólo aportan el 10% de la contaminación total por crudos que van a parar al mar. Otras fuentes son la filtración natural, la contaminación de los ríos y las escorrentías urbanas, las refinerías de petróleo situadas en la costa, las plataformas petrolíferas marinas, las descargas operativas de los petroleros las cuales aportan un 22% de contaminación de aguas marinas. En Colombia se han presentado atentados terroristas contra los oleoductos en que el promedio de derrames de crudo sobre ríos y suelos es de 3.124 barriles por atentado.

Tabla 1. Accidentes marinos de barcos petroleros

Accidente	Lugar y año	Crudo derramado
Torrey Canyon	Costas de Cornwall 1967	860.000 barriles (107.000 toneladas)
Colisión entre el Aegean Captain y el Atlantic Empress	Cerca de Trinidad y Tobago 1979	2.160.000 barriles
Exxon Valdez	Prince William Sound, Alaska Marzo de 1989	240.000 barriles (30.000 toneladas)

La magnitud del problema es tal que la persistencia del crudo en el suelo hace que éste se torne improductivo durante largos periodos debido a que lo erosiona y produce efectos tóxicos sobre los organismos, el agua se torna im potable y el aire irrespirable. El crudo en las fuentes de agua reduce la penetración de la luz e intoxica a los organismos acuáticos que entran en contacto con el petróleo; además, impide el consumo humano.

Tabla 2. Técnicas aplicadas en biorremediación

Tecnología	Características
Bioaumentación	Adición de microorganismos capaces de degradar los hidrocarburos presentes. Utilización de bacterias autóctonas o exógenas.
Bioestimulación	Adición de nutrientes o fuentes de nitrógeno o fósforo para activar el metabolismo de los microorganismos presentes. Esta técnica puede ser aplicada junto con la anterior.
Bioventación	Inyección de oxígeno al suelo. Arrastre del contaminante hacia fuera.
Fitorremediación	Utilización de plantas que absorben el contaminante. Mantenimiento del compuesto en la estructura de la planta para después degradarlo.
Fitofiltración	Limpieza de mantos acuíferos. La raíz de la planta absorbe los contaminantes, los transporta por su estructura y por medio de sus hojas los volatiliza.
Atenuación natural	Se deja que el suelo o lugar contaminado se recupere por sí solo.

Biorremediación del petróleo

La descomposición del petróleo por la vía microbiana es un mecanismo ágil y seguro para eliminar la contaminación. Por esto es importante estudiar las formas por las cuales los microorganismos asimilan los compuestos del petróleo y de qué manera se puede acelerar el proceso de descontaminación. Se han desarrollado tecnologías de biorremediación en las cuales actúan microorganismos o plantas que permiten la descomposición de compuestos tóxicos.

Las tecnologías de biorremediación tienen como objetivo degradar contaminantes orgánicos a concentraciones que sean de una u otra forma indetectables, o si son detectables, a concentraciones por debajo de los límites establecidos como seguros o aceptados por las agencias de regulación (Gilbert, 1998).

- Los criterios en un proceso de biorremediación son:
- ⇒ Los microorganismos existentes in situ o aquellos que se vayan a agregar deben tener capacidad catabólica.
 - ⇒ Los microorganismos utilizados deben ser capaces de transformar los compuestos a velocidades razonables y llevar la concentración de los compuestos a niveles estándar.
 - ⇒ No deben generar productos tóxicos a las concentraciones finales esperadas para el desarrollo de la biorremediación.
 - ⇒ El sitio no debe presentar concentraciones o combinaciones de químicos que hayan sido identificados como inhibitorios para las especies biodegradadoras, o al menos deben estar diluidas.
 - ⇒ Los compuestos deben estar disponibles a los microorganismos.
 - ⇒ Las condiciones del sitio o del reactor deben ser favorables para el crecimiento o la actividad microbiana.
 - ⇒ El costo debe ser menor o al menos igual que el de otras técnicas utilizadas para destruir el compuesto químico. (Gilbert, 1998)

Para establecer qué técnica de biorremediación utilizar en el lugar contaminado con petróleo es importante tener en cuenta cómo asimilan los organismos el petróleo metabólicamente.

El *petróleo* es una fuente muy rica en materia orgánica, y los hidrocarburos que contiene son fácilmente atacados aeróbicamente por una variedad de microorganismos; cuando el petróleo entra en contacto con el agua y es expuesto al aire se somete a la descomposición microbiana (Bruck, 1993).

Estudios realizados en lugares donde se han presentado derrames de petróleo demuestran que más del 80% de los compuestos no volátiles son oxidados por las bacterias 6 meses a un año después. Sin embargo, algunas fracciones permanecen en el ambiente por un tiempo mayor. El petróleo derramado tiende a acumularse en los sedimentos, lo que hace más difícil su degradación.

Los hidrocarburos del petróleo se clasifican en cuatro clases: saturados, aromáticos, asfáltenos y resinas. Los saturados, entre los que se encuentran los alifáticos, presentan una tasa mayor de degradación con respecto a los aromáticos. El petróleo crudo es el más susceptible a la descomposición microbiana.

Una variedad de bacterias y hongos tienen la capacidad para degradar o utilizar los hidrocarburos como sustrato. La utilización de hidrocarburos por bacterias y hongos es bastante variable; se reporta una capacidad de 6% del 80% de los hongos del suelo, 0,13% del 50% de las bacterias del suelo y 0,003% del 100% de las bacterias marinas. Las bacterias individualmente pueden metabolizar un rango ilimitado de compuestos, en contraste con los consorcios microbianos que pueden degradar mezclas complejas de hidrocarburos en diferentes ambientes.

La biodegradación de compuestos alifáticos n-alcenos en condiciones oxigénicas ocurre normalmente por ataque monoterminal; usualmente se forma un alcohol primario seguido por un aldehído y un ácido monocarboxílico, la degradación subsiguiente del ácido carboxílico ocurre por B-oxidación y formación de ácidos grasos cortos de dos unidades de carbono y A-Coa con la liberación eventual de CO₂. Los ácidos grasos se acumulan durante la degradación y algunos son tóxicos.

Para la descomposición anaeróbica de los hidrocarburos debe existir un receptor de electrones alternativo al oxígeno. Bioquímicamente puede darse un proceso de reducción de sulfato o denitrificación. Las bacterias del sulfato actúan en la fase inicial pero no pueden degradar grandes cantidades de hidrocarburos. Eso explica la razón por la

cual no se produce la descomposición del petróleo en un sistema anaeróbico.

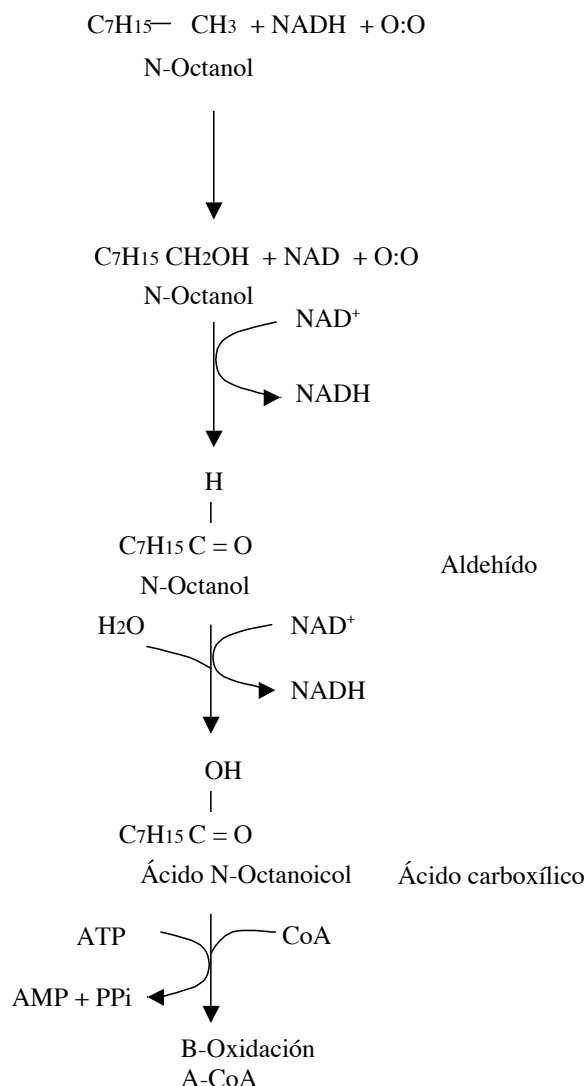


Figura 1. Degradación aeróbica de n-alcenos. (Bruck, 1993)

En cuanto a la degradación de *compuestos aromáticos* del petróleo y sus derivados, muchos miembros de la microflora del suelo los destruyen. Hay microorganismos específicos que descomponen moléculas como fenol, naftaleno y antraceno que contienen uno, dos y tres anillos de benceno, respectivamente. En apariencia, las bacterias son el grupo microbiano dominante relacionado con la mineralización de compuestos de este tipo, principalmente las especies de *Pseudomonas* sp., *Mycobacterium* sp., *Acinetobacter* sp., *Arthrobacter* sp., y *Bacillus* sp., aunque el que aparece con frecuencia en forma predominante es *Nocardia*. Bajo ciertas condiciones los hongos y estreptomicetos pueden participar en la descomposición de hidrocarburos aromáticos (Williams, 1975).

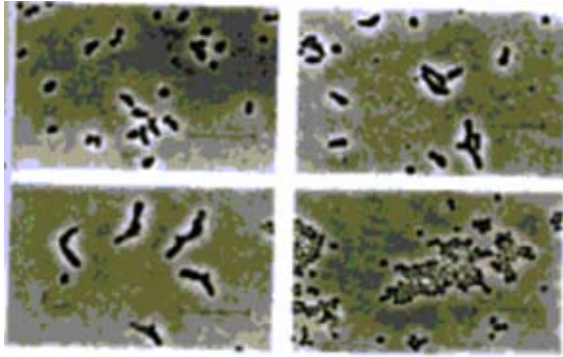


Figura 2. Microscopia de Arthrobacter sp.

En cuanto a la degradación de los hidrocarburos aromáticos, se puede hacer de manera aeróbica, en la cual las *Pseudomonas* es la especie mejor estudiada. Las primeras moléculas formadas en la degradación de este tipo de hidrocarburo son el catecol. A estas moléculas de un solo anillo se les denomina sustrato inicial.

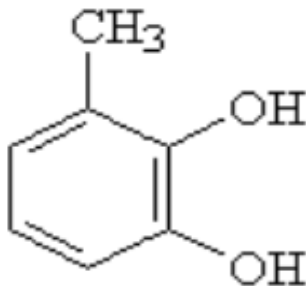


Figura 3. Molécula de catecol intermediario metabólico de la degradación de compuestos aromáticos

El catabolismo oxidativo se inicia sólo después de que una compleja molécula aromática se ha transformado a una de estas moléculas. El catecol y el protocatecuato son transformados a productos intermediarios del metabolismo que ingresan al ciclo de los ácidos tricarbóxicos (ATC), como succinato, A-CoA y piruvato. Diversos pasos en el catabolismo de los compuestos aromáticos requieren oxigenasas.

Los compuestos aromáticos también pueden ser degradados anaeróbicamente si contienen un átomo de oxígeno. Se ha demostrado en cultivos mixtos el benzoato y otros compuestos fenólicos sustituidos se degradan teniendo como producto final CH_4 y CO_2 . El catabolismo anaeróbico comprende primero la reducción del anillo, seguido de la ruptura del anillo para producir ácidos grasos de cadena lineal o un ácido discarbóxico. Estos intermedios pueden convertirse en A-CoA y usarse para fines tantos de producción de energía como de biosíntesis para el microorganismo.

Según los reportes, los degradadores de hidrocarburos más importantes en el caso de las bacterias son *Achromobacter* sp., *Acinetobacter* sp., *Alcaligenes* sp., *Arthrobacter* sp., *Bacillus* sp., *Flavobacterium* sp., *Nocardia* sp., *Pseudomonas* sp.; en los ambientes salados se ha observado la presencia de *Vibrio* sp. En los ambientes acuáticos los géneros comúnmente aislados son las *Pseudomonas* sp., *Micrococcus* sp., *Nocardia* sp., y algunos géneros de las familias *Enterobacteriaceae*, *actinomycetes*. En cuanto a géneros de hongos se han reportado *Aurebandium* sp., *Candida* sp., *Rhodotorula* sp., *Sporobolomyces* sp., *Trichoderma* sp., y *Mortierella* sp. La especie *Prothotheca zopfi* es reportada como una de las únicas algas capaces de degradar el petróleo crudo.

En los derrames de petróleo se ha podido observar que las bacterias oxidantes de este compuesto aumentan de 10^3 a 10^6 poco después del derrame. La adición de nutrientes orgánicos como fósforo y nitrógeno a las áreas afectadas puede incrementar la velocidad de biorremediación.



Figura 5. Crecimiento exponencial de las bacterias en hidrocarburos como fuente de carbono

La degradación del petróleo y de otros hidrocarburos en el ambiente implica complejos mecanismos que dependen de la naturaleza y cantidad de petróleo o hidrocarburo presentes. Una característica importante en la degradación es que ésta es inversamente proporcional a la distancia entre el hidrocarburo la superficie; además, son importantes las características ambientales, concentración de petróleo y la composición de las comunidades de microorganismos autóctonos; la tasa de descomposición es mayor en presencia de cultivos mixtos.

Bibliografía

- Alexander. (1977). *Introduction to Soil Microbiology*. 2^a ed. New York, John Wiley and Sons.
- Athiel, P., Alfizar, Mercadier, C. H., Vega, D. (1995) Degradation of Iprodione by a Soil Arthrobacter-Like Strain. *Appl. Env. Microbiol.* September: 3216-3220.
- Bruck, T., Madigan, M. (1993). *Microbiología*, 6^a ed. Ed. Prentice May, pp. 645-647, 699-701.
- Athiel, P. et al. (1995). Degradation of Iprodione by a Soil Arthrobacter-Like Strain. *Appl. Env. Microbiol.* September: 3216-3220.

- Atlas, R., Bartha, R. (1992). *Microbial Ecology*, 3^a ed. California, B & C Publishing Company, pp. 48, 73, 255, 278, 304, 321, 336, 365, 518, A31.
- Baumann, L., Baumann, P., Mandel, M., Allen, R. D. (1972). Taxonomy of Aerobic Marine Eubacteria. *J. Bact.* Apr. Vol. 110 (1): 402-429.
- Baumann, P., Baumann, M., Mandel M. (1971). Taxonomy of Marine Bacteria: The Genus *Beneckea*. *J. Bact.* Vol. 107: 268-294.
- Fedorak, P. M., Westlake, D. W. (1983). Selective Degradation of Biphenyl and Metilbiphenyls in Crude Oil by Two Strains of Marine Bacteria. *Can. J. Microbiol.* Vol. 29: 497-503.
- Flashner, M., Wang, P., Hurley, J. B., Tanenbaum, S. W. (1977). Properties of an Inducible Extracellular Neuraminidase From an *Arthrobacter* Isolate. *J. of Bact. Mar.* Vol. 129 (3): 1457-1465.
- Focht, D., Verstraete, W. (1977). Biochemical Ecology of Nitrification and Denitrification. *Advances in Microbial Ecology*. 1:135-214.
- Gilbert, E., Crowley, D. (1997). Plant Compounds that Induce Polychlorinated Biphenyl Biodegradation by *Arthrobacter* Sp. Strain B1b. *Appl. Env. Microbiol.* May: 1933-1938.
- Gilbert, E., Crowley, D. (1998.) Repeated Application of Carvone-Induced Bacteria to Enhance Biodegradation of Polychlorinated Biphenyls in Soil. *Appl. Microbiol. Biotech.* Vol. 50 (4): 489-494.
- Grifoll, M., Casellas, J. M., Bayona, M., Solanas, A. M. (1992). Isolation and Characterization of a Fluorene-Degrading Bacterium: Identification of Ring Oxidation and Ring Fission Products. *Appl. Env. Microbiol.* September: 2910- 2917.
- Guerin, W., Boyd, S. (1995). Maintenance and Induction of Naphtalene Degradation Activity in *Pseudomona Putida* and an *Alcaligenes* Sp. under Different Culture Conditions. *Appl. Env. Microbiol.* Nov. Vol. 61 (11): 4061- 68.
- Gunner, H. B., Zuckerman, B. M. (1968). Degradation of Diazinon by Synergistic Microbial Action. *Nature*, 217: 1183-1184. London.
- Kramer, C., Kory, M. (1992). Bacteria that Degrade P-Chlorophenol Isolated from a Continuous Culture System. *Can. J. Microbiol.* Vol. 38 (1): 34-7.
- Marshall, R. A. (1976.). *Interfaces in Microbial Ecology*. Cambridge, Harvard University Press.
- Rosenberg, E., Zuckerberg, A., Rubinovitz, C., Gutnick, L. (1979). Emulsifier of *Arthrobacter* Rag-1: Isolation and Emulsifying Properties. *Appl. Env. Microbiol.* May. Vol. 37 (3): 402-408.
- Scheli, M. A., Roberts, D. P., Denny, T. P. (1988). Analysis of the *Pseudomonas Solanacearum* Polygalacturonase Encoded by *Pgla* and its Involvement in Phytogenicity. *J. Bacteriol.* Vol. 170 (10): 4501-4508.
- Seidman, P., Chan, E. (1970). Growth of *Arthrobacter Citreus* in a Chemically Defined Medium and its Requirement for Chelating Agents. *J. Gen. Microbiol.* Vol. 60 (3): 417-20.
- Sobecky, P., Schell, M., Moran, M. A., Hodson, R. E. (1996). Impact of a Genetically Engineered Bacterium with Enhanced Alkaline Phosphatase Activity on Marine Phytoplankton Communities. *Appl. Env. Microbiol.* Jan: 6-12.
- Taylor, C. B. (1942). *Bacteriology of Freshwater*. Part III. The Types of Bacteria Present in Lakes and Streams and their Relationships to the Bacterial Flora of Soil. *Hygiene* 42: 284-296.