

## **Biorremediación de la contaminación de petróleo en el mar.** **Bioremediation of oil spill in the sea.**

Núñez, R. R, M., Lorenzo, Ortiz, E.; Oramas, J.  
Departamento de Microbiología Aplicada Centro de Bioproductos Marinos (CEBIMAR)  
Agencia de Medio Ambiente (AMA), Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente  
Calle Loma y 37 Alturas del Vedado, La Habana Email [cebimar@infomed.sld.cu](mailto:cebimar@infomed.sld.cu)

### **RESUMEN**

La Biorremediación se define como el uso de organismos vivos (en este caso bacterias) para eliminar, contener o atenuar los contaminantes ambientales peligrosos como son los derrames de petróleo en el mar y otros ecosistemas. La Biorremediación ha demostrado ser efectiva en diferentes ecosistemas marinos-costeros. Los estudios de campo demuestran su efectividad para limpiar de petróleo diferentes tipos de costas como las rocosas, arenosas, adoquinadas y en el propio mar. BIOIL-FC es un bioproducto obtenido a partir de 5 bacterias marinas hidrocbonoclasticas el cual ha sido utilizado con excelentes resultados en diferentes derrames de petróleo ocurridos en Cuba tanto en bahías como en playas y en todos los casos la remoción fue superior al 90% en 30 días.

**PALABRAS CLAVES:** BBIORREMEDIACION, DERRAMES DE PETROLEO, BACTERIAS DEGRADADORAS.

### **Abstract**

Bioremediation is defined as the use of live organisms (bacteria) to remove, contain, or render harmless environmental contaminants in this case oil spill in the sea and other ecosystems. Bioremediation has now been shown to be effective on a range of shoreline types. Field studies have demonstrated that it can be used successfully to clean the water, rocky, cobble and coarse sand shorelines.

"BIOIL-FC" is a bioproduct obtained from five marine hydrocarbonoclastic bacteria developed against oil pollution. The bioproduct was used with excellent results in different oil spill in Cuba happened in bays and beach. In all of cases the oil removal was higher of 90 % in only 30 days.

**Key Words:** BIORREMEDIATION, OIL SPILL, OIL DEGRADING BACTERIA.

### **INTRODUCCION**

El impacto de la actividad petrolífera en el medio ambiente se ha incrementado por el aumento de la explotación y producción de la industria petrolera, los vertimientos industriales, el almacenaje de combustible y el transporte de los productos petroleros, entre otras causas. Es por ello que la contaminación con hidrocarburos en el mar se ha triplicado en los últimos años, mientras que los suelos dañados representan el 70 % del total de los ecosistemas impactados con hidrocarburos.

El proceso de biodegradación natural de los hidrocarburos del petróleo es muy lento por lo que las investigaciones relacionadas con el desarrollo y aplicación de técnicas eficientes para el saneamiento y recuperación de zonas impactadas cobran cada vez mayor importancia.

En las labores para mitigar los efectos de un derrame de hidrocarburos la primera acción a desarrollar es la recogida mecánica y la técnica empleada depende de las características del lugar en cuestión. Estos tratamientos sólo logran un 60% de recuperación del petróleo originalmente derramado.

Los tratamientos secundarios están dirigidos a favorecer los mecanismos naturales como evaporación, fotooxidación, disolución y biodegradación, con el objetivo de eliminar los hidrocarburos residuales.

La biorremediación consiste en la adición de materiales a sistemas o ecosistemas contaminados para acelerar los procesos de biodegradación natural. Es una técnica basada en la capacidad que tienen los microorganismos de crecer a partir de la utilización de sustancias recalcitrantes al medio ambiente (Shmaefsky, 1999, Mack Kay, 2001). Algunos de ellos son capaces de degradar estos compuestos hasta dióxido de carbono, sales, agua y otros productos inocuos al medio ambiente (Advanced BioTech, 2000, Núñez, 2003). Además, es una técnica efectiva de descontaminación, de bajo costo, que permite tratar grandes volúmenes de contaminantes y que, a diferencia de otros procedimientos de descontaminación, presenta un impacto ambiental mínimo.

La biorremediación se utiliza actualmente para degradar los desechos químicos orgánicos contenidos en el mar, suelos, manantiales, efluentes de plantas procesadoras de alimentos y compuestos químicos y los lodos petrolizados de las refinerías de petróleo, tanques de almacenaje, separadores de agua-petróleo, equipamiento de limpieza y derrames accidentales de petróleo.

El reconocimiento que el petróleo es una mezcla compleja y degradable de hidrocarburos y el conocimiento que los microorganismos degradadores de hidrocarburos pueden ser enriquecidos en la mayoría de los diferentes tipos de ambientes (Lee y Levy, 1989), han contribuido grandemente al desarrollo de las tecnologías de biorremediación del petróleo en el mar (Halmo, 1985).

La biorremediación puede ser un proceso de aplicación de productos aplicada en las áreas contaminadas y se define como un proceso "in situ"; mientras que las tecnologías "ex situ" el material contaminado es tratado en áreas de manejo destinadas a ese fin (Gruiz y Kriston, 1995; Shmaefsky, 1999).

Es importante analizar en cada caso la necesidad real de añadir nutrientes al medio contaminado, pues estos pueden ser a su vez una fuente de contaminación. La efectividad del uso de poblaciones microbianas autóctonas o la adición de poblaciones exógenas es polémica en la actualidad (Aldrett, Bonner, McDonal, Mills, y Autenrieth, 1997). Los procesos de biorremediación se desarrollan mediante técnicas de bioestimulación y bioaumentación.

La técnica de bioestimulación se basa en el uso de nutrientes, sustratos o aditivos con actividad superficial para estimular el crecimiento y desarrollo de organismos capaces de biodegradar compuestos contaminantes del medio ambiente (Gruiz y Kriston, 1995; Baheri y Meysami, 2002; Núñez, 2003).

Las técnicas de bioaumentación describe la adición de organismos o enzimas a un material con el propósito de eliminar sustancias indeseables (Shmaefsky, 1999). La bioaumentación asegura que estén presentes los microorganismos específicos capaces de degradar al compuesto contaminante no deseado (Advanced BioTech, 2000). Las bacterias son los microorganismos más comúnmente utilizados para la bioaumentación (Shmaefsky, 1999).

En condiciones controladas éste es un método práctico y económicamente efectivo para eliminar la contaminación por hidrocarburos. Los microorganismos deben estar presentes en suficiente cantidad y diversidad. También deben tener asegurados sus requerimientos esenciales para lo cual se controlan rigurosamente parámetros como: nivel de oxígeno, nutrientes inorgánicos,

acceso al sustrato, agua y otras condiciones como pH, temperatura, salinidad, propiedades del contaminante, etc. (Oppenheimer Biotechnology, Inc. 2001).

La aplicación de bacterias degradadoras de hidrocarburos en áreas contaminadas por petróleo ha sido considerada como una posible opción para la biorremediación tanto en ambientes terrestres como acuáticos, pero su aplicación requiere de un diagnóstico inicial que incluya el diseño de cual es la solución idónea para sanear el área impactada que garantice el Cub@: Medio Ambiente y Desarrollo; cumplimiento de las normas y exigencias ambientales establecidas para ese tipo de tecnología.

### **Aspectos a considerar en la Biorremediación.**

El proceso de biorremediación debe incluir invariablemente una demostración científica válida de la efectividad del proceso y la seguridad ambiental.

Efectividad en el caso de la biorremediación de petróleo, significa el establecimiento de que:

- a. La remoción o desaparición del petróleo es primeramente atribuible a la biodegradación y no a otro proceso.
- b. El porcentaje de incremento de la degradación es suficientemente rápido (con verificación estadística) que la velocidad natural. Para poder justificar el gasto del esfuerzo de implementar el proceso de biorremediación a una gran escala. La seguridad ambiental requiere considerables esfuerzos para verificar que ocurren efectos ecológicos no adversos como resultado de la aplicación de fertilizantes.

### **Medidas de la efectividad de la Biorremediación.**

Se deben considerar los siguientes aspectos:

1. Cambios cualitativos en la composición de los hidrocarburos que son indicativos de procesos biológicos. Se realiza la cromatografía gaseosa, teniendo en cuenta los procesos de los factores ambientales (fotólisis, disolución física, lavado químico, volatilidad, etc.) que pueden contribuir a la desaparición del petróleo.
2. Los grupos indicadores de la degradación son los hidrocarburos aromáticos seleccionados ya que si estos se degradan, los hidrocarburos alifáticos serán siempre también intensamente degradados.
3. Disminución del porcentaje de la masa de petróleo que son también indicativos de procesos biológicos.
4. Reducción del peso total del petróleo, determinando la pérdida de peso en las distintas fracciones de hidrocarburos del petróleo
5. La medición del número de microorganismos degradadores de petróleo es un indicador inicial de la factibilidad de la biorremediación.
6. Estudio de la mineralización (mediciones de la producción de CO<sub>2</sub> total).
7. Efecto de la acción del nitrógeno

### **Impacto Ambiental de los Derrames de Petróleo en el Mar.**

El impacto de los derrames de hidrocarburos en los ecosistemas marinos resulta desastroso y sus consecuencias han sido muy bien estudiadas en una gran variedad de organismos, ecosistemas y procesos biológicos en diferentes ambientes marinos (tropicales, templados y polares). Ejemplo las macrofitas acuáticas son altamente susceptibles y frecuentemente constituyen la vegetación dominante afectada en el ecosistema impactado. Muchos animales pueden morir por efectos directos o subletales (Maki, 1991 y Baker, Clark y Kingston, 1991). Los procesos reproductivos, de desarrollo y conductal son muy sensitivos a la exposición a los hidrocarburos, generalmente los estadios jóvenes de la vida son más sensitivos que los adultos de muchos crustáceos y equinodermos juveniles y los adultos son más sensibles que los peces juveniles y adultos. También hay efectos severos sobre las poblaciones y comunidades (manglares, ciénagas, etc). Las aves acuáticas y los animales salvajes marinos son muy vulnerables, ocasionando daños que duran mucho tiempo en recuperar su estado normal. Los

impactos económicos son fuertes por la prohibición de la pesca y para el turismo por la contaminación de las playas.

### Experiencias Cubanas en la Biorremediación de la Contaminación de Petróleo

El incremento del transporte de hidrocarburos hacia y alrededor de Cuba, unido al crecimiento de la industria petrolera nacional provocó la necesidad de explorar la aplicación de tecnologías de biorremediación para coadyuvar a la protección del ambiente marino frente a derrames de petróleo y al incremento de la producción de petróleo por el uso de microorganismos.

Desde finales de la década de los 80 del siglo pasado en Cuba se ha trabajado en investigaciones relacionadas con el desarrollo de tecnologías para la biorremediación de ambientes impactados con petróleo y sus derivados. En particular, se estableció la Colección de Bacterias Marinas a partir del aislamiento, selección y conservación de bacterias heterótrofas de origen marino, teniendo en cuenta que la extensión y diversidad taxonómica de estos microorganismos representan un potencial para la obtención de productos naturales bioactivos.

En la actualidad la colección se encuentra en el Centro de Bioproductos Marinos (CEBIMAR), la cual cuenta con más de 400 cepas de bacterias aisladas del medio marino, muchas de las cuales son capaces de degradar el crudo, producir tensioactivos, ácidos orgánicos u otros metabolitos, con alta baroestabilidad y resistencia a las sales, que han permitido la formulación de diferentes bioproductos destinados al tratamiento de ecosistemas contaminados con petróleo y sus derivados (Núñez, Garateix, Laguna, Fernández, Ortiz, Llanio, Valdés, Rodríguez y Menéndez, 2006).

El desarrollo de proyectos de aplicación de las potencialidades de las bacterias relacionadas con la biorremediación de ambientes impactados con hidrocarburos surge a partir de tareas de investigación básica relacionadas con los resultados siguientes:

- ⌚ Establecimiento de la colección de bacterias marinas degradadoras de petróleos crudos ligeros y pesados, hidrocarburos aromáticos y fracciones de destilación derivados del petróleo.
- ⌚ Establecimiento de una colección de microorganismos marinos productores de tensioactivos de carácter emulgentes útiles en la degradación de petróleo y sus derivados.
- ⌚ Procedimientos y productos para la descontaminación ambiental y el tratamiento de residuales de la industria petrolera.

La formulación de los biopreparados para la degradación de hidrocarburos incluye el cultivo de células libres e inmovilizadas a partir de cultivos axénicos o mixtos obtenidos por vía fermentativa. En particular se ha trabajado con cinco cultivos de bacterias aislados de los sedimentos de la Bahía de Cárdenas, Matanzas, que han mostrado su capacidad de degradar las diferentes fracciones del crudo (Núñez; 2003; Cabranes, Núñez y Ortiz, 2006; Cabranes, Núñez y Ortiz, 2007). Entre los productos diseñados y evaluados por técnicas de inmovilización celular se incluye el **BIOIL**, **k-BIOIL** e **IDO-225** (Núñez; 2003; Fonseca, Núñez y Villaverde, 2005); mientras que el **BIOIL-FC** está diseñado a partir de un cultivo de células libres.

El desarrollo del bioproducto **BIOIL-FC** permitió diseñar un Servicio Ambiental demandado por el sector industrial vinculado al uso del petróleo y sus derivados para el saneamiento de la contaminación petrogénica. Este servicio es brindado por el Centro de Bioproductos Marinos (CEBIMAR).

**BIOIL-FC** es un bioproducto en forma de células libres y en su formulación contiene un cultivo mixto de bacterias, el cual presenta un amplio espectro de degradación de los hidrocarburos del petróleo. Su proceso de obtención es por vía fermentativa a partir de materias primas sencillas y

su tecnología de producción a escala industrial está diseñada para disminuir los costos de acuerdo a los recursos y condiciones disponibles.

La velocidad de degradación de los hidrocarburos contaminantes a través de un proceso de biorremediación varía de acuerdo a las características y naturaleza del petróleo y del sistema impactado. El tiempo de recuperación con la aplicación de **BIOIL-FC** oscila entre uno y cuatro meses, teniendo en cuenta las condiciones y características de la matriz o sistema tratado, así como el tipo de hidrocarburo. En el mar se ha demostrado su eficacia en períodos entre 30 a 45 días, determinado por las condiciones climáticas, oceanográficas, entre otras. En otros medios acuáticos es importante la capacidad de mezclado y la velocidad de desplazamiento; con recuperación a los 35 a 60 días y en el caso de los suelos entre los 90 a 120 días en dependencia de su composición y condiciones de deterioro.

Desde el año 1990 se han desarrollado diferentes experiencias de Servicios de Biorremediación con la aplicación del bioproducto **BIOIL-FC** para el saneamiento de ecosistemas impactados con hidrocarburos con resultados satisfactorios.

La primera experiencia fue desarrollada en 1990, en bioensayos a escala de laboratorio y de banco empleando residuales de la Refinería "Nico López" de la Habana y agua de formación de la Empresa de Extracción y Perforación de Petróleo Crudo en Varadero Cuba (Joseph, 1996). Las experiencias se realizaron en reactores aireados con un volumen de 200 L. Los resultados de estos ensayos demostraron que los cultivos empleados degradaban estos residuales en 19 días comparables a los referidos por el American Petroleum Institute (API).

Posteriormente fue desarrollada una tecnología de biorremediación con el producto **BIOIL-FC** para el tratamiento de derrames accidentales de crudo y sus derivados en diferentes ecosistemas naturales. En 1992 se llevó a cabo por primera vez el tratamiento biológico de un derrame de petróleo en Cuba. La aplicación del **BIOIL-FC** permitió en solo 21 días reducir la contaminación provocada por un derrame accidental de más de 100 T de petróleo combustible pesado en la Bahía de Cienfuegos.

Además se ha aplicado en otros accidentes ocurridos en diferentes ecosistemas marinos como bahías abiertas, playas y manglares, con resultados de remoción de los hidrocarburos de más del 90%. También el producto ha sido utilizado con éxito para el saneamiento lagunas de oxidación y otros ecosistemas como ríos y ensenadas con excelentes resultados. Se ha demostrado que el proceso de biorremediación con este producto en condiciones naturales no afecta a los ecosistemas por lo que cumple con el principio de la seguridad ambiental donde ha sido aplicado.

La aplicación del **BIOIL-FC** en la biorremediación ha resultado efectiva para reducir los daños ecológicos y económicos ocasionados por derrames de hidrocarburos, garantizando una rápida recuperación del área impactada a un bajo costo aplicable a cualquier tipo de contaminación con hidrocarburos en diferentes ecosistemas naturales; así como en la industria (Núñez, Ortiz, Oramas, FonsecaCabranes, Paneque, Barbán, Díaz, y Martínez, 2009.).

## BIBLIOGRAFIA

Advanced BioTech. 2000. Why add microbes? Advanced BioTech, California, USA.  
[http://www.adbio.com/bioreem/why\\_add\\_microbes.htm](http://www.adbio.com/bioreem/why_add_microbes.htm).

Aldrett, S.; Bonner, J. S.; McDonal, T. J.; Mills, M. A. y Autenrieth, R.L. 1997. Degradation of Crude Oil Enhanced by Commercial Microbial Cultures. Proceedings of the 1997 International Oil Spill Conference. American Petroleum Institute, Washington D.C.: 995-996.

Baheri, H. y Meysami, P. 2002. Feasibility of Fungi Bioaugmentation in Composting a Flare Pit Soil. Journal of Hazardous Materials. 89: 2-3: 279-286

Baker J.M., R.B. Clark y P.F. Kingston. 1991. Two years after the spill: environmental recovery in Price William Sound and the Gulf of Alaska.. Institute of Offshore Engineering Heriot-Watt University, Edinburg, Scotland. 31pp.

Cabranes, Y., Núñez R. Ortiz; E. 2007. Cinética de oxidación del hexadecano por bacterias aisladas de ecosistemas marinos. XXVII Congreso Latinoamericano de Química 2006 (cd-rom). Revista Cubana de Química Vol. XIX. No 1, 2007. ISSN 0258-5595.

Cabranes, Y., Núñez R.; Ortiz; E. 2006. Parámetros cinéticos de la degradación del ciclohexano por bacterias del género *Bacillus*. Revista Ciencias.com (Internet).

Fonseca, E. L.; Núñez, R. R.; Villaverde; M. 2005. Utilización de la  $\kappa$ -carragenina, obtenida a partir de la especie *kappaphycus alvarezii doty*, como soporte de inmovilización de microorganismos para la biorremediación de hidrocarburos. Evento Ficología 2005 (cd-rom).

Gruiz, K y Kriston, E. 1995. In situ bioremediation of hydrocarbon in soil. Journal of Soil Contamination. 4(2): 163-173.

Halmó, G. 1985. Enhanced biodegradation of oil . En *Proceedings 1985 Oil Spill Conf.* Am. Petroleum Inst., Washington pp 531-537.

Joseph, N. I. 1996. Microorganismos marinos degradadores de hidrocarburos y sus aplicaciones en la industria petrolera. Tesis de Maestría. UH.

Lee K. y E. M. Levi. 1989 Biodegradation of petroleum in the marine environment and its enhancement. En *Aquatic Toxicology and Water Quality Management* . New York pp 217-243.

Mac Kay, N.I. 2001. Biorremediación. <http://www.ambienteNews.htm>. 1-4.

Maki, A. W. 1991. The Exxon Valdez oil spill : initial environmental impact assessment. Part 2 of a five-part series. *Environ.Sci.Technol.* 25(1):24-29

Núñez, R. 2003. Obtención, caracterización y aplicación de un bioproducto bacteriano para la biorremediación de derrames de hidrocarburos. Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Biológicas, Universidad de La Habana. Cuba.

Núñez, R., Ortiz E, Oramas, J., Fonseca, E., Cabranes, Y., Paneque, K., Barbán, O., Díaz, Y y Martínez. 2009. Biorremediación de ecosistemas cubanos contaminados con petróleo. Memorias del XV Simposio de la RELAB.

Núñez, R., Garateix A., Laguna A., Fernández M.D., Ortiz E., Llanio M., Valdés O., Rodríguez A., Menéndez R. 2006. Caribbean marine biodiversity as a source of new compounds of biomedical interest and others industrial applications. *Pharmacology on line* 3: 111-119.

Oppenheimer Biotechnology, Inc. 2001. Bioaugmentation  
<http://www.obio.com/bioaugmenation.htm>

Shmaefsky, B.R. 1999. Bioremediation: Panacea or fad? Access Excellence. The National Health Museum. <http://www.accessexcellence.org/LC/ST/st3bg.html>