

Temas de actualidad

Biodegradación de crudo de petróleo en el mar: accidente del Prestige y aportaciones de la biotecnología ambiental

Jorge Lalucat, Aina Cladera y Elena García-Valdés
Departamento de Biología e IMEDEA (CSIC-UIB), Universitat de les Illes Balears
E-mail: jlalucat@uib.es

Vertidos de crudo de petróleo

Los hidrocarburos son componentes naturales del agua de mar, producidos en la actualidad por el fitoplancton y el zooplancton, alcanzando concentraciones promedio entre 1 y 10 ppb ($\mu\text{g/l}$). Su presencia también puede ser consecuencia de vertidos naturales de pozos de petróleo submarinos y ser el resultado de la actividad humana. Se calcula que algo menos de la mitad de los hidrocarburos que llegan al mar provienen del transporte o explotación industrial del petróleo. Sin embargo es este último aspecto el que ha llamado más la atención, tanto para el público en general, como para los científicos. Los accidentes provocados por las actividades humanas en zonas costeras pueden suponer grandes catástrofes ecológicas por su impacto sobre la biota marina y pueden tener también grandes repercusiones sociales y económicas. El efecto es muy diferente según se dé en alta mar o en la zona litoral. Por otra parte, los oceanógrafos consideran que los hidrocarburos del petróleo no tienen efectos negativos a largo plazo sobre la biota marina, y son pocos los ejemplos en los que se puede demostrar estos efectos en plazos superiores a los 10 años. La razón que se arguye es que los hidrocarburos son una fuente de energía metabólica para bacterias y animales (de forma independiente o en asociación con bacterias en sus tractos digestivos). Al ser el crudo de petróleo un producto natural, no ha de extrañar que algunas bacterias hayan evolucionado adquiriendo rutas metabólicas de mineralización de sus componentes. Incluso la presencia de bacterias degradadoras de componentes del petróleo se puede tomar como un índice de la contaminación, porque sus números se incrementan varios órdenes de magnitud cuando se da un vertido de petróleo.

La secuencia en la eliminación natural de un vertido de crudo de petróleo es: (1) La desaparición de volátiles en horas o días; éstos son los más tóxicos y al mismo tiempo los más fáciles de mineralizar por las bacterias. (2) Durante el primer año se alcanza el máximo de la degradación biológica y al cabo de 4-6 años acostumbra a ser difícil

detectar la contaminación. Es el resultado de la actuación de comunidades microbianas sobre los componentes del crudo en un ambiente de características variables. (3) La flora y fauna desaparecida por causa de un vertido se recupera en un proceso de recolonización que dura hasta 10 años.

El crudo de petróleo es una mezcla variable de cientos de componentes. Su composición química y sus propiedades físicas varían según su origen. Todos ellos son una mezcla de alcanos, cicloalcanos, aromáticos, policíclicos y cantidades variables de nitrógeno, azufre y compuestos oxigenados. La composición puede determinar las tasas de biodegradación. En general se considera que los crudos de petróleo ricos en azufre y en aromáticos son los de más difícil degradación. La composición tampoco es constante a lo largo del tiempo y varía en el proceso de envejecimiento debido a procesos bióticos y abióticos (evaporación –entre 40 y 50% se evapora en unas horas o pocos días–, solubilización, fotooxidación, dispersión, emulsión, adsorción a partículas, sedimentación). Una vez envejecido se enriquece en ceras, asfaltenos y metales pesados, y es mucho más viscoso.

En los ambientes marinos el crudo se encuentra formando películas, en disolución (a pesar de su baja solubilidad), en emulsión o como bolas de alquitrán. Estas pueden flotar o quedar sumergidas según como se mezclen con arena etc.

El crudo de petróleo procedente del vertido del *Prestige* en las costas gallegas tiene una composición química que lo hace especialmente difícil de degradar, sobre todo una vez envejecido. Contiene aproximadamente un 25% de hidrocarburos saturados, 50% de aromáticos, 10% de resinas y 25% de asfaltenos. El contenido en azufre es del 2,28%. El chapapote es el residuo semejante al alquitrán resultado del envejecimiento.

¿Cómo actuar frente a un vertido?

La respuesta inmediata frente a un vertido es la de contener y controlar el movimiento del petróleo flotante y recuperarlo mediante *skimmers*. A continuación se procede a una limpieza con materiales absorbentes y a una limpieza física de

las superficies contaminadas. La separación mecánica y el lavado con agua a alta o baja presión culmina normalmente la actuación de restauración, pero quedan aún cantidades muy importantes que no se pueden eliminar por tratamientos físicos o químicos.

La biodegradación es la eliminación que tiene lugar según el proceso natural y la intervención de las tecnologías para acelerar el proceso es la biorremediación, restauración o saneamiento biológico. Se basa en la utilización de microorganismos para eliminar contaminantes del ambiente. Aún hoy en día es una tecnología empírica y no se conoce muy bien los factores que la controlan. No existe información que permita predicciones fiables acerca de la biodegradación que sufrirá un crudo vertido en un ecosistema marino, especialmente en términos cuantitativos. Se pueden hacer aproximaciones a lo que sucederá en la columna de agua, pero no en los sedimentos, que representan situaciones mucho más complejas. En playas y sedimentos hacen falta muchos más datos de los aspectos básicos, en particular, de los microorganismos implicados.

Debido a la abundancia de las bacterias en los mares, cualquier muestra de agua marina contiene bacterias capaces de degradar alguno de los innumerables componentes del petróleo. Las bacterias degradadoras de hidrocarburos ("hidrocarburoclásticas") en lugares con contaminación crónica suponen del orden del 0,1% del total de bacterias presentes y en general coexisten con bacterias oxidadoras del azufre. Se considera que la microbiota autóctona responde frente a un vertido incrementando su capacidad para degradarlo, seleccionando aquellas cepas capaces de metabolizarlo. Existe una serie de factores que limitan o condicionan la actuación de las diferentes poblaciones de las comunidades bacterianas de las zonas afectadas por los vertidos. Hay aún pocos trabajos que estudien con detalle las sucesiones que se dan en las poblaciones de una comunidad al adaptarse al vertido.

El que se den condiciones aeróbicas (como sucede en la columna de agua o en capas superficiales del sedimento o arena), o se den condiciones anaeróbicas, limita las tasas de biodegradación y determina cuáles son las poblaciones que actúan. Las playas están limitadas en oxígeno. Se convierten en anaeróbicas inmediatamente por debajo de la superficie del sedimento, lo que limita la degradación de los hidrocarburos. El simple taponamiento u obstrucción de los espacios intersticiales por el crudo impide que el oxígeno, el nitrógeno y las bacterias alcancen el grueso del crudo y no pueden actuar sobre él, hasta que las tormentas

remuevan la arena. El oxígeno es imprescindible para una degradación efectiva por los microorganismos aeróbicos, que no sólo lo necesitan para la respiración, sino que también es imprescindible en la función de las oxigenasas que participan en el metabolismo de los hidrocarburos.

La degradación anaeróbica se conoce mucho peor y es más lenta. Los mecanismos metabólicos en esta situación suele ser por deshidrogenación. Se conocen metabolismos desnitrificantes, de reducción de sulfatos o de metanogénesis implicados en la desaparición de componentes del crudo de petróleo. Los distintos grupos bacterianos actúan formando consorcios que acoplan sus metabolismos para ser lo más eficaces posibles. Con toda seguridad, los fenómenos de cometabolismo juegan un papel importantísimo en la biodegradación en los ambientes naturales.

La asequibilidad del sustrato es otro factor limitante. La utilización de dispersantes o la producción de tensioactivos por las bacterias ayuda en gran medida a la velocidad de biodegradación por disminuir el tamaño de las gotas de la emulsión y por participar en el transporte del sustrato al interior celular, así como de otros nutrientes. Los primeros dispersantes utilizados para eliminar el petróleo fueron más perjudiciales que el propio petróleo, por su efecto directo sobre la biota. Más recientemente se han hecho otras formulaciones que sí pueden ayudar a la degradación bacteriana. Muchos de los actualmente propuestos son también de origen microbiano (biodispersantes).

El crudo de petróleo prácticamente no contiene nitrógeno ni fósforo y se considera que éstos son los nutrientes limitantes en la degradación del petróleo, por ser sus niveles también bajos en el agua de mar. Se calcula que 1 mg de petróleo requiere aproximadamente el contenido en nitrógeno disuelto de 1 litro de agua costera. Según los diferentes tipos de crudo las concentraciones óptimas para degradar los hidrocarburos varían de 1 a 11 mg/l de nitrógeno (los niveles en el mar son de 0,5-0,6 mg/l) y 0,07-2 mg/l de fósforo. No hay que olvidar tampoco los requerimientos de hierro de todos los microorganismos, y especialmente de los que son capaces de utilizarlo como aceptor final de electrones en respiraciones anaeróbicas. Estos nutrientes pueden añadirse en un proceso de fertilización y estimular así el metabolismo de las bacterias autóctonas. Se han buscado aquellos de fácil aplicación y mantenimiento en las playas y costas, de modo que se asegure una liberación lenta (gránulos, *briquettes* y líquidos) para que los niveles sean suficientes, pero que no sean tóxicos para invertebrados. También se han empleado

nutrientes oleofílicos (*Inipol EAP22*, microemulsión de urea en salmuera encapsulada en ácido oleico y lauril fosfato) con resultados espectaculares, como es el del accidente del *Exxon Valdez*.

No existen casi estudios sistemáticos del efecto de los nutrientes sobre la composición de las comunidades microbianas y su influencia sobre las tasas de biodegradación, para así poder identificar los patrones de diversidad bacteriana asociada a una eliminación óptima del contaminante. Las dificultades en el cultivo de los microorganismos implicados han sido la causa principal de este desconocimiento, pero los métodos moleculares actuales para estudiar las comunidades autóctonas, independientes del cultivo, permitirán ahora esta evaluación.

La adición o siembra de cultivos microbianos no autóctonos en costas contaminadas no ha demostrado aún su eficacia. Se habla en estos casos de "Bioaumentación" o "Biomagnificación". En general se considera como poco efectiva en aerobiosis, pero en anaerobiosis quizás pueda ser significativa. Se ha ensayado también la inoculación mediante sedimentos ya adaptados a la degradación en condiciones de anaerobiosis y parecen haber tenido éxito. La utilización de cultivos comerciales alóctonos plantea grandes críticas y no se ha demostrado su eficacia, a no ser que vaya unido a la utilización de fertilizantes apropiados para ese inóculo. Además, muchos de estos cultivos comerciales no están generalmente bien identificados y plantean también un cierto riesgo si pueden ser patógenos de animales o vegetales.

A modo de conclusión podemos afirmar que una vez se han concluido los trabajos de contención y extracción física, la Biotecnología Ambiental tiene capacidad para intervenir en la lucha contra las mareas negras, aunque los aspectos científicos básicos de la Ecología microbiana aún no estén resueltos y la tecnología sea muy incipiente. La intervención puede no ser siempre aconsejable, pero si es imprescindible el seguimiento microbiológico de lo que sucede durante la recuperación.

El problema causado por el vertido del *Prestige* en las costas gallegas estará resuelto cuando se pueda asegurar la estabilidad y productividad del ecosistema, y cuando no haya riesgo para la salud humana y las economías locales. La situación en

estos momentos es que se han vertido 40.000 Tm de crudo, de los cuales 5.000 Tm aún están a la deriva, y en el pecio quedan 35.000 Tm, que van a ser muy difíciles de recuperar. Además, se calcula que a través de las fisuras se vierten diariamente al mar unas 2 Tm. Sólo se ha podido recuperar por medios mecánicos una parte del crudo que ha llegado a la costa y cabe esperar que el que queda en las rocas, playas y sedimentos marinos vaya desapareciendo por biodegradación natural, aunque el tiempo requerido es excesivo y condiciona la situación socioeconómica de la región. La aceleración de la biodegradación mediante las tecnologías que aporta la biotecnología ambiental es un recurso que debe utilizarse. En España existen diversos grupos de investigación en las Universidades y en el CSIC que han dedicado muchos años al estudio de la ecología microbiana y la biodegradación. Su participación en los planes de restauración de las costas contaminadas aportará posibles soluciones al problema y al seguimiento del curso de la contaminación.

Bibliografía

- Alexander M. 1999. Biodegradation and Bioremediation (2nd Ed.) Academic Press
- Baker JF. 1999 Ecological effectiveness of oil spill countermeasures: how clean is clean? Pure Appl. Chem. 71:135-151
- Macnaughton SJ, Stephen JR, Venosa AD, Davis GA, Chang YJ, White DC. 1999. Microbial population changes during bioremediation of an experimental oil spill. Appl. Environ. Microbiol. 65:3566-3574
- Solanas AM, Sabaté J, Viñas M. 2003. Combatir el fuel del Prestige. Mundo Científico 243:32-39
- Sugai SF, Lindstrom JE, Braddock JF. 1997. Environmental influences on the microbial degradation of Exxon Valdez oil on the shorelines of Prince William Sound, Alaska. Environ. Sci. Technol. 31:1564-1572
- Swanell RPJ, Lee K, McDonagh M. 1996. Field evaluations of marine oil spill bioremediation. Microbiol. Rev. 60:342-365



El grupo de Microbiología de la Universidad de las Islas Baleares lleva más de 20 años trabajando en la degradación de componentes petróleo por bacterias. Esencialmente se ha utilizado el naftaleno como sustrato modelo y a *Pseudomonas stutzeri* como especie modelo, cubriendo estudios bioquímicos, genéticos, taxonómicos y autoecológicos. Además de los firmantes de esta reseña, participan actualmente en las investigaciones del grupo D. Alonso, R. Bergueiro, R. Bosch, MM Ferretjans, M. Gomila, B. Nogales, C. Ramón y J. Solís.