

Aspectos tecnológicos y aplicación al vertido del Prestige

# Biorremediación

En este trabajo se abordan los beneficios de biorremediación frente a otras alternativas existentes en el mercado. También se exploran las posibilidades de aplicación de estas técnicas en el caso del vertido del Prestige haciendo referencia a los principales factores implicados (tipo de contaminante, dinámica marina, productos comerciales, etc.).

In this work, the benefits of bioremediation techniques to reduce environmental impacts are studied. In order to deal with Prestige oil spill, some possible approaches of bioremediation are presented; special references to the main factors implied in the clean-up of coastal sediments are pointed out (type of contaminants, marine geodynamic, available bioremediation products, etc.).

## Un poco de historia

A mediados del siglo XX se desarrollaron las primeras investigaciones encaminadas a estudiar el potencial de los microorganismos para biodegradar contaminantes (Zobell, 1946; Davis, 1956). Este "uso" intencionado recibió entonces el nombre de biorremediación

("bioremediation"). Las primeras técnicas que se aplicaron fueron similares al "landfarming" ('labranza') actual y sus actores, lógicamente, compañías petrolíferas.

Las primeras patentes, fundamentalmente para remediación de vertidos de gasolina, aparecen en los años 70. En los

Fotografía 1. Agua e hidrocarburos en los intersticios entre rocas. Ensenada de la Playa de Aramar en Asturias.



Contesla: Iñigo Sánchez, Área de Ecología, Universidad de Oviedo (diciembre 2002)

José Luis Rodríguez Gallego  
Ingeniero de Minas  
Profesor Asociado

Jesús Sánchez Martín  
Microbiólogo  
Profesor Titular

Universidad de Oviedo

años 80 se generalizó el uso del aire y peróxidos para suministrar oxígeno a las zonas contaminadas mejorando la eficiencia de los procesos degradativos. Durante los años 90 el desarrollo de las técnicas de "air sparging" (burbujeo de oxígeno) hizo posible la biorremediación en zonas por debajo del nivel freático. Al mismo tiempo, la implementación en la práctica de aproximaciones experimentales en el laboratorio permitió el tratamiento de hidrocarburos clorados, los primeros intentos con metales pesados, el trabajo en ambientes anaerobios, etc. Paralelamente, se desarrollaron métodos de ingeniería que mejoraron los rendimientos de las técnicas más populares para suelos contaminados ("landfarming", "composting", etc.) (Riser-Roberts, 1998).

En el presente se enfrenta un nuevo reto que pasa por vencer poco a poco a las empresas y a los organismos oficiales del potencial de la biorremediación. En algunos países se puede ya afirmar sin lugar a dudas que la biorremediación, que una vez fue una técnica marginal y que generaba demasiadas dudas, ha pasado a ser una verdadera industria. Esta 'industria' busca hoy por hoy seguir mejorando en unas líneas, decididamente interdisciplinarias, que se pueden resumir en los siguientes puntos:

- Desarrollo de técnicas rápidas de biología molecular que permitan caracterizar las poblaciones indígenas de los emplazamientos contaminados así como su potencial en-

zimático (Theron y Cloete, 2000; Watanabe, 2001).

- Integración en el proceso de técnicas innovadoras (por ejemplo geofísica de superficie) que ayuden a comprender y controlar los fenómenos de transporte de nutrientes y otros posibles aditivos.
- Exploración de las implicaciones del concepto de bio-disponibilidad ("bioavailability") definido por las propiedades físico-químicas de los contaminantes. Se trata de un factor que en un muchos casos está limitando la biodegradación y en otros reduciendo la toxicidad de los contaminantes.
- Desarrollo definitivo de técnicas de bioaumentación realmente útiles (Major et al., 2002).

#### Técnicas de biorremediación para contaminación por hidrocarburos

En la Tabla 1 se resumen los parámetros que aumentan o disminuyen la probabilidad de obtener resultados favorables en un proceso de biorremediación en un medio contaminado por hidrocarburos (algunos ya se han tratado con detalle en el anterior artículo sobre Biorremediación en este número).

Tabla 1. Factores favorables y desfavorables que influyen en el proceso de biorremediación.

	Factores favorables	Factores desfavorables
Características químicas	<ul style="list-style-type: none"> <li>➢ Abundancia de hidrocarburos alifáticos lineales, escasa presencia de resinas y asfaltenos.</li> <li>➢ Concentraciones bajas.</li> <li>➢ Presencia de poblaciones microbianas diversas.</li> <li>➢ Adecuada oxigenación</li> <li>➢ pH entre 6 y 8.</li> <li>➢ Temperaturas superiores a 15°C.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➢ Componentes muy pesados abundantes en la mezcla.</li> <li>➢ Mezcla de compuestos orgánicos e inorgánicos.</li> <li>➢ Concentraciones tóxicas.</li> <li>➢ Escasa actividad microbiana.</li> <li>➢ Ambientes anóxicos.</li> <li>➢ pH extremos.</li> <li>➢ Temperaturas bajas.</li> </ul>
Características hidrogeológicas	<ul style="list-style-type: none"> <li>➢ Porosidad media.</li> <li>➢ Elevada permeabilidad.</li> <li>➢ Mineralogía uniforme.</li> <li>➢ Homogeneidad.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➢ Rocas fracturadas.</li> <li>➢ Baja permeabilidad.</li> <li>➢ Compleja mineralogía.</li> <li>➢ Heterogeneidad.</li> </ul>

Teniendo en cuenta los factores reseñados el proceso se puede llevar a cabo mediante dos aproximaciones:

- **Biorremediación "in situ"**: Consiste en tratar las aguas, suelos o arenas contaminadas sin sacarlas del lugar en el que se encuentran. Para ello, tanto en métodos de bioestimulación como en bioaumentación, se puede disponer una red de bombeo de nutrientes o un sistema de inoculación o bien una simple aireación del terreno con bombeo ("bioventing" y "air sparging") o con arado ("landfarming" in situ).
- **Biorremediación "ex situ"**: Los procesos de tratamiento se llevan a cabo tras la excavación del medio contaminado, bien en simples biorreactores (técnicas de "bioslurry" para suelos), en plantas de tratamiento (técnicas "pump & treat"), en biopilas, o sobre láminas impermeables ("landfarming" ex situ), etc. Las ventajas de estos procedimientos frente a los primeros radican en la posibilidad de optimizar mejor los parámetros microbiológicos, así como el control del proceso; a cambio, lógicamente, de un mayor coste.

#### ¿Es la biorremediación una técnica económicamente rentable?

Como premisa fundamental hay que mencionar que la biorremediación es una herramienta que puede ser utilizada eficazmente en ambientes contaminados específicos. Habitualmente se usa como un paso posterior a la limpieza por medios físicos o mecánicos de la parte más palpable del vertido o bien directamente sobre determinados residuos. Es un proceso relativamente lento que requiere meses o años en muchas ocasiones, pero muy económico si se efectúa adecuadamente. Por otro lado, su ventaja principal consiste en que los contaminantes son destruidos en una fase más del ciclo del carbono, más allá de un traslado, como en el caso de otros métodos.

Una vez obtenida la certeza de que el problema que se desea resolver es abordable con técnicas de biorremediación, es probablemente una de las opciones más baratas o la más barata de todas. En las Tablas 2 y 3 se muestran algunos cálculos realizados por autores de reconocido prestigio en este campo (Walter y Crawford, 1997; Atlas y Unterman, 1999).

No obstante es preciso considerar otros factores además del económico antes de implementar un tratamiento de biorremediación. Desde el punto de vista de los beneficiarios, que en el caso que nos ocupa del **Prestige** son las personas que viven directa o indirectamente de la mar, el parámetro más importante es el tiempo que dura el tratamiento. En este sentido la biorremediación no ofrece ventajas ya que, al menos en teoría, es más lenta que otras alternativas. Sin embargo, la ausencia de agresividad para el medio y el coste de esta técnica pueden ser factores que motiven su inclusión en un

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

programa de recuperación de las costas. Por otra parte, la cinética de los procesos biodegradativos puede optimizarse con un programa de trabajo adecuado, con el objeto de mejorar su rendimiento.

### Implementación de un programa de biorremediación

Un programa con perspectivas de éxito requiere un estudio de "bioviabilidad" ("bio-treatability"), que contaría con las siguientes fases:

- Revisión bibliográfica, para obtener datos sobre la biodegradabilidad de los contaminantes del emplazamiento y sobre la existencia de casos similares (Swannell et al., 1996; Prince, 1997; Head y Swannell, 1999).
- Estudios iniciales, para obtener parámetros ambientales de importancia: nutrientes, presencia de aceptores de electrones, potencial redox, pH, temperatura, etc (Gallego et al., 2001b; Vallejo et al., 2001).
- Muestreo detallado, para analizar los microorganismos autóctonos, la densidad de las poblaciones biodegradadoras y su potencial enzimático (Yuste et al., 2000; Gallego et al., 2001; Röling et al., 2002).

Tabla 2.  
Costes relativos de diversas tecnologías de remediación (fuente: Walter & Crawford, 1997).

Estudios de laboratorio y a escala piloto, que permitan evaluar las diferentes alternativas de biorremediación (Skladany y Baker, 1994; King et al., 1997; Head, 1998).

- Estudios de laboratorio y a escala piloto, que permitan evaluar las diferentes alternativas de biorremediación (Skladany y Baker, 1994; King et al., 1997; Head, 1998).

Más adelante, durante el desarrollo del proceso de biorremediación, la monitorización juega también un papel clave en la evaluación de la efectividad del trabajo, con el objeto de evaluar la desaparición del contaminante con el tiempo y la disminución del riesgo para el medio receptor (Shannon y Unterman, 1993). En este sentido es necesario distinguir entre la desaparición de contaminantes por fenómenos físicos o químicos y por la acción biológica, para lo cual se aplican diversos procedimientos, como el análisis de biomarcadores (Bragg et al., 1994 y datos no publicados por los autores).

Tabla 3.  
Beneficios económicos de la biorremediación en casos reales (fuente: Atlas & Unterman, 1999).

Aplicación	Tratamiento físico y/o químico	Biorremediación	Diferencia (beneficio)
Suelo contaminado por hidrocarburos ("brownfield" urbano)	Excavación y transporte a vertedero. Coste: \$3 millones	"Bioventing on site": \$0,2 millones	\$2,8 millones
Acuífero contaminado por un vertido de gasolina desde un tanque enterrado	Bombeo, tratamiento de "air stripping" y "skimming". Coste: \$2 millones	'Soil vapor extraction' y 'bioventing'. \$0,25 millones.	\$1,75 millones
Contaminación múltiple ("superfund site")	Encapsulamiento. Coste: \$25 millones	Biorremediación 'in situ'. \$5 millones.	\$20 millones
Contaminación múltiple con BTEX y Arsénico ("superfund site")	Bombeo y tratamiento. Encapsulamiento. Coste: \$50 millones	Bioestimulación 'in situ', bioventing y air sparging. Inmovilización biológica de metales. \$2 millones.	\$48 millones
Vertido de crudo en el mar.	Lavado físico, coste de \$1,1 millones por kilómetro de costa afectado.	Bioestimulación con fertilizante; \$0,005 millones por kilómetro de costa afectado	Más de \$1 millón por km de costa

### Consideraciones sobre la aplicabilidad de técnicas de biorremediación en el vertido del Prestige

En este apartado señalaremos algunos aspectos que se deben considerar antes de planear tratamientos de biorremediación en las costas afectadas por el vertido:

#### a) Tipos de hidrocarburos y su concentración

No hay un límite claro establecido de concentraciones máximas de hidrocarburos para que la biorremediación sea efectiva. De todos modos el mayor problema en el caso del Prestige lo constituye la cantidad de resinas y asfaltenos presentes. Mientras que la biodegradación afectará en primer lugar a los alcanos y parte de la fracción aromática, el comportamiento de las resinas y asfaltenos es impredecible aunque, no obstante, otros procesos naturales como la fotooxidación, pueden colaborar en su degradación.

#### b) Climatología, mareas y movimiento de los sedimentos

La influencia de la temperatura se pondrá de manifiesto en cuanto a que en los meses más cálidos la acción microbiana se reforzará. La dinámica de las playas y acantilados puede ayudar a retirar residuos de la costa y colaborar en la oxidación, pero puede igualmente confinar aguas contaminadas en los espacios intersticiales (fotografía 1). Hay que considerar también que las mareas pueden impedir la aplicación de productos de bioestimulación o dificultar la fijación de los microorganismos si se lleva a cabo algún tipo de bioaumentación (ver "Biorremediación: Fundamentos y aspectos microbiológicos" en este mismo número). Todo esto abre las posibilidades a tra-





Fotografía 2.  
Distribución heterogénea de restos de fuel mezclados con algas y grava (Playa de la Gargantera, Gozón, Asturias).

tamientos ex situ, especialmente en el caso de las arenas, aunque en este supuesto deberían ser ecólogos y expertos en geomorfología de costas los que valorasen el riesgo de excavar una gran cantidad de arena para tratarla en un recinto controlado y luego devolverla a su lugar original.

#### c) Tipo de entorno a recuperar

La biorremediación se ha aplicado con resultado desigual en playas de arena, playas de roca y marismas. En estas últimas el problema fundamental son las condiciones anóxicas, el bajo pH y la gran salinidad de los sedimentos. En cuanto a las playas de piedra o acantilados, el problema operacional es grande ya que no se tienen las facilidades de muestreo, analítica, etc. que hay en una arena debido a la heterogeneidad del reparto del chapapote (fotografía 2). La aproximación requiere fuentes oleofílicas de nutrientes y biosurfactantes, siendo la monitorización visual muy importante.

En las playas de arena, la biorremediación se puede plantear in situ o ex situ en función de las mareas. Aunque el medio es en principio más homogéneo y fácil de parcelar y airear, la interestratificación de las manchas y a veces el reducido tamaño de éstas (fotografía 3) puede dificultar las operaciones por lo que es imprescindible un estudio subsuperfi-

cial mediante pequeñas catas. También es posible que, terminadas las labores de limpieza física, visualmente no se aprecien restos de hidrocarburos pero aún exista una cantidad remanente que permanecerá adsorbida (Swannell et al., 1996).

#### d) Productos para la biorremediación (bioestimulación)

El objetivo de la mayoría de ellos es aportar al medio las cantidades necesarias de N y P disponible, para permitir la degradación de hidrocarburos por los microorganismos. Teniendo en cuenta las características del entorno mencionadas arriba, además de su composición química es muy importante su constitución física y su interacción con las mareas. Hay varias posibilidades, algunas de ellas ensayadas tras el accidente del **Exxon Valdez** (Pritchard, 1997; ver artículo sobre el vertido en este mismo número) y en otros vertidos (Swannell et al., 1996):

- Briquetas o gránulos de liberación lenta.
- Fertilizantes oleofílicos líquidos (el más conocido es el Inipol EAP22).
- Productos naturales con propiedades nutritivas y surfactantes (extractos de algas).
- Biosurfactantes de origen bacteriano (Emulsan, otros).
- Surfactantes de origen químico, biodegradables, combinados con sales minerales.

- Otros productos hipotéticamente desarrollados en el marco de las investigaciones sobre el vertido del Prestige que nos ocupa.

#### Conclusiones

Como criterio general, consideramos que la aplicación de técnicas de biorremediación puede ser efectiva (sobre sustratos de roca y/o sobre arena) con la combinación de un producto surfactante o dispersante que permita la emulsión de los hidrocarburos y un fertilizante que aumente la presencia de Nitrógeno y Fósforo disponible. Este enfoque permitiría reducir la concentración de hidrocarburos y evitaría la acumulación definitiva de los compuestos no degradados en el sedimento marino.

Sin embargo, debido a la complejidad de los parámetros físico-químicos y biológicos implicados en la relación microorganismo-contaminante, que hemos intentado enunciar en este artículo y en el precedente, una aproximación experimental correcta al tratamiento biológico de los vertidos requiere un estudio previo detallado de cada uno de los emplazamientos y un control efectivo a corto y medio plazo del proceso, más que un aporte indiscriminado de un producto elegido aleatoriamente. Hay que apuntar, en este sentido, que la elección de un producto bioestimulante puede estar condicionada por factores no directamente relacionados con su efectividad, como por ejemplo, su disponibilidad comercial en las cantidades necesarias.

Por último, el estudio previo de los parámetros de degradación en el laboratorio sobre muestras y condiciones análogas a las del medio natural (microcosmos) constituye, si es posible llevarlas a cabo, una fuente de información muy valiosa para su aplicación posterior en el campo (Pritchard, 1997).

## Bibliografía

- Atlas, R.M. y Unterman, R.** (1999). Bioremediation. En: Demain AL & Davies JE (Eds) Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology 2nd ed (pp 666-681), ASM Press, Washington D.C.
- Bragg, J.R.; Prince, R.C.; Harner, E.J. y Atlas, R.M.** (1994). Effectiveness of bioremediation for the Exxon Valdez oil spill. *Nature* 368: 413-418.
- Davis, J.B.** (1956). Microbial decomposition of hydrocarbons. *Ind. Eng. Chem.* 48:1444-1448.
- Gallego, J.R.; Loredó, J.; Llamas, J.F. y Sánchez, J.** (2001a). Sources of hydrocarbon-degrading microorganisms: isolation, characterization and applications. Proceedings of the First European Bioremediation Conference, Chania- Greece, pp. 324-327.
- Gallego, J.R.; Loredó, J.; Llamas, J.F. y Sánchez, J.** (2001b). Bioremediation of diesel-contaminated soils: Evaluation of potential in situ techniques by study of bacterial degradation. *Biodegradation* 12, 325-335.
- Head, I.M.** (1998). Bioremediation: towards a credible technology. *Microbiology* 144: 599-608.
- Head, I.M. y Swannell, R.P.J.** (1999). Bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminants in marine habitats. *Curr. Op. Biotechnol.* 10: 234-239.
- King R.B.; Long, G.M. y Sheldon J.K.** (1997). Practical environmental bioremediation, the field guide. Lewis publishers, NY.
- Major et al.** (2002). Field Demonstration of Successful Bioaugmentation To Achieve Dechlorination of Tetrachloroethene To Ethene. *Environmental Science & Technology.* 36: 5106-5116.
- Prince, R.C.** (1997). Bioremediation of marine oil spills. *Tibtech* 15:158-160.
- Pritchard P.H.** (1997). Cuestiones reglamentarias y de eficacia en la biorrecuperación de los derrames de petróleo: experiencias con el derrame del Exxon Valdez en Alaske. En: Levin M.; M.A. Gealt –editores- Biotratamiento de residuos sólidos y peligrosos. Cap. 12, pp 273-311. McGraw Hill. Madrid.
- Riser-Roberts, E.** (1998). Remediation of petroleum contaminated soils. CRC Press. Lewis publishers.
- Röling, W.F.; Milner, M.G.; Jones, D.M.; Lee, K.; Daniel, F.; Swannell, R.P. y Head I.M.** (2002). Robust hydrocarbon degradation and dynamics of bacterial communities during nutrient-enhanced oil spill bioremediation. *Applied and Environmental Microbiology* Vol. 68 (11), pp 5537-5548.
- Shannon, M.J.R. y Unterman, R.** (1993). Evaluating bioremediation: distinguishing fact from fiction. *Ann. Rev. Microbiol.* 47: 715-738.
- Skladany, G.J. y Baker, K.H.** (1994). Laboratory biotreatability studies. In: Baker, K.H. & D. S. Herson (Eds) Bioremediation (pp 97-172). McGraw-Hill, Inc. NY.
- Swannell, R.P.; Lee, K. y McDonagh, M.** (1996). Field evaluations of marine oil spill bioremediation. *Microbiological Reviews* vol. 60 (2), pp 342-365.
- Theron, J. y Cloete, T.E.** (2000). Molecular techniques for determining microbial diversity and community structure in natural environments. *Critical Rev. Microbiol.* 26: 37-57.
- Vallejo, B.; Izquierdo, A.; Blasco, R.; Pérez del Campo, P. y Luque, M.D.** (2001). Bioremediation of an area contaminated by a fuel spill. *J. Environ. Monit.* 3, 274-280.
- Walter, M.V. y Crawford, R.L.** (1997). Overview: Biotransformation and biodegradation. In: Hurst, C.J. (Ed) Manual of Environmental Microbiology (pp 753-765). ASM Press, Washington, D.C.
- Watanabe, K.** (2001). Microorganisms relevant to bioremediation. *Current Opinion in Biotechnology* 12:237-241.
- Yuste, L.; Corbella, M.E.; Turiégano, M.J.; Karlsson, U.; Puyet, A. y Rojo, F.** (2000). Characterization of bacterial strains able to grow on high molecular mass residues from crude oil processing. *FEMS Microbiol. Ecol.* 32: 69-75.
- Zobell, C.E.** (1946). Action of microorganisms in hydrocarbons. *Bact. Rev.* 10:1-49.

Fotografía 3. En la parte superior reguero de bolas de "chapapote" en una playa de arena; debajo, tamaño habitual de estas manchas.



Contribución: Iñigo Sánchez, Área de Ecología, Universidad de Oviedo (diciembre 2002)