

**PROCESO DE BIODEGRADACIÓN PARA EL TRATAMIENTO DE DERRAMES
DE PETRÓLEO POR MEDIO DE PSEUDOMONAS**

DANIELA ARENAS PIZA

**FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA
FACULTAD DE EDUCACIÓN PERMANENTE Y AVANZADA
GESTIÓN AMBIENTAL
BOGOTÁ D.C.
2018**

**PROCESO DE BIODEGRADACIÓN PARA EL TRATAMIENTO DE DERRAMES
DE PETRÓLEO POR MEDIO DE PSEUDOMONAS**

DANIELA ARENAS PIZA

**Monografía para optar el título de:
ESPECIALISTA EN GESTIÓN AMBIENTAL**

**Asesor(a):
DORA MARIA CAÑÓN RODRIGUEZ
Ingeniera Química**

**FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA
FACULTAD DE EDUCACIÓN PERMANENTE Y AVANZADA
GESTIÓN AMBIENTAL
BOGOTÁ D.C.
2018**

NOTA DE ACEPTACIÓN

Firma director especialización

Firma calificador

Bogotá, D.C. Marzo de 201

DIRECTIVAS DE LA UNIVERSIDAD

Presidente de la Universidad y Rector del Claustro

Dr. Jaime Posada Díaz

Vicerrectora Académica y de Posgrados

Dra. Ana Josefa Herrera Vargas

Vicerrector de Desarrollo y Recursos Humanos

Dr. Luis Jaime Posada García Peña

Secretario General

Dr. Juan Carlos Posada García Peña

Decano de Facultad de Educación Permanente y Avanzada

Dr. Luis Fernando Romero Suárez

Director de la Especialización en Gestión Ambiental

Dr. Francisco Archer Narváez

Las directivas de la Universidad de América, los jurados calificadores y el cuerpo docente no son responsables por los criterios e ideas expuestas en el presente documento. Estos corresponden únicamente al autor.

DEDICATORIA

A Dios, por darme la oportunidad de cumplir
mis sueños profesionales con fortaleza y
humildad.

A mis padres, por su apoyo y
acompañamiento durante toda mi formación
profesional.

A mis abuelos, por ser el pilar de fortaleza
familiar y por ser mi apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco de antemano a mis padres por ser mi motivo de inspiración en mi profesión.

Gracias a todos los profesores que fueron parte del proceso de formación durante la especialización en gestión ambiental.

Agradezco a la profesora Dora Cañón, por sus constantes consejos y aserías para lograr una excelente monografía.

Por último, un agradecimiento al director de especialización en gestión ambiental, Doctor Francisco Archer, por siempre ayudar a los estudiantes en todas sus necesidades.

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN	23
OBJETIVOS	24
1. MARCO TEÓRICO	25
1.1 ANTECEDENTES	25
2. IDENTIFICACIÓN DE LAS CONSECUENCIAS DE UN DERRAME DE PETROLEO EN AGUA Y SUELO	37
2.1 HIDROCARBUROS	37
2.1.1 Clasificación según su composición orgánica	37
2.1.1.1 Hidrocarburos alifáticos	37
2.1.1.2 Hidrocarburos aromáticos	38
2.1.2 Clasificación según su naturaleza	39
2.1.2.1 Hidrocarburos biogénicos	39
2.1.2.2 Hidrocarburos antropogénicos	39
2.2 PETRÓLEO	39
2.2.1 Composición y propiedades del petróleo	40
2.2.2 Clasificación del petróleo	40
2.3 DERRAMES DE PETRÓLEO	41
2.4 AGUA	43
2.4.1 Agua de mar	45
2.4.1.1 Tipos de aguas marinas	45
2.4.1.2 Parámetros ecológicos del mar	46
2.4.1.3 Derrames de petróleo en agua de mar	47
2.4.1.4 Propagación del derrame	49
2.4.1.5 Evaporación del derrame	51
2.4.2 Derrames de petróleo en ríos	51
2.4.3 Derrames de petróleos en acuíferos	53
2.4.3.1 Clasificación de acuíferos	54
2.4.3.2 Parámetros ecológicos de un acuífero	55
2.5 Suelo	55
2.5.1 Parámetros ecológicos del suelo	56
2.5.2 Comportamiento de un derrame de petróleo en suelo	58
2.6 Consecuencias de los derrames de petróleo	59
2.6.1 Consecuencias ambientales	59
2.6.1.1 Efecto en aves	61
2.6.1.2 Efecto en mamíferos	62
2.6.1.3 Efectos en organismos y ecosistemas marinos	63
2.6.1.4 Efectos sobre las comunidades microbianas	65

2.6.1.5 Efectos sobre la vegetación y agricultura	66
2.6.2 Consecuencias económicas	66
2.6.3 Consecuencias sociales	68
2.7 ETAPAS CRÍTICAS	71
2.7.1 Exploración	73
2.7.2 Perforación	74
2.7.3 Producción	75
2.7.4 Transporte y distribución	76
2.7.5 Refinación	78
3. DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO DE BIODEGRADACIÓN MICROBIOLÓGICA	80
3.1 FACTORES Y REQUISITOS QUE AFECTAN LA APLICACIÓN DE LA BIODEGRADACIÓN	81
3.1.1 Factores que influyen en la implementación de la biodegradación	81
3.1.2 Requisitos para una buena eficacia del tratamiento en suelo y agua	82
3.2 TECNOLOGÍAS DE BIODEGRADACIÓN	85
3.2.1 Formas de aplicación de las tecnologías	87
3.2.1.1 Exsitu	87
3.2.1.2 Insitu	88
3.3 IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS	90
3.3.1 Pruebas de identificación para suelos contaminados	91
3.3.2 Pruebas de identificación para agua contaminada	92
3.4 USO DE PSEUDOMONAS EN TRATAMIENTO DE BIODEGRADACIÓN	92
3.4.1 Rutas de degradación de las Pseudomonas	94
3.5 RELACIÓN ENTRE LAS PSEUDOMONAS Y LAS TECNOLOGÍAS DE BIODEGRADACIÓN	96
3.6 PROCESO DE AISLAMIENTO BACTERIANO EN LABORATORIO	99
3.6.1 Proceso científico de adaptación bacteriana para aguas contaminadas	100
3.6.2 Proceso científico de adaptación bacteriana para suelos contaminados	104
3.6.3 Determinación de la tasa de biodegradación	109
4. CASOS DE ESTUDIO DE BIODEGRADACIÓN EN SUELO Y AGUA	113
4.1 CASO DE ESTUDIO EN AGUA CONTAMINADA: DERRAME DE LA PLATAFORMA DEEPWATER HORIZON (2010)	113
4.2 CASO DE ESTUDIO EN SUELO CONTAMINADO	120
5. CONCLUSIONES	124
6. RECOMENDACIONES	126
BIBLIOGRAFÍA	127

LISTA DE CUADROS

	pág.
Cuadro 1. Etapas de desarrollo de la biotecnología en la humanidad.	26
Cuadro 2. Géneros bacterianos asociados con la degradación de hidrocarburos	33
Cuadro 3. Clasificación de hidrocarburos aromáticos	38
Cuadro 4. Factores y fenómenos importantes para el manejo de derrame de petróleo en agua.	48
Cuadro 5. Efectos biológicos generales de los hidrocarburos en el mar.	51
Cuadro 6. Parámetros que influyen en el esparcimiento de un derrame en suelo	58
Cuadro 7. Respuesta a hidrocarburos de petróleo en varios niveles de organización biológica de organismos marinos	64
Cuadro 8. Transformación a ecosistemas por etapa crítica de operación	72
Cuadro 9. Ventajas y desventajas de la biodegradación.	81
Cuadro 10. Factores que limita la aplicación de la biodegradación.	83
Cuadro 11. Comparación de tipos de aplicación de biodegradación.	89

LISTA DE ECUACIONES

	pág.
Ecuación 1. Reacción química formada por la interacción de parámetros climáticos y microorganismos	81
Ecuación 2. Determinación de la tasa de biodegradación	109
Ecuación 3. Determinación de la relación DQO a DBO	109
Ecuación 4. Determinación de la tasa de biodegradación por relación DBO	110
Ecuación 5. Determinación de la tasa de biodegradación mediante la DTO	110
Ecuación 6. Determinación de la demanda teórica de oxígeno	110
Ecuación 7. Determinación de concentración de contaminantes.	111

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Progreso tecnológico de la biotecnología del petróleo	27
Figura 2. Modelo de formación de biofilms de <i>Pseudomonas</i> .	36
Figura 3. Clasificación de los hidrocarburos alifáticos	37
Figura 4. Series químicas de hidrocarburos del petróleo.	41
Figura 5. Procesos que actúan sobre el petróleo al hacer contacto con el agua	45
Figura 6. Comportamiento de un derrame de hidrocarburos en agua de mar	49
Figura 7. Comportamiento del petróleo según la época del río	52
Figura 8. Barreras de contención de petróleo en ríos.	53
Figura 9. Comportamiento de un derrame de petróleo en un acuífero.	53
Figura 10. Clasificación de acuíferos	54
Figura 11. Comportamiento del petróleo según el tipo de suelo	59
Figura 12. Pelicano cubierto de crudo	61
Figura 13. Delfín intoxicado por petróleo	63
Figura 14. Proceso de recuperación de corales por derrame del Golfo de México	65
Figura 15. Puntos críticos en pozos exploratorios onshore y offshore.	74
Figura 16. Puntos críticos en actividades de perforación offshore y onshore	75
Figura 17. Puntos críticos en mecanismos de producción bombeo mecánico y PCP	76
Figura 18. Métodos de transporte de petróleo más susceptibles a derrames.	77
Figura 19. Esquema de instrumentación general de una facilidad de producción.	79
Figura 20. Esquema de preparación de suelo para celda land farming	85
Figura 21. Diseño general estructural de tratamiento exsitu.	88
Figura 22. Diseño general del tratamiento insitu.	89
Figura 23. Rutas de degradación de n-alcanos	95
Figura 24. Degradación del tolueno por <i>Pseudomona putida</i> (TOL), <i>Pseudommona putida</i> F1, <i>Pseudomona mendocina</i> KR1 y <i>Pseudomona pikettii</i> PKO1.	96
Figura 25. Caracterización bioquímica de <i>Pseudomonas</i> encontradas.	102
Figura 26. Tasa de crecimiento y generación de CO ₂ de las <i>Pseudomonas</i> usando como fuente de energía petróleo parafinico.	103
Figura 27. Tasa de crecimiento de <i>Pseudomonas</i> con implementación de tres fuentes de nitrógeno.	104
Figura 28. Picos generados en resonancia magnética de protones	107
Figura 29. Tasa de biodegradación durante el estudio con y sin aplicación de medio mínimo surfactante	108
Figura 30. Imagen satelital del derrame de Golfo de México	114
Figura 31. Lectura y resultados de la resonancia magnética de microorganismos	116
Figura 32. Identificación de grupos de bacterianos favorables para biodegradación.	116

Figura 33. Estado de suelos por contaminación de hidrocarburos en refinería de Perú.	120
Figura 34. Proceso de preparación de cepas bacterianas para biodegradación del suelo contaminado en refinería de Perú.	121

LISTA DE GRÁFICOS

	pág.
Grafico 1. Porcentaje de efectividad del uso de Pseudomonas en la biodegradación sin técnicas de estimulación	97
Grafico 2. Porcentaje de efectividad del uso de Pseudomonas en la biodegradación con técnica de estimulación.	99

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Composiciones químicas del petróleo crudo, gas natural y asfalto	40
Tabla 2. Clasificación del petróleo crudo por gravedad API	41
Tabla 3. Determinación de volumen y espesor del derrame según su apariencia.	50
Tabla 4. Clasificación de suelos por tamaño de partícula	57
Tabla 5. Concentraciones de metales pesados comúnmente encontrados en derrames de petróleo.	70
Tabla 6. Tasa de derrames de petróleo anuales a nivel mundial en ambientes marinos	73
Tabla 7. Medios de soluciones acuosas para la siembra de los microorganismos	106
Tabla 8. Caracterización del petróleo por análisis SARA	107
Tabla 9. Resultados contenido de los niveles de concentración presentes en el derrame del Golfo de México plataforma Deepwater Horizon	119
Tabla 10. Identificación de las cepas bacterianas aisladas en la refinería.	122
Tabla 11. Niveles de concentración registrado de todos los componentes implícitos en la biodegradación del suelo por Landfarming.	123
Tabla 12. Registro de la disminución de las concentraciones de los contaminantes hasta los límites permisibles en Perú.	123

ABREVIATURAS

API	American Petroleum Institute (Instituto de petróleo americano)
BTEX	Benceno, tolueno, etilbenceno y xileno
Ca	Calcio
CaCl₂	Cloruro de calcio
CO₂	Dióxido de carbono
FeSO₄	Sulfato de hierro
FWS	U.S Fish & Wildlife Service
H₂O	Agua
H₂S	Ácido sulfúrico
K	Potasio
KNO₃	Nitrato de potasio
K₂HPO₄	Fosfato de potasio dibásico
KH₂PO₄	Fosfato de potasio monobásico
LFNA	Absorción de la materia orgánica en forma, amorfa, natural o en líquidos de la fase no acuosa
Mg/L	Miligramos por litro
Mg	Magnesio
MgSO₄	Sulfato de magnesio
MnSO₄	Sulfato de manganeso
NaCl	Cloruro de sodio
NaH₂PO₄	Bifosfato de sodio
Na₂MoO₄	Molibdato de sodio monohidratado

NH₄NO₃	Nitrato de amonio
NH₄CL	Cloruro de amonio
(NH₄)H₂PO₄	Fosfato monoamónico
(NH₄)₂SO₄	Sulfato de amonio
THC	Tetrahidrocannabinol
TPH	Hidrocarburos totales
(ufc/g)	Unidad formadora de colonias por gramo de muestra
ZnSO₄	Sulfato de zinc

GLOSARIO

ABSORCIÓN: características que presentan algunos líquidos y sólidos para lograr retener fluidos.

ACUÍFERO: son características que presentan algunas rocas que permiten la producción almacenamiento de agua subterránea, ya que presentan propiedades óptimas para que se presente este fenómeno como lo es la saturación, porosidad y permeabilidad.

AERÓBICO: representa un ambiente en el cual la vida (por ejemplo las bacterias) se sostiene en la existencia de oxígeno libre.

ALCANO HIDROXILASA: Grupo de bacterias gram negativas, en este caso Pseudomonas, que se encuentra compilados con un plásmido formado por tres diferentes componentes.

ANAERÓBICO: ambiente donde el oxígeno es prácticamente inexistente, es también conocido como ambiente anóxico.

ASFALTO: se forma cuando los componentes más livianos y volátiles del petróleo son removidos por evaporación. También se conoce también como bitumen (estado sólido) que al someterse a un proceso de fusión por calor genera impurezas como: nitrógeno, azufre y oxígeno.

BACTERIA: son microorganismos procariontes que presentan una gran variedad de formas.

BIOFILMS: son ecosistemas o grupos microbianos representados por uno o varios microorganismos (bacterias, hongos, entre otros) compilados y agrupados en una superficie viva o inerte. También es conocido como tapiz microbiano o tapete microbiano, con propiedades complejas.

BIOLUMINISCENTES: son todos aquellos organismos o microorganismos que tienen la propiedad de generar luz propia.

BIOTA: grupo de organismos como plantas, animales y otros, que se encuentran en un área específica de un ecosistema.

BLOWOUT: pérdida del control del pozo, es el flujo incontrolado de la formación y otros fluidos, incluyendo el flujo a una formación expuesta (blowout subterráneo) o en la superficie (blowout de superficie), el flujo a través de un desviador, o el flujo incontrolado que resulta de una falla en un equipo de superficie o de un proceso.

COEFICIENTE DE TRANSFERENCIA DE MASA: determina la tasa a la cual los vapores de hidrocarburos existentes en la superficie de la mancha son transportados por el viento a la atmosfera.

CRUDO: se refiere al petróleo natural, es decir, que no ha sufrido cambios como consecuencia de la extracción y conserva sus propiedades originales en el subsuelo.

DENSIDAD: se define como la masa por unidad de volumen

DENSIDAD RELATIVA: es un valor adimensional, es decir, no tiene unidades, que identifica la densidad de un compuesto y la densidad del agua.

DEGRADACIÓN: es la descomposición de cualquier compuesto o material, generada por el rompimiento de las moléculas de su estructura, por efecto de la luz solar, presencia de oxígeno, calor y la acción de algunos microorganismos.

ELECTRONEGATIVIDAD: cuando un átomo es capaz de atraer electrones al formar un enlace químico.

FUEL OIL: representa una pequeña fracción o parte del petróleo que se recupera del proceso de destilación fraccionada, por lo cual es el derivado más pesado con más de 20 moléculas de carbono.

GAS NATURAL: es un hidrocarburo gaseoso, que tiene la capacidad de comprimirse y expandirse, también es conocido como metano.

GRAVEDAD API: es la abreviatura de American Petroleum Institute, que representa la equivalencia de la densidad de los crudos manejados en la industria petrolera.

HETEROGENEIDAD: alternancia de las propiedades físico- químicas de las rocas dependiendo de la ubicación geográfica del yacimiento o formación.

HIDROFOBICIDAD: asegura la movilidad, estabilidad química y sorción del hidrocarburo.

HIPERPLASIA: crecimiento incontrolable de células que forman parte de un órgano o tejido.

HUMUS: se genera como producto de la descomposición microbiológica de materia orgánica.

METABOLITOS: partículas muy pequeñas que nacen como producto del proceso metabólico.

MICROORGANISMOS: son seres vivos de escala microscópica, que representan algún grupo biológico elemental.

OLEODUCTOS: conexiones de tubos que largas longitudes que se utilizan exclusivamente para transportar y distribuir hidrocarburos a grandes distancias.

OXÍGENO DISUELTO: la cantidad de oxígeno presente (O_2) en ambientes acuosos.

PERMEABILIDAD: Capacidad para permitir el paso de fluidos a través de un sistema de poros interconectados en una roca.

PLÁSMIDOS: moléculas de ADN que representan la estructura de los grupos bacterianos.

POLARIDAD: se refiere a las orientaciones polares (sur y norte) de los campos magnéticos.

POROSIDAD: espacio vacío en una roca que puede ser ocupado por algún fluido y almacenado durante largos períodos de tiempo.

PRESIÓN DE VAPOR: presión producida por un vapor que es liberado de una fase líquida.

PRESIÓN HIDROSTÁTICA: es la presión ejercida por una columna de líquido a cierta profundidad.

QUEROSENO: líquido con propiedades inflamables, transparente poco amarillento, producto de la mezcla de hidrocarburos producto de la destilación del petróleo natural.

REFINACIÓN: Proceso donde intervienen varios equipos que se encargan del tratamiento y separación de moléculas de hidrocarburos extraído para generar derivados útiles para la producción de otros compuestos comerciales como gasolina, diésel o combustibles jet.

SATURACIÓN: es la relación de una fracción de volumen poroso que es ocupado por el fluido presente.

SÓLIDOS DISUELTOS: es la cantidad de compuestos inorgánicos y orgánicos presentes en una mezcla líquida.

TENSIÓN INTERFACIAL: propiedad de la interfaz entre dos fases inmiscibles (líquidas). Se produce porque una molécula cerca de una interfaz tiene interacciones moleculares diferentes de una molécula equivalente dentro del fluido

estándar. Las moléculas surfactantes se sitúan en la interfaz y por lo tanto disminuyen la tensión interfacial.

YACIMIENTO: cuerpo de roca del subsuelo que exhibe un grado suficiente de porosidad y permeabilidad para almacenar y transmitir fluidos. Las rocas sedimentarias son las rocas yacimiento más comunes porque poseen más porosidad que la materia de las rocas ígneas o metamórficas y se forman bajo condiciones de temperatura en las cuales los hidrocarburos pueden ser preservados. Un yacimiento es un componente crítico de un sistema petrolero completo.

ZONA DE CONVERGENCIA: choque de dos corrientes de aire que van en dirección horizontal.

ZONA DE DIVERGENCIA: separación de corriente de aire que van en dirección vertical, que ahora van en direcciones opuestas.

RESUMEN

Esta monografía se realizó con el objetivo de describir ampliamente el proceso de biodegradación de petróleo por medio de *Pseudomonas*, para demostrar que a pesar de que la industria petrolera ha tenido una mala reputación a través de la historia como foco crítico de contaminación ambiental, ha investigado y desarrollado métodos que ayuden en la limpieza de aquellos fluidos que son expuestos al ambiente durante las fases de exploración, explotación, perforación, producción, refinación distribución y consumo degradándolos por medio de procesos biológicos, específicamente, el proceso metabólico que realizan las bacterias al digerir petróleo.

A lo largo de la monografía se mostraron los procesos científicos que se deben llevar a cabo para implementar la adaptación de los microorganismos para que estos puedan ser expuestos al ecosistema afectado, los cuales han dado excelentes resultados, sin embargo es necesario el uso de técnicas de estimulación como lo son la adición de oxígeno disuelto y nutrientes para que las bacterias que se utilizan en el proceso incrementen su tasa de degradación y su tasa de reproducción, ya que la vida y la calidad del proceso de degradación que realizan estos microorganismos puede verse seriamente afectada por los factores físico químicos del ambiente como el pH, que genera mortandad en las bacterias cuando se encuentran en ambientes ácidos.

Para demostrar que los estudios científicos realizados en laboratorio de aislamiento y preparación de las bacterias son efectivos se investigaron dos casos específicos: el primer caso, fue tomado de la información recolectada de los impactos generados en el ambiente marino por el derrame presentado en el pozo Macondo Plataforma DeepWater Horizon en el Golfo de México en Abril del 2010, el cual dio buenos resultados pero debido a su gran extensión afectada ha sido difícil que los microorganismos cubran el 100% de la zona contaminada, por lo cual su limpieza no se ha logrado en su totalidad hasta el día de hoy; el segundo caso, es un derrame generado en una refinería de Perú por filtración en uno de los tanques de almacenamiento de petróleo crudo en el cual las bacterias lograron un limpieza completamente eficiente (60% de efectividad) por su corta extensión afectada.

Palabras clave: Derrame de petróleo, biodegradación, *Pseudomonas*, bacteria, biotecnología.

INTRODUCCIÓN

La evolución de la industria petrolera, día tras día es más criticada por los daños que ocasiona debido a sus malos manejos operacionales y administrativos, por lo que es muy importante la implementación e innovación de tecnologías limpias que favorezcan la sostenibilidad ambiental que busca mantener el ecosistema en condiciones óptimas generando el menor impacto posible. Es primordial, que como ingenieros de petróleos no solo se tenga visión en un compromiso profesional, que es el de extraer combustibles fósiles para el funcionamiento del mundo, sino que también se tenga una visión más crítica, analítica y consiente donde se incremente el porcentaje de investigación en pro del medio ambiente para generar nuevos procesos de alta afinidad con la biodiversidad, sin necesidad de utilizar químicos y sustancias nocivas.

Es por esta razón, se presentó la necesidad de investigar sobre la biotecnología para degradar cadenas estructurales de componentes altamente tóxicos como lo es la presencia de hidrocarburos (petróleo) en un ecosistema, una de tecnologías es conocida como biodegradación, a partir de un proceso que se realiza gracias a la acción de microorganismos que cuentan con la capacidad de soportar cambios químicos y físicos visibles en su hábitat (por ejemplo la presencia de químicos, baja cantidad de oxígeno, modificación del pH, alto contenido de azufre y sulfato) , en este caso las bacterias más destacadas para este proceso son las Pseudomonas. Así pues, es importante conocer como es el proceso de la biodegradación del petróleo mediante el uso de Pseudomonas, agrupando varios estudios y casos donde se ha implementado este proceso de biotecnología respaldando su eficacia. La metodología en la búsqueda de información para el desarrollo de esta monografía, inició con la investigación de varias fuentes de información científica como artículos y libros suministrados por la base de datos de la Universidad América y de la literatura gris, basados en la implementación y construcción la siguiente pregunta problema:

¿Cómo es el proceso de biodegradación para el tratamiento de derrames de petróleo por medio de Pseudomonas?

De la cual se logró plantear el objetivo general que propone describir el proceso de biodegradación para el tratamiento de derrames de petróleo en suelo y agua mediante el uso de Pseudomonas en los últimos 20 años, esto con el fin de mostrar al lector la importancia que ha tenido este proceso biológico a través de los años y la incubación buenas prácticas ambientales a la hora de atacar un derrame de petróleo en agua o en suelo.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Describir el proceso de biodegradación para el tratamiento de derrames de petróleo en suelo y agua mediante el uso de Pseudomonas en los últimos 20 años.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar cuáles son las consecuencias de un derrame de petróleo en suelo y agua.
- Describir el método de biodegradación microbológica mediante el uso Pseudomonas en las diferentes tecnologías implementadas
- Identificar dos casos de estudio en donde se haya aplicado el método de biodegradación por Pseudomonas.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 ANTECEDENTES

Según el informe de las NACIONES UNIDAS¹, se sabe que la aplicación de la biología para realizar cambios radicales en la naturaleza es un método bastante antiguo, por ejemplo, actividades como la fermentación de bebidas y fabricación de quesos, son tan antiguas como la humanidad misma, a raíz de estas actividades, se implementaron técnicas de ensayo y error en el siglo XIX sobre aquellos procesos con presencia de químicos logrando agilizar su fermentación y disminuir tiempos de fabricación, momento en el que se empezaron a desarrollar las vacunas y los medicamentos de origen biológico con ensayos genéticos de laboratorio. En 1953, surgió la idea de modificar la estructura molecular del cuerpo humano, por lo que se empezó a experimentar la modificación del ADN, es a partir de allí, que se dan los primeros avances de biotecnología, como lo fueron los procesos de clonación y la identificación de que gen pertenece a cada rasgo, dando un paso agigantado en el desarrollo de la ciencia a futuro. A mediados de los años setenta, la base de los estudios realizados en el ADN humano dio paso a la generación de nuevos procesos y productos como el uso de plantas nucleares para la generación de energía actualizando modelos científicos y tecnológicos. A comienzo de los años ochenta, se certificaron los primeros medicamentos que fueron la insulina y la eritropoyetina que fueron los más destacados con los avances científicos logrados. Finalizando los años noventa, se inicia la era de los cultivos modificados genéticamente y materias primas como la biomasa en uso industrial.

“Los primeros avances de la biotecnología, en sus etapas pre-competitivas se desarrollaron en las grandes universidades norteamericanas y europeas. La modificación en la Ley de Patentes de EE.UU. (Acta Bayh-Doyle) de 1982 facilitó enormemente los trámites de patentamiento por parte de las Universidades y los institutos públicos, lo cual se constituyó en un impulso para la investigación y el desarrollo en las denominadas nuevas tecnologías”². De acuerdo con lo anterior, se dividió en tres etapas el desarrollo de la biotecnología como se muestra en el cuadro 1.

Barry King³, aseguran que una de las técnicas de biotecnología con más auge a nivel mundial es conocida como biodegradación o biodesintegración de contaminantes, por lo que aclaran que la biodegradación ha sido usada desde el año 600 A.C por arquitectos romanos para el tratamiento de aguas residuales de la población en los sistemas de alcantarillado donde se acumulaban pequeñas

¹ NACIONES UNIDAS. Biotecnología y desarrollo. Informe de las Naciones Unidas. Santiago de Chile: BISANG, Roberto; CAMPI, Mercedes y CESA, Verónica; 2009. LC/W.234

² *Ibíd.*, p. 31

³ BARRY KING. R, M. LONG. Gilbert y K.SHELDIN. John. Practical environmental bioremediation, the field guide. Florida.: Lewis publishers, 1998. 181 p.

lagunas para la regulación del mismo, es allí donde los microorganismos realizaban la degradación de residuos inorgánicos presentes en el agua contaminada, que la denominaron “auto purificación”.

Cuadro 1. Etapas de desarrollo de la biotecnología en la humanidad.

ETAPAS	AÑO	EVENTO
<i>Empírica</i>	900 A.C (Paleolítica)	Domesticación de plantas y animales, dando inicio a la agricultura por sociedades primitivas.
	6000-4000 A.C	Bebidas alcohólicas fermentadas por sumerios, babilonios, asirios y egipcios
	IV D.C	Destilación de bebidas por grano fermentado y productos lácteos (yogurt y queso)
	1200-1521 D.C	Tecuitlatl, alimento a base de alga Spirulina plantesis, cuitlacochein alimento de hongo Ustilago
<i>Transición</i>	1680	Invencción del microscopio
	1857	Se establecen las bases científicas de la biotecnología. Pasteurización del vino con
	1860	Nace la idea de los genes con pruebas de transmisión de caracteres hereditarios
<i>Biotecnología moderna</i>	1869	Aíslan el ADN por primera vez
	1928	Descubrimiento de la penicilina
	1944	Proporciona evidencias de que el DNA, porta la información genética durante la transformación bacteriana
	1950	Estudios del ADN con técnicas de difracción
	1953	Postulación de la estructura de la doble hélice del ADN
	1961	Descifran el código genético y evidencia de la existencia de las enzimas del ADN
	1962 – 1965	Los genes que contienen bacterias resistentes a antibióticos se encuentran en los cromosomas
	1966 – 1967	Descubren el ADN ligasa que une los fragmentos
	1972 - 1973	Desarrollo de las técnicas de clonación
	1975 -1977	Desarrollo de métodos rápidos par secuenciar el ADN

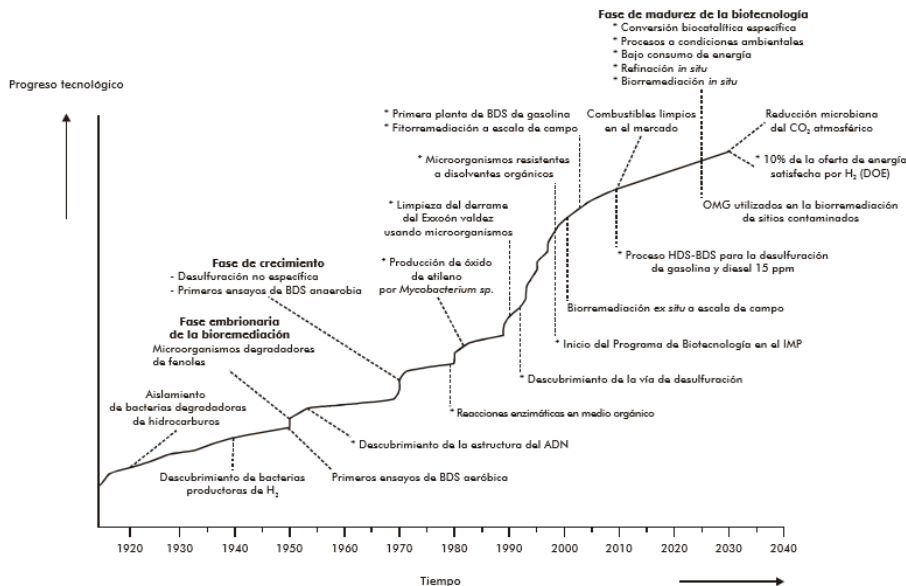
Fuente: Guía biológica II. Historia de la biotecnología y sus aplicaciones. http://portalacademico.cch.unam.mx/materiales/prof/matdidac/sitpro/exp/bio/bio1/GuiaBiol/ANEXO_5Ing.pdf.

Aburto⁴, mencionan que la industria energética inicio su interés en la biotecnología al descubrir que existía gran variedad de microorganismos capaces de utilizar los hidrocarburos como parte importante en su metabolismo; por lo que se buscó la aplicación de estos procesos en la exploración, producción, refinación, petroquímica y medio ambiente basados en situaciones críticas de la industria petrolera como lo son el incremento de la producción de crudo pesado, necesidad de uso de recuperación secundaria y terciaria, margen de ganancias atractivas y el debido cumplimiento de las normas ambientales con el fin de afrontar incidentes no

⁴ ABURTO, Jorge; ROJAS AVELIZAPA, N y QUINTERO RAMÍREZ, Rodolfo. La biotecnología actual y su impacto en la industria de la refinación del petróleo. En: Biotecnología aplicada. 2003. No. 20, p. 57 -65.

previstos. Este tipo de bioprocesos, son de gran utilidad para este tipo de industria que necesita de los recursos naturales para mantenerse, ayudando a disminuir los grandes costos de inversión y procesos. El primer caso conocido de biotecnología en el mejoramiento biológico del petróleo se dio en el año 2000, con la biodesulfuración de gasolina y diésel por el departamento de energía de los Estados Unidos. En la figura 1 se observa el progreso tecnológico de la biotecnología del petróleo.

Figura 1. Progreso tecnológico de la biotecnología del petróleo



Fuente. Instituto Mexicano del petróleo. Biotecnología aplicada. La biotecnología actual y su impacto en la industria de la refinación del petróleo, p. 58.

Vergara⁵, explican que el coeficiente de consumo de petróleo hizo que el transporte marino de crudo se incrementara presentándose los primeros accidentes de derrames de crudo por buques en el lecho marino. Con el caso del hundimiento de Torrey Canyon (1967) se marcó el comienzo de medidas de mitigación de derrames.

Delgado⁶, afirma que en la industria petrolera genera una cantidad considerable de desechos tóxicos que involucran mercurio e hidrocarburos aromáticos volátiles como los son el tolueno, benceno y exileno, que se caracterizan por tener la capacidad de copiar la estructura hormonal y destruir el desarrollo normal de los

⁵ VERGARA, Ignacio y PIZARRO, Francisco. Manual. Control de derrames de petróleo. 1 ed. Santiago, Chile: Naciones Unidas para el medio ambiente (PNUMA), Organización consultiva marítima intergubernamental (IMCO-OCMI) y la comisión permanente del Pacífico Sur (CPPS). Noviembre, 1981. 592 p.

⁶ DELGADO, R, Gian Carlo. Petróleo, medio ambiente, cambio climático y seguridad: Macondo, otra advertencia más. En: Nómadas, revista crítica de ciencias sociales y jurídicas. Febrero, 2011. Vol. 30, p. 4-5

seres vivos. Se calcula que la producción de petróleo en el mundo oscila entre 1.698 y 22.013 barriles de petróleo diarios en producción terrestre y marina. Teniendo en cuenta, que la mayoría de los desechos generados en tierra son en lo posible tratados parcialmente para disposición y que en las operaciones offshore por ser áreas más complejas se derraman casi en su totalidad los desechos al océano. Como consecuencia de estos sucesos, la flora y fauna se ven afectados tanto en tierra como en agua debido a la presencia de estas sustancias tóxicas en el organismo sumándole el riesgo de explosión durante los derrames. Los derrames de gran magnitud o gran escala, con un poco más de 238.095 barriles de crudo y desechos líquidos provenientes de la operación han ocurrido desde la década de los 60 como lo fue el caso anteriormente mencionado (Torrey canyon).

Según R.J.⁷, con la aparición de las actividades en plataformas offshore, las autoridades ambientales incrementaron las medidas para mitigar los impactos en aguas marinas por consecuencia de la perforación, donde la biodegradación se comenzó a estudiar e investigar mediante la implementación de petróleo (lodos base diésel o aceite) para la perforación en los años 70 y se cita un caso en el mar del Norte en 1990, donde el crudo no pudo ser degradado esparciéndose por el lecho marino en un margen de 8.000 Km², debido a que solo se tenía conocimiento de procesos de degradación en condiciones aeróbicas fue difícil contar con planes de contingencia y limpieza en el derrame. A raíz de esta situación, se definió que los hidrocarburos son más estables a condiciones donde la materia orgánica generada por bacterias es mayor a la cantidad de oxígeno.

A continuación, se presenta algunos casos históricos de derrames de petróleo con mayor impacto a nivel mundial:

- Derrame del pozo Macondo en el Golfo de México (2010): Considerado como un mega desastre en la historia de Estados Unidos en operaciones offshore, debido a la extensión de océano cubierto por petróleo y por los múltiples problemas socio- ambientales derivados del mismo.
- Derrame del Prestige en España (2002)
- Derrames asociados a la guerra del Golfo Pérsico en Kuwait (1991).
- Accidente de Exxon Valdez en Alaska (1989).
- El caso de Ixtoc I en México (1979).
- Derrame de Amoco Cadiz en Bretaña, Francia (1978).

⁷ R.J. Oswald, SPE, Hoechst AG y M. Hille. Biodegradation on the seafloor- Science or speculation? En: SPE international symposium on oilfield chemistry (1: 18-21, febrero: Houston, Texas). SPE 37262. Houston: Society of petroleum engineers Inc, 1997. p. 517- 522.

Zobell⁸, comenta que a mitad del siglo XX, se iniciaron las investigaciones cerca de las capacidades que tenían los microorganismos, específicamente las bacterias para degradar contaminante en todo tipo de ambiente, este proceso se denominó para ese entonces “biorremediación”. Según Rodríguez y Sánchez ⁹, las primeras formas de aplicación de estos microorganismos al ambiente era por medio del método “landfarming” usadas principalmente por compañías petroleras; a partir de allí, se incrementó el número de patentes para remediar los derrames por gasolina en los años 70; en los años 80, se implementó el uso de aire y peróxidos en las zonas afectadas por contaminantes con el fin de aumentar la eficiencia del proceso de degradación y para los años 90, la presencia de oxígeno (air sparging) posibilitó la implementación de biorremediación en lugares por debajo del nivel freático mejorando el método landfarming.

Según la información que aporta Almaghrabi¹⁰. En estudios realizados en los años 90 en Arabia Saudita, se visualizó que en un lapso de 100 a 200 años atrás con los casos de contaminación ambiental, es necesario el uso de tecnologías que ayuden a reducir los niveles de contaminación total en zonas del suelo afectado por derrames de petróleo, debido a estos sucesos se pensó en una alternativa que actualmente ha estado en crecimiento continuo de investigación y es la biodegradación de hidrocarburos, donde el protagonismo se le da al uso de microorganismos para generar la dispersión de sustancias tóxicas peligrosas como lo es en este caso el petróleo, por lo cual se ha implementado tecnologías nuevas y limpias para el cultivo de bacterias que son acondicionadas para utilizar el petróleo consumido como medio de energía alimentaria. En este mismo documento mencionan al investigador Livingston, conocido por hablar de las técnicas y tecnologías implementadas en las zonas contaminadas de crudo y hace alusión al uso de bacterias de origen indígena como el mejor método de remediación ya que afecta en menor proporción al ambiente en general, siendo estas degradadoras de las cadenas de hidrocarburos más difíciles composicionalmente hablando durante un periodo de tiempo más corto, con resistencia a condiciones térmicas y altas concentraciones de salinidad. A partir de estas investigaciones se realizó una prueba donde se determinó que al aumentar la temperatura, la tensión interfacial entre el agua y el petróleo disminuía y se hacía más factible la aparición de emulsiones, lo que hace más difícil la separación de la mezcla del agua

⁸ ZOBELL, C.E. Action of microorganisms in hydrocarbons. 1946. Vol. 10. p. 1-4., citado por RODRÍGUEZ GALLEGO, José Luis y SANCHÉZ MARTIN, Jesús. Aspectos tecnológicos y aplicación al vertido del Prestige, Biorremediación. En: Universidad de Oviedo. 2003. p. 17

⁹ RODRÍGUEZ GALLEGO, José Luis y SANCHÉZ MARTIN, Jesús. Aspectos tecnológicos y aplicación al vertido del Prestige, Biorremediación. En: Universidad de Oviedo. 2003. p. 17

¹⁰ I. Almaghrabi, O. Chaalal, M.R. Islam, SPE, UAE University, Al- Ain, United Arab Emirates. Thermophilic Bacteria in UAE Environment Can Enhance Biodegradation and Mitigate Wellbore Problems. En: Abu Dhabi International Petroleum Exhibition (8: 11-14, octubre: Abu Dabhi, U.A.E.) SPE 49545. Abu Dhabi: Society of petroleum engineers, 1998. P. 778-788.

contaminada con el crudo derramado y se procedió a exponer a la bacteria en esta zona durante un periodo de tiempo, observándose el adelgazamiento de la interfaz agua- petróleo por la acción de las bacterias.

Farrington¹¹, explica que los efectos que puede ocasionar un derrame de petróleo dependen única y exclusivamente de sus características químicas y físicas (gravedad API, densidad, volumen, concentración, entre otras), teniendo en cuenta como factor primordial la interacción que este puede tener con los ecosistemas que se encuentran en la zona afectada y las personas, con el fin de poder cuantificar el daño ocasionado. Generalmente, estos derrames crean una cobertura difícil de eliminar en la piel de los mamíferos y las plumas de las aves que hacen parte de la población animal del lugar contaminado, se puede generar un ingesta involuntaria por los mismo animales y por los humanos que conlleva a problemas de intoxicación y efectos adversos en las actividades comerciales como por ejemplo la pesca. Por esta razón, a partir de 1963 Paul Galstoff¹², presentó un documento donde se habla acerca de la contaminación por petróleo incentivando a crear procesos de avance teórico, experimental y de observación por parte de las ciencias marinas con estudios de laboratorio que ayudaran a encontrar técnicas eficientes para poder eliminar las capas de crudo que cubren el suelo y el agua, por medio de los conocidos “dispersantes”.

Se puede entender por biodegradación a la desintegración de componentes orgánicos por medio de microorganismos generando dióxido de carbono y agua o metano como productos finales. Es decir, el principal objetivo de la biorremediación es la degradación de desechos tóxicos para convertirlos en componentes más sencillos y mucho menos dañinos al ambiente. Algunos investigadores de la Universidad de Minnesota describen 322 rutas de biodegradación, de las cuales 103 incluyen al género *Pseudomonas*, en estas se incluyen rutas metabólicas de degradación de solventes sintéticos hidrocarburos aromáticos, herbicidas e insecticidas¹³.

¹¹ FARRINGTON, Jhon W. Oil pollution in the marine environmental II: fates and effects of oil spills. En: Environment magazine. Julio- Agosto, 2014, vol. 56 no. 4, p. 16-32.

¹² P, Galstoff. Oil pollution in Coastal Waters proceedings of the North American wildlife conference. 1936., Citado por FARRINGTON, Jhon W. Oil pollution in the marine environmental II: fates and effects of oil spills. En: Environment magazine. Julio- Agosto, 2014, vol. 56 no. 4, p. 16-32.

¹³ L.B, Ellis; C.D, Hershberg; E.M, Bryan; L.P, Wackett. The university of Minnesota biocatalysis/ biodegradation database: emphasizing enzymes. En: Nucleic acids research. 2001, Vo. 29 no. 1, p. 340- 343., citado por ALANIS GARCÍA, Ernesto y GUERRERO LEGARRETA, Isabel. *Pseudomonas* en biotecnología. En: Biotecnología. Universidad autónoma metropolitana Iztapalapa, México. Vol. 9 no. 1, p. 26

Según Bland¹⁴, la biodegradación microbiológica se define como la destrucción de contaminantes por acción biológica de organismos vivos, procesos realizados en laboratorio donde se cultivan los microorganismos por un periodo de exposición y adaptación a un químico dispersante adecuado y se evalúa la afinidad de absorción del microorganismo al químico. Este método puede ocurrir de dos formas, con presencia de oxígeno se conoce como biodegradación aeróbica o sin presencia de oxígeno conocida como biodegradación anaeróbica. Inicialmente se habló de biodegradabilidad, la cual, fue probada en fluidos químicos para perforación, por lo tanto, fue un requerimiento para llevar a cabo esta etapa de la industria petrolera en Europa y Estados Unidos, especialmente en algunos países del Mar del Norte a comienzos de 1993 debido a los daños que provocaba el petróleo al medio ambiente. Pero adicionalmente Cuthbertson¹⁵, plantea que la biodegradación envuelve la creación de energía bioquímica a través de la respiración metabólica microbiana, que desde décadas atrás se ha demostrado con publicaciones científicas, que las atenuaciones de los hidrocarburos en la superficie es dominada por los procesos de biodegradación anaeróbica.

Delgado¹⁶, expone los casos de derrames más conocidos donde se ha implementado la técnica de biorremediación a través de los años que son: el de Amoco Cadiz en Bretaña, Francia (1978), el caso Ixtoc I en México (1979), el accidente de Exxon Valdez en Alaska (1989), los asociados a la guerra del Golfo Pérsico en Kuwait (1991), el del Prestige en España (2002) y el caso más impactante a nivel mundial que fue el blowout del pozo Macondo en el Golfo de México (2010), algunos de ellos con más efectividad que otros por la composición del crudo derramado.

Adams¹⁷, narran que este proceso de biodegradación, surgió a partir de conocimientos empíricos de trabajadores de refinerías de petróleo, al observar que al depositar los lodos de los separadores y demás residuos contaminados con crudo en la superficie del suelo con la técnica conocida como "land farming" estos residuos desaparecían al pasar de algunos meses por acción natural sin entender que organismos eran los que generaban este fenómeno. Por lo cual, se convirtió en un

¹⁴ R.G. Bland, D.K. Clapper, N.M. Fleming, C.A. Hood, Milpark Drilling Fluids. Biodegradation and drilling fluid chemicals. En: SPE/IADC drilling conference (1: 23-25, Febrero: Amsterdam). SPE/IADC 25754. Amsterdam: IADC members y SPE members, 1993. p. 727- 736.

¹⁵ J.F. Cuthbertson y Celtta consultants. Enhanced anaerobic biodegradation of petroleum hydrocarbons in groundwater. En: The SPE Americas E&P health, safety, security and environmental conference. (1: 21-23, marzo: Houston, Texas, USA). SPE 141014. Houston: Society of petroleum engineers, 2011. p. 1-7.

¹⁶ DELGADO. R, Gian Carlo. OP. Cit., p. 1-16

¹⁷ ADAMS.S, Randy H; DOMÍNGUEZ.R, Verónica I y GARCÍA. H, Leonardo. Potencial de la biorremediación de suelo y agua impactados por petróleo en el trópico mexicano. En: Terra. Marzo-junio, 1999. Vol. 17 no. 2, p. 159-174.

caso científico para todos aquellos profesionales que trabajan allí, donde descubrieron que gracias a algunas bacterias nativas presentes en el suelo contaminado utilizaban estos fluidos como alimento y fuente de energía donde el 50% del carbono existente en el petróleo era utilizado como biomasa bacteriana. Tras algunas investigaciones ya realizadas, determinaron que no todos los hidrocarburos eran fácilmente degradados por estos microorganismos por lo que incrementaron la humedad del suelo en un 50 o 75% para mantener activas la mayoría de las bacterias. Es a partir de estas pequeñas investigaciones, que comienza una era de desarrollo científico sobre esta tecnología con cero contaminación hacia el medio ambiente llevándola a todas las industrias no solo a la petrolera en los años 90.

Escalante Guzmán¹⁸, explica como a través de la década de los 90, se inició la llamada era de la remediación, puesto que año por año y en país por país se realizaron estudios de laboratorio minuciosos mediante aislamientos de diferentes cepas microbiales detectadas como degradadoras de petróleo como: Micrococcus, Pseudomonas, Alcaligenes, Achromobacter, Nocardia, Vibrio, Brevibacterium, Corynebacterium, Candida, Rhodotorula, Sporobolomyces, Acinetobacter y Flavobacterium; evaluadas bajo condiciones cinéticas en tiempo y crecimiento, todas ellas puestas en contacto con suelo y agua contaminado con diferentes concentraciones salinas y condiciones ambientales como temperatura y humedad, garantizando hasta un 60 o 70% de la eliminación de los hidrocarburos con varias pruebas de modo natural.

Igualmente Escalante¹⁹, habla de que en el año 2000, se aisló un grupo de bacterias del mismo suelo contaminado que posteriormente fueron cultivados en contacto con hidrocarburos y cloruro de sodio, se encontró que después de un mes el volumen de hidrocarburos presentes disminuyó a un 22% y en cinco meses se alcanzó la reducción de más del 50% de su volumen inicial, por lo que se concluyó que a este fenómeno se le deben sumar los factores existentes en la zona a tratar como por ejemplo, la salinidad, que ayuda a la estimulación, crecimiento y eficacia de los microorganismos al llevar a cabo la degradación de los compuestos hidrocarburos en suelo y agua, ya que se ha demostrado científicamente a través de los años que mientras las bacterias estén en contacto con ambientes con altas concentraciones tiende a aumentar la velocidad de degradación de petróleo.

¹⁸ ESCALANTE GUZMÁN. Biodegradación de crudo de petróleo en terrarios. Trabajo de grado magister en biotecnología. Lima, Perú.: Universidad nacional mayor de San Marcos. Facultad de farmacia y bioquímica, 2002. 58 p.

¹⁹ *Ibíd.*, p. 11

Para Mason²⁰, es de vital importancia, conocer que tipos de encimas bacterianas tiene la capacidad de degradar contaminante así como identificar los grupos que crecen en zonas conminadas con distintos hidrocarburos como se muestra en el cuadro 2.

Cuadro 2. Géneros bacterianos asociados con la degradación de hidrocarburos

Class	Genera	Reference
Gram-negative bacteria		
Gammaproteobacteria	<i>Pseudomonas</i>	Lovely, 2003
	<i>Stenotrophomonas</i>	Juhasz <i>et al.</i> , 2000
	<i>Acinetobacter</i>	Ratajczak <i>et al.</i> , 1998
	<i>Alcanivorax</i> ^b	Yakimov <i>et al.</i> , 1998
	<i>Alkanindiges</i> ^c	Borgan <i>et al.</i> , 2003
	<i>Oleiphilus</i> ^b	Golyshin <i>et al.</i> , 2002
	<i>Oleispira</i> ^b	Yakimov <i>et al.</i> , 2003
	<i>Cycloclasticus</i> ^b	Niepseron <i>et al.</i> , 2009
	<i>Marinobacter</i>	Deppe <i>et al.</i> , 2005
	<i>Neptunomonas</i>	Hedlund <i>et al.</i> , 1999
	<i>Thalassolituus</i> ^b	Yakimov <i>et al.</i> , 2004
Betaproteobacteria	<i>Burkholderia</i>	Marin <i>et al.</i> , 2001
	<i>Comamonas</i>	Goyal & Zylstra, 1997
Alphaproteobacteria	<i>Sphingomonas</i>	Pinyakong <i>et al.</i> , 2003
	<i>Oceanicaulis</i>	Yakimov <i>et al.</i> , 2007
Bacteroidetes	<i>Yeosuana</i> ^d	Kwon <i>et al.</i> , 2006
Gram-positive bacteria		
Firmicutes	<i>Bacillus</i>	Cunha <i>et al.</i> , 2006
	<i>Paenibacillus</i>	Daane <i>et al.</i> , 2002
	<i>Geobacillus</i>	Tourova <i>et al.</i> , 2008
	<i>Planomicrobium</i> ^d	Engelhardt <i>et al.</i> , 2001
Actinobacteria	<i>Rhodococcus</i>	Whyte <i>et al.</i> , 2002
	<i>Mycobacterium</i>	Cerniglia, 2003
	<i>Microbacterium</i>	Alvares <i>et al.</i> , 2008
	<i>Nocardia</i>	Alvares <i>et al.</i> , 2008
	<i>Gordonia</i>	Alvares <i>et al.</i> , 2008
	<i>Dietzia</i>	von der Weid <i>et al.</i> , 2007
	<i>Thermoleophilum</i> ^c	Yakimov <i>et al.</i> , 2003

Fuente: JURELEVICIUS, Diogo y SELDIN, Lucy. Bacteria and their genes coding for enzymes involves in bioremediation of petroleum hydrocarbons. En: Bioremediation: biotechnology, engineering and environmental management. New York: MASON, Alexander C, 2012. p. 135.

“La versatilidad catabólica y la plasticidad genética observada dentro del grupo bacteriano desempeñan papales esenciales en el ciclo del carbono. Sin embargo, para la degradación de materia orgánica, los microorganismos dependen de las

²⁰ JURELEVICIUS, Diogo y SELDIN, Lucy. Bacteria and their genes coding for enzymes involves in bioremediation of petroleum hydrocarbons. En: Bioremediation: biotechnology, engineering and environmental management. New York: MASON, Alexander C, 2012. p. 134-135.

oxigenasas que catalizan la incorporación selectiva de átomos de oxígeno en muchos sustratos orgánicos, lo que desencadena el comienzo de sus vías de degradación”²¹.

Recientemente, tres cultivos y aislamientos en laboratorio fueron estudios comprobados con muestras de zonas afectadas por hidrocarburos, estos estudios dieron pie a la constante mejora y actualización y fueron presentados en 1998, 2002 y 2005.

- Biodegradación oxigénica de BTX en matrices acuosas (ICP): fue propuesta en 1998 por Mora²², donde los hidrocarburos volátiles clasificados dentro de los altamente tóxicos como el benceno, etilbenceno e isómeros del exileno (BTX) por ser cancerígenos y mutagénicos, los cuales se estudiaron mediante muestras de agua contaminada con estos compuesto, los cuales se movilizan con gran facilidad en medios acuosos, especialmente el benceno generando altos impactos ambientales. El proceso de eliminación de estos componentes se conoce como air stripping o vesting que consiste en la oxidación por hidrogeno, lo que lo hace un método económico y fácil de operar. Este procedimiento se llevó a cabo en el instituto colombiano del petróleo mediante el aislamiento y selección de microorganismos en contacto con muestras contaminadas durante un periodo de tiempo, estos microorganismo fueron Pseudomonas Cepaceas y Pseudomonas putidas; adicionalmente, se usó un reactor de biodegradación(birreactor) que contiene en su interior oxígeno disuelto con el fin de determinar la forma en que operan las poblaciones bacterianas sobre lo hidrocarburos empelando este oxigeno sin contaminación de CO₂ y optimizando la fuente nutricional de las bacterias del cultivo aumentando la concentración de nutrientes.
- Rizósferas de pastos alemanes (Tabasco, México): Rivera Cruz²³, propuso en el 2002, cultivar rizósferas (Echinochloa polystachya) y cabezón (Paspalum virgatum) en el campo petrolero La Venta y del Complejo Procesador de Gas La Venta, en el oeste de Tabasco, esta evaluación se realizó en laboratorio para analizar el comportamiento de los hongo y bacterias expuesto al 1% de petróleo, los microorganismos que presentaron un comportamiento positivo en cuanto a la degradación del petróleo fueron tres cepas de bacterias gramnegativas y los hongos Aspergillus sp., Paecilomyces sp., Penicillium sp y Trichoderma spp. En este procedimiento se utilizó calor y posteriormente se realizó un conteo celular

²¹ *Ibíd.*, p. 135 -136

²² MORA, A., et al. Biodegradación oxigénica de BTX en matrices acuosas: evaluación de parámetros operacionales. *En*: CT&F – Ciencia, Tecnología y Futuro. Diciembre, 1998. Vol. 1, no. 4, p. 75- 84.

²³RIVERA CRUZ, María del Carmen, et al. Adaptación y selección de microorganismos autóctonos en medios de cultivos enriquecidos con petróleo crudo. *En*: Terra latinoamericana. Octubre - diciembre, 2002. Vol. 20, No. 4. P. 423 – 434.

de los organismos que quedaron vivos que significa que son viables para sembrar en superficie. Al sembrar las bacterias en suelo sólido se observó si se daba el crecimiento de 34 bacterias sometidas a este ambiente y se sembraron en suelo líquido aquellas que sobrevivieron el suelo sólido que fueron 5; un tratamiento similar se dio para los hongos, se sembró en suelo sólido para evaluar la pureza de los mismo y los sobrevivientes se indujeron a un análisis rotativo (simulando n ambiente turbulento) durante un periodo de 18 días aproximadamente, teniendo en cuenta que lo ambientes tanto líquidos como sólidos fueron contaminados anteriormente con petróleo.

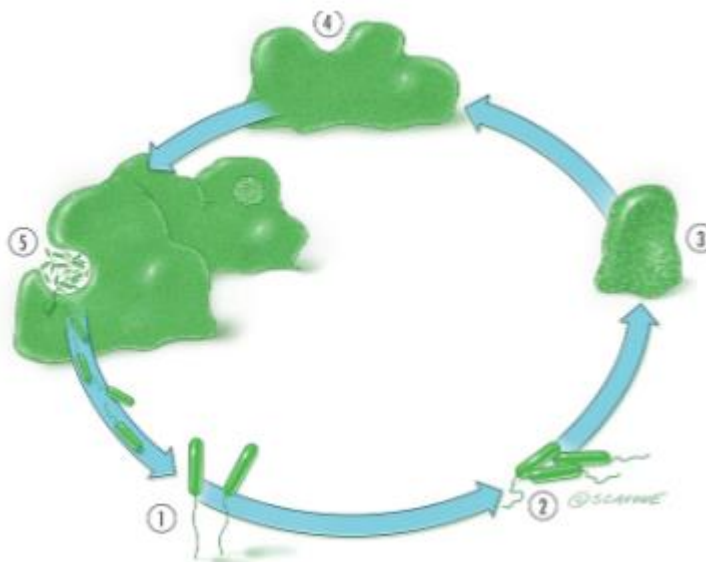
- Sistemas bentónicos estratificados (Universidad Autónoma de Barcelona): Los sistemas microscópicos más presentados en ambientes marino según Martínez y N. Gaju²⁴, son los tapetes microbianos, que forman pocos de milímetros de espesor en la superficie del agua que suelen estratificarse en el fondo del mar dependiendo de las características ambientales de la zona (luz, oxígeno y ácido sulfhídrico), estos tapetes a escalas mayores se pueden ver como láminas de diferentes colores, lo cual depende del tipo de microorganismo agrupado. Esta metodología de los tapetes microbiano se comenzó a implementar desde 1991, durante la guerra del Golfo, pero fue modificada en el año 2005 para un mayor efectividad y acción rápida microbianos diseñando sistemas tipo microcosmos que simulaban estos ambientes que ayudan a la reproducción de las bacterias, y de esta manera poder comprobar la eficiencia de la biodegradación en ambientes reales mediante conteo por microscopia de fluorescencia.

Según DAE- Gon Ha²⁵, las Pseudomonas son uno de los microorganismos con más eficiencia en la degradación de contaminantes pesados por lo cual, su uso ha sido de gran importancia a nivel ambiental para todas las industrias. Estas, hacen parte del grupo de bacterias Gram – negativo que ha tenido gran acogida por su complejo organismo y sus amplias aplicaciones; las Pseudomonas se pueden encontrar generalmente aisladas en el ambiente formando biofilms como se ve en la figura 2, capaces de colonizar las plantas y convertirse en huéspedes malignos en animales y seres humanos. A pesar de creer que científicamente las bacterias eran organismos unicelulares simples, a través de todas las investigaciones que se han desarrollado por años han demostrado que tienen una amplia funcionalidad comportándose como organismos multicelulares complejos.

²⁴ MARTINEZ, Alonso y N. Gaju. El papel de los tapetes microbianos en la biorrecuperación de zonas litorales sometidas a la contaminación por vertidos de petróleo. En: Ecosistemas. Mayo, 2005. Vol. 14, No. 2. p. 79- 91.

²⁵ DAE- GON HA y O'TOOLE. c-di-GMP and its effects on biofilm formation and dispersion: a Pseudomonas Aeruginosa Review. En: Microbial bifilms. 2 ed. Washington D.C: GHANNOUM, Mahmoud; PARSEK, Matthew; WHITELEY, Marvin y MUKHERJEE, Pranab K, 2015.p. 301.

Figura 2. Modelo de formación de biofilms de Pseudomonas.



Fuente: MAHMOUD, Ghannoum, *et.al.* Microbial biofilms. 2 edición. 2015. p. 303

De acuerdo con Adams²⁶, las experiencias con el uso de bacterias para la degradación del petróleo son bastante rentables, ya que, a través de los estudios realizados en varias universidades de Estados Unidos, se determinó que no es necesario el uso de bacterias comerciales debido a que todos los suelos y el agua contiene de forma natural bacterias degradadoras de contaminantes, por esta razón, se han disminuido los costos para la implementación de este método al no necesitarse exportar o importar bacterias de otros campos petrolíferos que presentaban características muy diferentes a la zona que se quería recuperar. Sin embargo, estas bacterias nativas necesitan de una estimulación adicional para acelerar el proceso y proliferación de las mismas, especialmente en suelos de baja fertilidad y con bajo porcentaje de materia orgánica como en los desiertos. En este punto, es importante aclarar que no todas las bacterias presentes en el suelo y agua degradan todos los tipos de hidrocarburos, cada especie se encarga de degradar cadenas y composiciones diferentes, por lo cual, es importante conocer las características del crudo que se va a tratar para tener un gasto rentable al implementar biotecnologías. De cualquier forma, siempre se obtiene un costo-beneficio con este proceso tanto para la empresa como para el medio ambiente, dado que, en comparación a otros métodos de remediación o degradación representa solo el 30 o 40% de los tratamientos químicos.

²⁶ADAMS.S; DOMÍNGUEZ.R y GARCÍA. H. Op. Cit., p. 159-174.

2. IDENTIFICACIÓN DE LAS CONSECUENCIAS DE UN DERRAME DE PETROLEO EN AGUA Y SUELO

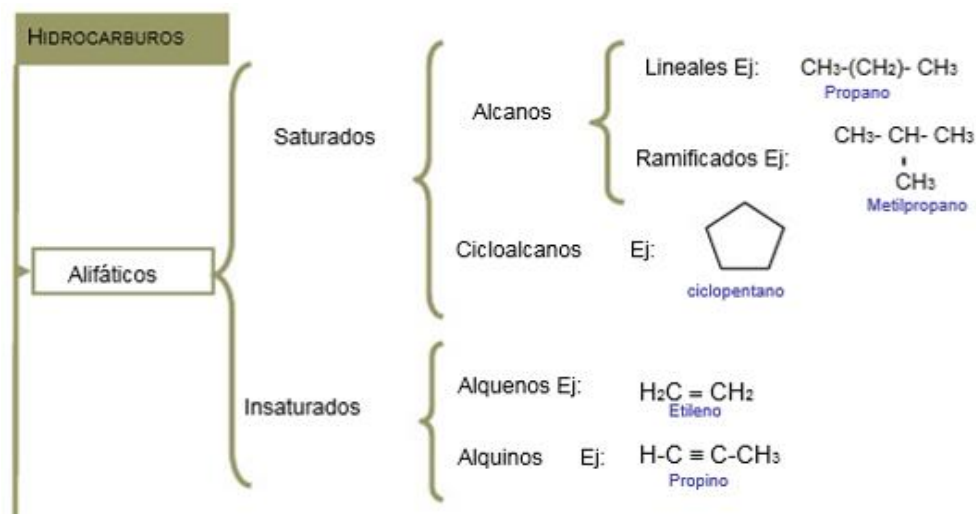
2.1 HIDROCARBUROS

Según Castro²⁷, son compuestos orgánicos definidos por cadenas de átomos de hidrogeno y carbono, aunque en la mayoría de veces se encuentra contaminantes en menor proporción como lo son oxígeno, nitrógeno o, azufre, cloro, bromo, yodo, flúor, fosforo, entre otros. Su apariencia física luego de la extracción del subsuelo suele ser en forma de gas o liquido dependiendo de las características físico-químicas que esté presente. Su clasificación varía según su composición orgánica y según su naturaleza como se muestra a continuación:

2.1.1 Clasificación según su composición orgánica

2.1.1.1 Hidrocarburos alifáticos Su composición se basa en cadenas abiertas orgánicas de hidrógenos y carbonos, que igualmente se dividen de la siguiente manera (Figura 3).

Figura 3. Clasificación de los hidrocarburos alifáticos



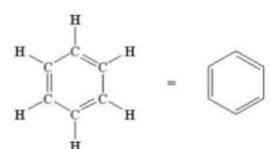
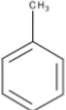
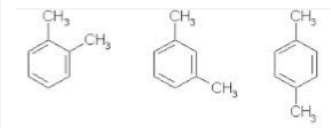
Fuente. CASTRO, Daniela. Biorremediación de agua contaminada por diésel y petróleo empleando un micro bioma y sustancias húmicas. Trabajo de grado para obtener el título de ingeniero químico industrial. México, México D.F.: Instituto politécnico nacional. Escuela superior de ingeniería química e industriales extractivas. 2015, p. 31.

²⁷ CASTRO, Daniela. Biorremediación de agua contaminada por diésel y petróleo empleando un micro bioma y sustancias húmicas. Trabajo de grado para obtener el título de ingeniero químico industrial. México, México D.F.: Instituto politécnico nacional. escuela superior de ingeniería química e industriales extractivas. 2015. 113 p.

Donde, para Castro²⁸, los alcanos cuentan con valencias de carbón que están saturadas con átomos de hidrógeno y raras ocasiones con otros elementos; los etílicos o alquenos, cuenta con dos valencias de átomos de carbono generando la formación de un doble enlace, y al tener dos átomos menos de hidrógeno para saturar las valencias de carbón, se convierten en hidrocarburos no saturados.

2.1.1.2 Hidrocarburos aromáticos Con respecto a Castro²⁹, son cadenas cerradas, donde generalmente su estructura está compuesta por seis o más átomos de carbono en forma hexagonal y poseen tres dobles enlaces más conocidos como anillos bencénicos. Este grupo, es utilizado como materia prima para la fabricación de gran variedad de productos químicos por su capacidad reactiva, versátil y toxicidad por su baja solubilidad en agua. Habitualmente, este grupo es conocido científicamente como BTEX, ya que son conformados por tres compuestos importantes que son el benceno, tolueno y los xilenos, los cuales se definen en el cuadro 3.

Cuadro 3. Clasificación de hidrocarburos aromáticos

COMPUESTO	CARACTERÍSTICAS
<p data-bbox="415 951 553 1010">BENCENO C₆H₆</p> 	<ul data-bbox="675 926 1459 1108" style="list-style-type: none"> • Es el más simple de los hidrocarburos aromáticos, consta de seis átomos de carbón formando un hexágono. • Es un líquido amarillento, no polar, olor aromático, muy tóxico e inflamable. • Usado como solvente en fabricación de pinturas, barnices, caucho tintas, productos químicos y gasolina comercial
<p data-bbox="358 1203 610 1289">TOLUENO (METILBENCENO O FENILMETANO)</p> 	<ul data-bbox="675 1203 1459 1325" style="list-style-type: none"> • Líquido incoloro, tóxico, olor semejante al benceno, insoluble en agua y soluble en alcohol e inflamable. • Uso para fabricación de explosivos, colorantes, preservativos, entre otros.
<p data-bbox="431 1423 532 1482">XILENO C₈H₁₀</p> 	<ul data-bbox="675 1423 1459 1545" style="list-style-type: none"> • Líquidos claros, insolubles en agua y solubles en alcohol y éter. • Se usan como solventes, en vitaminas, colorantes, insecticidas y en algunos combustibles.

²⁸ Ibid, p. 28.

²⁹ Ibid, p. 28

2.1.2 Clasificación según su naturaleza Este tipo de hidrocarburos depende de los procesos físicos y químicos que puedan alterar o modificar su naturaleza (características iniciales en las que se encontraban en yacimiento), por lo tanto, cuando se genera un derrame es importante saber si son hidrocarburos a los que ya se les han realizado algún tipo de tratamiento (accidentes de buques, refinerías o estaciones de carga) o simplemente son hidrocarburos que emanan directamente del yacimiento (crudo).

2.1.2.1 Hidrocarburos biogénicos Para Castro³⁰, estos, son hidrocarburos simplificados o esquematizados por animales, plantas y microorganismos ya sean terrestres o marinos, es decir, su comportamiento se basa en procesos metabólicos (biológicos), lo cual genera mezclas de varios compuesto con baja complejidad estructural en relación con su función biológica.

2.1.2.2 Hidrocarburos antropogénicos Son todos aquellos que son modificados como consecuencia de la actividad humana, principalmente, por procesos que generan alta contaminación industrial utilizados en el manejo de carbón, combustibles, refinación de petróleo, derrames y tratamiento de aguas residuales³¹.

2.2 PETRÓLEO

Según Paris de Ferrer³², el término “petróleo” incluye dentro de su definición al petróleo crudo como el gas natural, puesto que estas son las dos fases o formas que se obtienen de un yacimiento, ya que por lo general se encuentran mezclados por las condiciones presentes de presión y temperatura antes de irrumpir el subsuelo. El petróleo, es una mezcla de hidrocarburos con presencia de otros componentes que son el resultado de la descomposición natural de la materia orgánica de origen animal o vegetal. Este, es un líquido aceitoso que varía de un amarillo muy claro a negro, su estructura puede ser en forma de hidrocarburos saturados o insaturados. En cuanto su formación, al estar en condiciones de presiones muy altas, estos hidrocarburos están presentes en forma de petróleo crudo líquido y al llevarlos a superficie puede presentarse en estado gaseoso (gas natural), líquido (petróleo), semilíquido y sólido (asfalto grueso y pesado) debido a la modificación de las condiciones en que se encontraba naturalmente y con presencia de contaminante o impurezas que pueden dificultar el refinado o tratamiento del petróleo (formadas por átomos de sulfuro, nitrógeno y oxígeno).

³⁰ Ibíd, p.27- 28

³¹ Ibíd, p. 28

³² PARIS DE FERRER, Magdalena. Fundamentos de ingeniería de yacimientos. Maracaibo, Venezuela.: 2009. 588 p. ISBN 978-980-12-3048-9.

2.2.1 Composición y propiedades del petróleo “Químicamente el petróleo está compuesto en su mayor parte por hidrocarburos, aproximadamente de un 82 – 87% en peso de carbono y 11,7 – 14, 7% de hidrogeno”³³.

En la tabla 1, se muestra la composición de los estados naturales en los que se encuentra el crudo con las posibles impurezas que pueden presentar.

Tabla 1. Composiciones químicas del petróleo crudo, gas natural y asfalto

Elementos	Petróleo crudo (% en peso)	Gas natural (% en peso)	Asfalto (% en peso)
Carbono	82,2 – 87,1	65- 80	80- 85
Hidrógeno	11,7- 14,7	1- 25	8,5- 11
Sulfuro	0,1- 5,5	Trazas- 0,2	2- 8
Nitrógeno	0,1- 1,5	1- 15	0-2
Oxígeno	0,1- 4,5	-	-

Fuente. PARIS DE FERRER, Magdalena. Fundamentos de ingeniería de yacimientos. Maracaibo, Venezuela.: 2009, p, 8.

El petróleo también puede contener algunos compuestos orgánicos e inorgánicos que varían según el tipo de crudo. Entre lo inorgánicos se encuentran las sales y el agua, debido a que en los yacimientos de petróleo siempre existe agua. Entre las sales, las más comunes son las de sodio, magnesio y cloruro de calcio, pero también pueden encontrarse sales de vanadio, cobre, zinc y hierro. De estas, las más indeseable es el cloruro de magnesio, porque produce ácido clorhídrico, el cual es muy corrosivo. Algunos crudos también contienen compuestos orgánicos metálicos, como vanadio y níquel³⁴.

El petróleo, cuenta con cuatro importantes agrupaciones químicas de hidrocarburos como se observa en la figura 4.

2.2.2 Clasificación del petróleo Para Paris de Ferrer³⁵, estos, se pueden clasificar según el enriquecimiento de los hidrocarburos y del volumen obtenido luego de los procesos de refinación, para así clasificarlos como: base naftica, base parafinica y base intermedio o mixta.

³³ *Ibíd.*, p. 8

³⁴ *Ibíd.*, p. 9

³⁵ *Ibíd.*, p. 9- 10

Esta clasificación, se puede tomar con base a la gravedad API que presente el crudo como se muestra en la tabla 2.

Figura 4. Series químicas de hidrocarburos del petróleo.

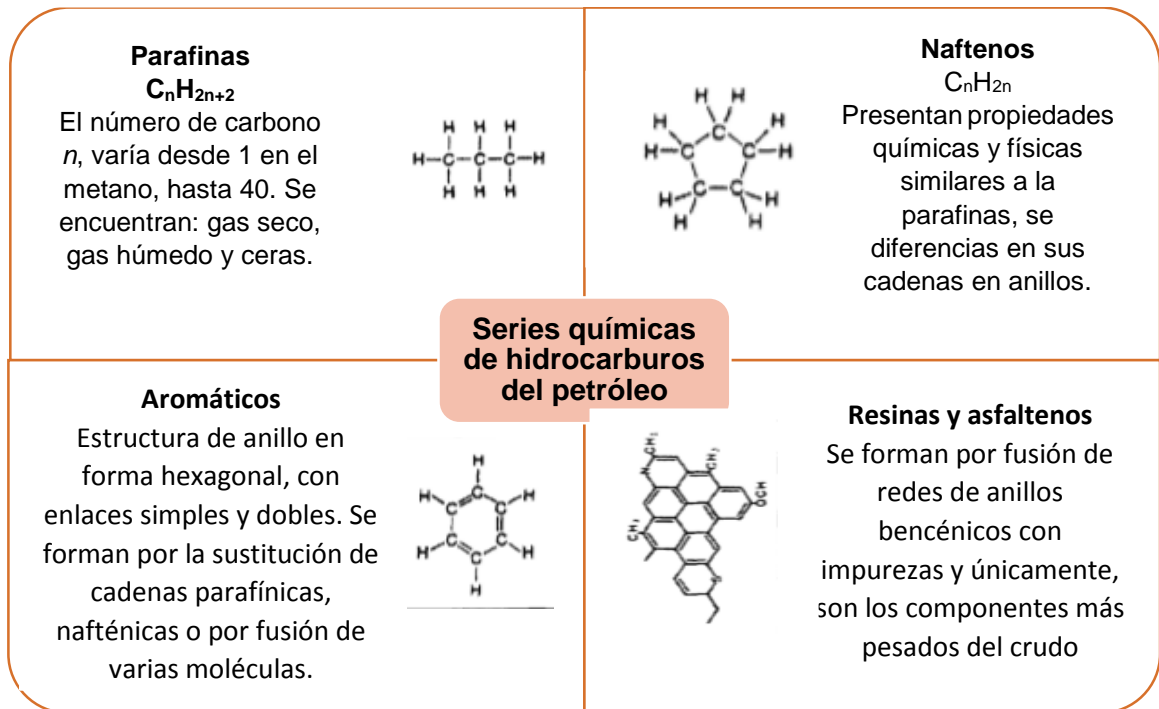


Tabla 2. Clasificación del petróleo crudo por gravedad API

Tipo de crudo	° API
Extra pesados	Hasta 9,9
Pesados	10 – 21,9
Medianos	22- 29,9
Livianos	Más de 30,0

Fuente. PARIS DE FERRER, Magdalena. Fundamentos de ingeniería de yacimientos. Maracaibo, Venezuela.: 2009, p, 11.

2.3 DERRAMES DE PETRÓLEO

La producción energética por medio de recursos no renovables, como es el caso del petróleo, ha ido en incremento año tras año, a pesar de ser un industria con altos y bajos, varios países son dependientes de los ingresos que puede generar la

explotación de hidrocarburos y gas, por lo que se puede concluir que todavía quedarán años para poder reemplazar el petróleo.

“Por otro lado, alrededor del 0,1 al 0,2% de la producción mundial de petróleo acaba vertido en el mar. El porcentaje puede parecer no muy grande pero son casi 3 millones de toneladas las que acaban contaminando las aguas cada año, provocando daños en el ecosistema marino”³⁶.

Para Clifton³⁷, es importante entender, que todos los ecosistemas donde se realizan las actividades de extracción, procesamiento y transporte tienen altas probabilidades de sufrir impactos directos o indirectos como consecuencia de estas, debido a que estas zonas generalmente son ricas en biodiversidad. Teniendo en cuenta, que las zonas costeras son las más afectadas por la extracción de este recurso perjudicando directamente el agua o el suelo e indirectamente a los animales presentes, generando mortandad masiva por intoxicación dejando un impacto enorme en el ecosistemas, puesto que, la recuperación puede llevar meses o hasta años del cual no se obtendrá el 100% de eficacia. Estos derrames, se pueden presentar de forma accidental e involuntaria por parte de la compañía encargada, ya que se habla de una de las actividades que más riesgo representa a nivel industrial tanto para el ambiente como para los humanos. Por ello, es primordial contar con planes de contingencia para no mitigar si no prevenir el desastre antes de que se presente, generando métodos cada vez más modernos pero que sean compatibles con el medio ambiente y así no generar más daños de los ya causados.

Ney³⁸, identifica la existencia de algunas propiedades de los hidrocarburos que son determinantes a la hora de tratar un derrame en el ambiente, independientemente si este es causado en agua o en suelo, las cuales son:

1. Densidad
2. Presión de vapor
3. Coeficiente de partición de suelo
4. Polaridad

³⁶ ECHERRI, L. Población, ecología y ambiente. Navarra: Universidad de Navarra. 2008. Citado por: CASTRO, Daniela. Biorremediación de agua contaminada por diésel y petróleo empleando un micro bioma y sustancias húmicas. Trabajo de grado para obtener el título de ingeniero químico industrial. México, México D.F.: Instituto politécnico nacional: Escuela superior de ingeniería química e industriales extractivas. 2015. 113 p.

³⁷ CLIFTON, Adam. Oil spills: environment issues, prevention and ecological impacts. Hauppauge, New Yor.: 2014. 226 p. ISBN 978- 63321- 548- 1 (eBook).

³⁸ NEY, R. Fate and transport of organic chemicals in the environment. 1990, Estados Unidos. Citado por LOYA DEL ANGEL, Daniela Itzel. Tecnologías para la restauración de suelos contaminados por hidrocarburos. Trabajo de grado especialista en gestión e impacto ambiental. México, Veracruz.: Universidad Veracruzana. Facultad de ciencias biológicas y agropecuarias. 2013. p. 8

5. Electronegatividad
6. Hidrofobicidad
7. Solubilidad en el agua

Teniendo en cuenta estas características, se definen los efectos tóxicos que el derrame puede tener en el ambiente (ya sea en agua o en suelo), como la cantidad y composición del petróleo, la frecuencia y tiempo de exposición, el estado físico del derrame, las características del sitio donde sucedió el derrame, las variables ambientales (temperatura, oxígeno y humedad), el uso de dispersantes químicos y la sensibilidad de la biota específica del ecosistema afectado.

2.4 AGUA

El recurso hídrico es uno de los que más facilidad de solubilidad tiene, por ello se le conoce como el solvente universal, lo que hace que al presentarse cualquier tipo de derrames líquidos sea mucho más fácil que se formen emulsiones y genere gran complejidad a la hora de tratarlo.

Según Velásquez³⁹, uno de los efectos más relevantes de un derrame en agua, es el aumento de la demanda bioquímica del agua provocando condiciones anóxicas, es decir, disminuyen la cantidad de oxígeno disuelto ocasionando mortandad masiva en los seres vivos presentes.

Farrington⁴⁰, dice que la cuantificación de los derrames de petróleo en agua, se comenzó a analizar a partir de los años 70, donde se identificaron los procesos que actúan sobre el petróleo al hacer contacto con el agua (Figura 5). Estos procesos son fisicoquímicos, que se presentan desde pequeña escala (turbulencias) a gran escala (mareas, vientos y corrientes) como se explica a continuación:

- Se genera dispersión horizontal, por efecto de inercia del petróleo presente en el agua al actuar sobre la viscosidad y tensión superficial formada entre el hidrocarburo y el agua. Esta dispersión es manejada por la turbulencia generada en la superficie del océano o de los ríos.
- Se forma un fenómeno conocido como la circulación Langmuir, este proceso es muy común encontrarlo en aguas marinas por efecto del viento sobre las capa superficial del mar formando zonas de convergencia y divergencia en la superficie, provocando flotación de material orgánico que se visualizan como manchas y cuando se presenta un derrame de petróleo estas manchas formas

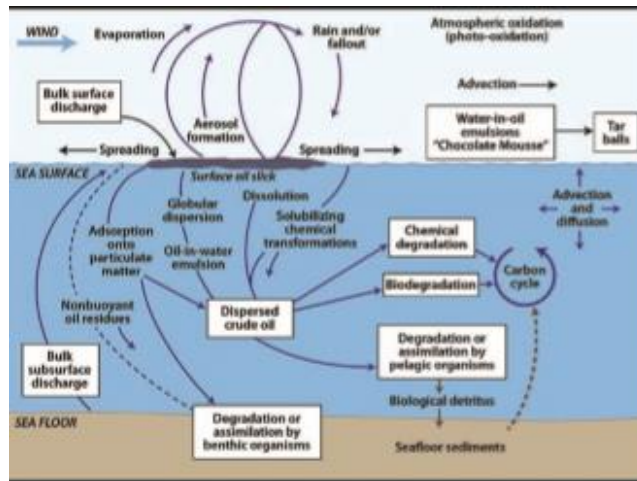
³⁹ VELÁSQUEZ AGRARIA, Johana Andrea. Contaminación de suelos y cuerpos de agua por hidrocarburos en Colombia, fitorremediación como estrategia biotecnología de recuperación. Trabajo de grado para especialización en biotecnología agraria. Yopal, Casanare.: Universidad nacional abierta y a distancia, 2016. p. 15.

⁴⁰ FARRINGTON. Op. it., p. 17- 20

capas más gruesas y largas con intercalaciones de petróleo con material orgánico.

- Se genera evaporación de los aceites más livianos, la velocidad de evaporación depende del ecosistema, por ejemplo, en zonas tropicales es más rápida y extensa que en zonas polares (frías) donde es mucho más lento el proceso.
- La disolución del petróleo en agua, se presenta en gran proporción y complejidad cuando con compuesto livianos como la gasolina y el queroseno.
- Las reacciones fotoquímicas se forman por la fotooxidación que involucra la luz solar, el oxígeno y sustancias químicas, teniendo en cuenta que no todos los tipos de petróleo reaccionan de la misma forma. Este proceso puede generar un aumento en los niveles de toxicidad.
- La emulsificación, es el proceso más común cuando se presenta un derrame de petróleo en agua por efecto de la turbulencia del agua de mar o de río generando una mezcla del petróleo en agua, la complejidad de este proceso aumenta según el tipo de emulsión que se forme (agua en petróleo o petróleo en agua).
- El efecto stranding, se identifica por las mareas negras que llegan a las playas costeras o de los bordes de los ríos, en este punto se presenta contaminación tanto del medio acuático como del terrestre por arrastre del agua. Como consecuencia de este efecto, las rocas cubiertas con petróleo son lavadas por las mareas constantes que arrastran los componentes más solubles y la luz solar se encargara de evaporar los componentes volátiles.
- Cuando el petróleo alcanza a afectar zonas como humedales o manglares, es preocupante ya que, en este punto no hay procesos naturales (biodegradación) que ayuden a la descontaminación como ocurre en las playas, por lo que pueden durar años en poder degradar el petróleo presente.

Figura 5. Procesos que actúan sobre el petróleo al hacer contacto con el agua



Fuente. FARRINGTON, Jhon W. Oil pollution in the marine environment II: fates and effects of oil spills. En: Environment magazine. Julio- Agosto, 2014, vol. 56 no. 4, p. 17

2.4.1 Agua de mar

2.4.1.1 Tipos de aguas marinas Para Seoáñez⁴¹, hay diferentes tipos de agua en el océano con características únicas e independientes afectadas por el viento, diferencia de densidades, temperatura, atracción solar y lunar, rotación terrestre, entre otras que ayudan a determinar los diferentes tipos de agua en el mar, como se muestra a continuación colocando como ejemplo el océano atlántico:

- **Aguas superficiales:** se ubica desde la superficie hasta los 200 metros de profundidad, en este punto es donde se producen cambios bruscos de temperatura y salinidad, que son completamente dependientes de la latitud y la estación del año.
- **Aguas superiores:** Ubicadas entre los 200 y 900 metros de profundidad, donde se produce un fenómeno conocido como tremolina cerca de los 100 metros de profundidad, por encima de él la temperatura desciende rápidamente y por debajo de él la temperatura encuentra aún balance entre 1 y 2°C en el fondo.
- **Aguas intermedias:** Ubicadas a 900 metros de profundidad, son agua representativas de los polos (de muy bajas temperaturas) procedentes del Antártico.
- **Aguas profundas:** Correspondientes a los fondos oceánicos.

⁴¹ Ibíd., p. 130

Estos tipos de aguas marinas, son de gran importancia a la hora de dimensionar y tratar un derrame de petróleo, ya que dependiendo de su profundidad será más fácil el acceso a los equipos de personales capacitados y necesarios para llevar a cabo la degradación, y no solo eso, si no que a medida que aumenta la profundidad y la distancia de las zonas costeras los costos aumentaran en gran proporción por su difícil acceso.

2.4.1.2 Parámetros ecológicos del mar Estos parámetros ecológicos, influyen en la demisión del derrame, puesto que por las características tanto físico-químicas como ambientales la dilución y esparcimiento del petróleo será más complejo o más sencillo, por ejemplo, al aumentar la temperatura del petróleo su capacidad de disolverse en agua será mucho más fácil, y por lo tanto, al estar expuesto a la luz solar las emulsiones formadas serán mucho más fuertes lo que hará que la degradación sea menos exitosa o lleve mucho tiempo.

Seoáñez⁴², considera que los siguientes parámetros son los más importantes en el funcionamiento ecológico del océano y se deben tener en cuenta a la hora de evaluar un derrame de petróleo.

- **Luz:** Es uno de los parámetros que permite la vida en el mar, aunque suele desaparecer a unos 150 metros de profundidad, es la responsable de la fotosíntesis del fitoplancton y su dirección de entrada se debe a la diferencia de densidades entre la atmósfera y el agua. El cambio de intensidad de luz, se debe a factores naturales o por contaminación antropogénica como los vertidos de petróleo.
- **Temperatura:** Este parámetro es el responsable de las reacciones químicas y bioquímicas en el mar, la temperatura puede encontrarse entre los -2°C hasta los 30°C dependiendo de la ubicación. El aumento de esta intensifica el metabolismo y la respiración por la mayor permeabilidad de las branquias, por lo tanto, los incrementos de temperatura inesperados pueden producir un alto nivel de estrés en las especies marinas o hasta la muerte y los descensos inesperados generan fallos en los mecanismos de osmorregulación, estos dos cambios pueden generar afectación en la cantidad de oxígeno disuelto en el agua.
- **Salinidad:** Se habla específicamente de las altas concentraciones de cloruro de sodio presentes en el mar, esta concentración se encuentra entre 32 y 37,5 g/lito. Esta medida es importante para la distribución de los organismos en el medio marino, en el consumo de oxígeno, en la densidad del agua, en la temperatura y en el pH del mar. Al bajar la salinidad puede presentarse intoxicación por presencia de metales pesados.

⁴²Ibíd., p.131

- **Nutrientes:** Estos nutrientes son el carbono, nitrógeno y fósforo, los cuales son fundamentales para la vida de las especies marinas, especialmente para los arrecifes de coral. Esta medida, se ve afectada al no existir una correcta recirculación de materia orgánica como los restos de animales muertos que al depositarse en el fondo agotan poco a poco los nutrientes del agua, y se presenta el fenómeno de que cuando no hay luz hay nutrientes y cuando no hay nutrientes hay luz. La alteración de este parámetro esencial por actividad humana se debe principalmente al mal manejo de las aguas residuales y todos los tratamientos industriales mal planificados.
- **Gases disueltos:** Aquí entra en juego el carbono y el oxígeno, que son dos gases completamente solubles en el agua, teniendo en cuenta que el oxígeno es mucho más soluble en el agua que el carbono, es el gas más importante ya que gracias él los seres vivos del mar pueden respirar y se genera gran actividad bacteriana que ayuda a todo el ciclo de limpieza de materia orgánica. Al hablar de bajas concentración de oxígeno disuelto, se dice que es agua contaminada, por lo cual es un parámetro que tiene una constante medición por la autoridad ambiental.
- **Profundidad:** Es un parámetro indirecto, ya que no aporta medidas relevantes a la biota marina, pero modifica varias características físicas y químicas del agua, como lo es la presión y la temperatura.

2.4.1.3 Derrames de petróleo en agua de mar Seoáñez⁴³, se refiere a que el petróleo presente en el mar, puede ser causa de actividades humanas o afloramientos submarinos. En los cuales las fuentes principales de vertimientos al mar son los siguientes:

- Vertido de transportes de crudo.
- Vertido de buques no de transporte de crudo.
- Escapes.
- Vertidos de bodegas.
- Accidentes por falla mecánica o humana.
- Limpieza de tanques y cisternas.
- Perdidas y vertidos en las terminales.
- Vertidos en las explotaciones off shore.
- Vertidos en la exploración.
- Vertidos y perdidas en refinerías costeras.
- Vertidos y perdidas en industrias petroquímicas.
- Residuos arrastrados por los ríos procedentes de zonas industriales del interior.

⁴³ SEOÁÑEZ CALVO, Mariano. Manual de contaminación marina y restauración del litoral. Contaminación, accidentes y catástrofes, agresiones a las costas y soluciones. España.: Mundi-prensa, 2000. 566 p. ISBN 84- 7114- 914- 1

En el cuadro 4, se puede ver los factores y fenómenos que son realmente importantes a la hora de intervenir en el tratamiento de un derrame de petróleo en agua, ya que las condiciones y características que presenta el ambiente como se ha mencionado anteriormente, pueden afectar el comportamiento del petróleo derramado.

El petróleo muestra un comportamiento variado según el ecosistema o recurso hídrico donde se presente, como se muestra en la figura 6, donde se toma como recurso el agua de mar, estos procesos mostrados según Silos⁴⁴, se explican teniendo en cuenta la dimensión significativa del volumen de petróleo derramado, en los cuales se forman emulsiones que es el proceso mediante el cual un líquido se dispersa en otro en formas de pequeñas gotas. Estas emulsiones, pueden ser petróleo en agua o agua en petróleo; el comportamiento de la emulsión petróleo en agua es de rápida dispersión dependiendo de las corrientes de agua y su formación se da gracias a la acción superficial dándole estabilidad, muchas veces la formación de estas emulsiones puede ser un beneficio porque acelera los procesos de disolución, foto oxidación y biodegradación; y por último la emulsión agua en petróleo, se da por la mezcla de agua con petróleo de alta viscosidad o asfálticos lo que las hace muy estables y persistentes durando meses posterior al derrame, por lo que este tipo de emulsiones pueden aumentar significativamente el volumen del petróleo derramado hasta cinco veces si el contenido de agua representa entre el 50% y el 80% de la mancha facilitando la adhesión a las rocas o arenas dificultando aún más la limpieza.

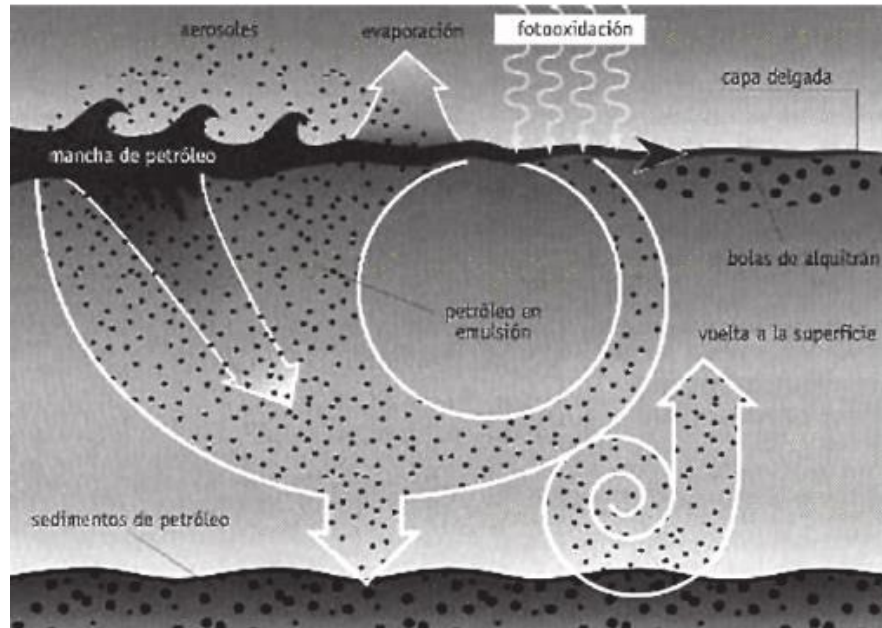
Cuadro 4. Factores y fenómenos importantes para el manejo de derrame de petróleo en agua.

Factores que afectaran el comportamiento del petróleo	Fenómenos relevantes en la planificación de tratamiento de derrames de petróleo
<ul style="list-style-type: none"> • Características físicas del producto (densidad relativa, viscosidad y gama de ebullición). • Composición química del producto. • Condiciones meteorológicas del lugar del derrame (estado del mar, luz solar, temperatura del aire). • Características del agua de mar (densidad relativa, corrientes, temperatura, presencia de bacterias, nutrientes, oxígeno disuelto y sólidos en suspensión). 	<ul style="list-style-type: none"> • Propagación • Evaporación • Disolución • Dispersión • Oxidación • Emulsificación • Sedimentación • Biodegradación

Fuente: SILOS RODRÍGUEZ, José María. Manual de lucha contra la contaminación por hidrocarburos. España.: Servicio de publicaciones de la universidad de Cádiz, 2008. p 45-46.

⁴⁴ SILOS RODRÍGUEZ, José María. Manual de lucha contra la contaminación por hidrocarburos. España.: Servicio de publicaciones de la universidad de Cádiz, 2008. p. 59- 61. ISBN 978- 84- 9828-156- 9

Figura 6. Comportamiento de un derrame de hidrocarburos en agua de mar



Fuente: SILOS RODRÍGUEZ, José María. Manual de lucha contra la contaminación por hidrocarburos. España.: Servicio de publicaciones de la universidad de Cádiz, 2008, p. 46

2.4.1.4 Propagación del derrame Silos⁴⁵, dice que en el momento en que el petróleo es derramado en el agua, se inicia la formación de una mancha completamente uniforme de color oscuro sobre la superficie, es en este momento donde se calcula un promedio del volumen que pudo ser derramado, aunque se debe tener en cuenta la viscosidad el mismo, ya que entre más viscoso sea el petróleo la mancha no será proporcional al volumen derramado por lo que el área de la mancha no será tan grande, caso contrario de lo que ocurría con un petróleo de baja viscosidad, donde su expansión será mucho mayor por su facilidad de movimiento. La velocidad de propagación de la mancha, se determinan por la viscosidad, temperatura del agua y el tiempo , puesto que al pasar del tiempo la mancha se va separando en partes más pequeñas con una distancia promedio de 30 a 50 metros dependiendo de la velocidad y dirección del viento. En la tabla 7 se muestra como a partir de la apariencia del derrame se puede determinar el espesor de la mancha y el volumen derramado por metro cuadrado, el cual, fue un experimento realizado por el instituto del petróleo americano (API). Esta situación de propagación tiende a tomarse delicada, cuando se comienzan a formar emulsiones de agua en petróleo (caracterizadas por su color marrón/ naranja).

⁴⁵ SILOS RODRÍGUEZ. Op. Cit., p. 47-48

Cuando el petróleo presenta colores oscuros, significa que es un petróleo pesado (más denso) lo que lo hace más espeso y difícil de remover por su dificultad de movimiento, generando un espesor mucho más grueso que un petróleo liviano como se ve en los últimas cuatro apariencias de la tabla (3), esto hace que la aplicabilidad del tratamiento sea mucho más complejo, prolongado y se aumenten los costos de inversión.

Tabla 3. Determinación de volumen y espesor del derrame según su apariencia.

Apariencia	Espesor aprox. (mm)	Volumen aprox. (m³/Km²)
Apenas visible	0,00005	0,05
Brillo plateado	0,00010	0,10
Primeras trazas de color	0,00015	0,15
Pocas bandas de colores brillantes	0,00025	0,25
Muchas bandas de colores brillantes	0,00050	0,50
Bandas de colores mates claros	0,00100	1,00
Banda de colores mates oscuros	0,00200	2,00
Bandas de colores crema claro	0,00500	5,00
Bandas de colores marrón oscuro	0,01000	10,00
Parches marrones claros y oscuros, zonas color negro	0,02500	25,00
Nódulos negros sobre fondo marrón	0,050000	50,00
Franjas marrón oscuro	0,10000	100,0
Franjas colores oscuros y negro	0,25000	250,0
Mancha compacta, colores café oscuro	0,50000	500,0
Mancha continua y totalmente negro	1,00000	1000,0
Fuertemente negro con ondulaciones amortiguadas	2,0000	2000,0
Fuertemente negro sin ondulaciones	3,0000	3000,0

Fuente. SILOS RODRÍGUEZ, José María. Manual de lucha contra la contaminación por hidrocarburos. España.: Servicio de publicaciones de la universidad de Cádiz, 2008, p. 47- 48.

2.4.1.5 Evaporación del derrame Silos⁴⁶, asegura que este proceso físico químico es uno de los factores que más afecta la composición del compuesto derramado aumentando la densidad y viscosidad del petrolero así como la solubilidad del agua. Este fenómeno se explica, por la evaporación de los compuestos más volátiles, volviendo el petróleo mucho más pesado logrando que este se hunda, y de esta forma la contaminación será mucho más grave afectando el suelo marino (involucrando todas especie marina que se encuentre en el lugar). Aunque científicamente se ha demostrado que el 50% del petróleo crudo (10 % de fuel oil pesado y 75% de fuel oil liviano, gasolina o queroseno) se evapora en un lapso de 24 a 48 horas. Esta evaporación se basa en factores con respecto al hidrocarburo derramado (tensión de vapor, área de derrame, coeficiente de transferencia de masa, tasa de esparcimiento y espesor de la capa del derrame) y a factores ambientales (estado del mar, temperatura del aire, temperatura del agua y la radiación solar). En el cuadro 5, se muestra los efectos biológicos a nivel general que genera un derrame de petróleo en el mar.

Cuadro 5. Efectos biológicos generales de los hidrocarburos en el mar.

Efectos biológicos generales de los hidrocarburos en el mar	
Toxicidad	<ul style="list-style-type: none"> • Tolerancias y sensibilidad según las especies piscícolas. • Tolerancia y sensibilidad según sean los hidrocarburos presentes.
Efectos secundarios	Las parafinas de bajo peso molecular ejercen un efecto narcótico.
Peces detritívoros	En puertos y costas contaminados por petróleo ingieren productos con hidrocarburos.
Especies comerciales	Pierden todo su valor si adquieren sabores desagradables.
Larvas	Son muy sensibles y tiene gran mortalidad si hay hidrocarburos presentes.
Individuos jóvenes y larvas	Sufren importantes efectos subletales como la inhibición del crecimiento y alteraciones del comportamiento.

Fuente. SEOÁNEZ CALVO, Mariano. Manual de contaminación marina y restauración del litoral. Contaminación, accidentes y catástrofes, agresiones a las costas y soluciones. España.: Mundi-prensa, 2000, p. 216.

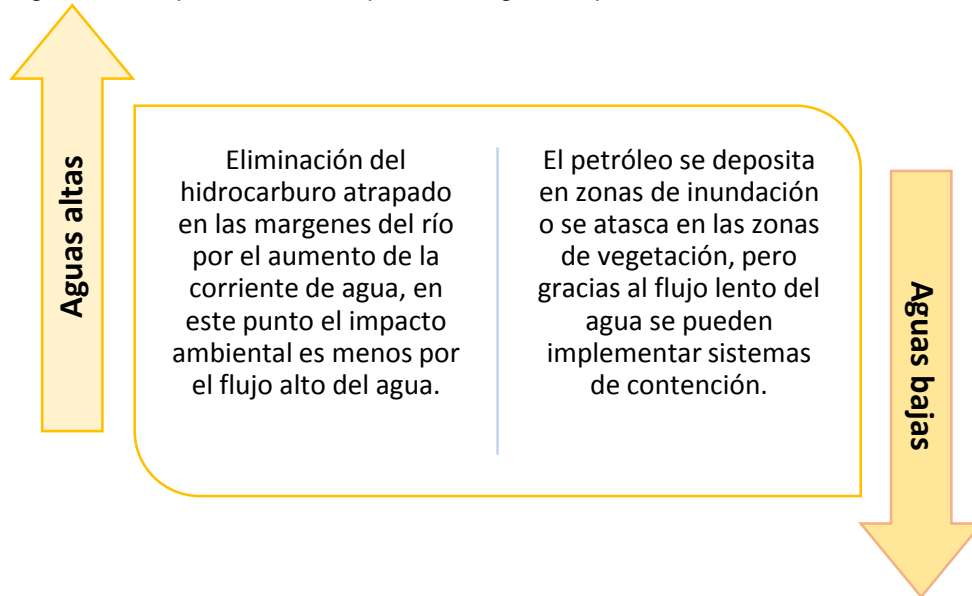
2.4.2 Derrames de petróleo en ríos

En un derrame de hidrocarburos en un río van a actuar los mismo factores que se encuentran en la mar más lo factores propios del río, como son el régimen hidrológico que modifica la velocidad de las corrientes y la forma en que el derrame puede afectar a las márgenes del río o las zonas de inundación. Este factor tiene importante efectos desde el punto de vista del impacto ambiental del

⁴⁶ Ibíd., p. 47- 48

derrame, porque dependiendo de la estación del año el río se encontrara en época de aguas altas, en transición de aguas altas o bajas o viceversa, o en aguas bajas como se muestra en la figura 7⁴⁷.

Figura 7. Comportamiento del petróleo según la época del río



Ahora bien, Silos⁴⁸, dice que si el derrame se genera en la desembocadura de los ríos en el mar la corriente y la diferencia de densidades no permitirá que el hidrocarburo tenga pasó en el río debido a la forma en que el agua de mar choca con la desembocadura. Dependiendo de las condiciones del río, como por ejemplo, si el área es de fácil acceso, la velocidad de la corriente en las márgenes y la profundidad de la zona afectada, el primer paso que se realiza para la limpieza es instalar barreras de contención como se ve en la figura 8, para facilitar los tratamientos posteriores y retirar la mayor cantidad de petróleo posible. En cuanto a las características más comunes que presenta un derrame de petróleo en un río, teniendo en cuenta lo anterior se tiene que:

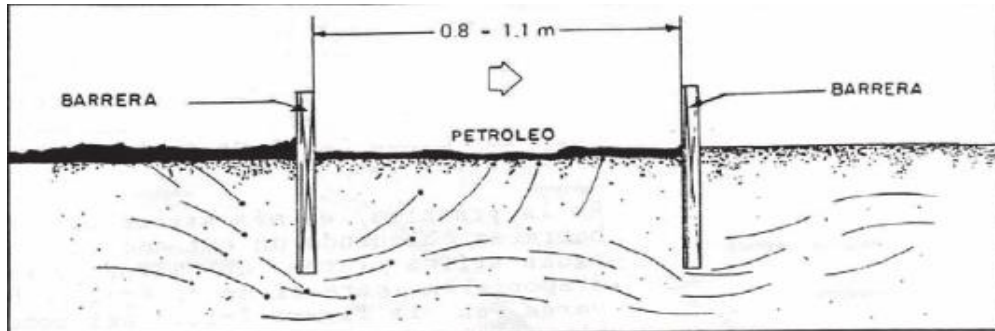
- El río fija el impacto (petróleo) sobre la vegetación cuando este tiene un corriente fluvial baja, pero tiene una rápida recuperación a largo plazo por la variación de las corrientes.
- Hay dificultad en la instalación de los métodos de contención y control si las áreas son inaccesibles para la maquinaria y mano de obra, por lo que la mancha de petróleo se esparcirá fácilmente aguas abajo, formando una capa delgada y emulsionada si se presentan turbulencia en el recorrido.

⁴⁷Ibíd., p. 214

⁴⁸Ibíd., p. 215-218

- Cuando el derrame se genera en zonas donde no hay accesos la viento por la vegetación, este, se moverá simultáneamente con la corriente del río.

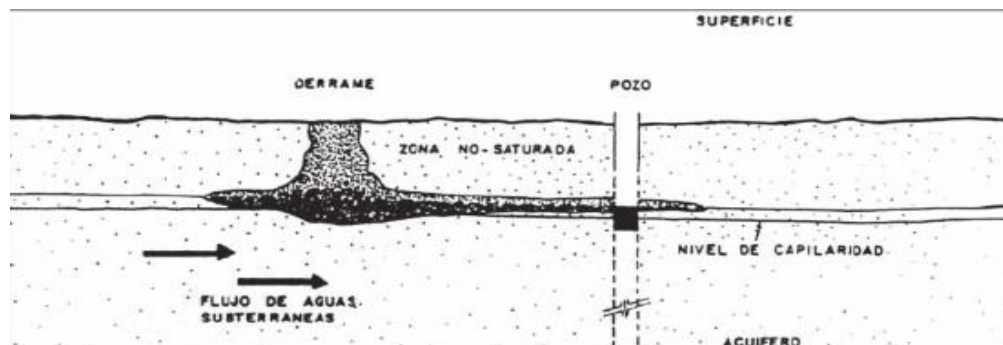
Figura 8. Barreras de contención de petróleo en ríos.



Fuente. SILOS RODRÍGUEZ, José María. Manual de lucha contra la contaminación por hidrocarburos. España.: Servicio de publicaciones de la universidad de Cádiz, 2008, p. 216.

2.4.3 Derrames de petróleos en acuíferos Silos⁴⁹, explica que la filtración del petróleo en los acuíferos depende de la porosidad, saturación y permeabilidad del suelo (roca), estos factores facilitaran el paso del hidrocarburo hasta contaminar el agua subterránea, este generara presión hidrostática sobre el nivel freático que por efecto de la gravedad intentará reestablecer su nivel original lo que obligara al petróleo seguir la dirección del agua, como se muestra en la figura 9.

Figura 9. Comportamiento de un derrame de petróleo en un acuífero.



Fuente. SILOS RODRÍGUEZ, José María. Manual de lucha contra la contaminación por hidrocarburos. España.: Servicio de publicaciones de la universidad de Cádiz, 2008, p.208.

⁴⁹Ibíd., p. 207

2.4.3.1 Clasificación de acuíferos Para la Ordoñez⁵⁰, los acuíferos dividen con respecto a las formaciones geológicas y su capacidad de almacenamiento de agua, como se muestra en la figura 10. Teniendo en cuenta que, los acuíferos o aguas subterráneas son volúmenes de roca que son ocupados por agua y que son sistemas es parte esencial del sistema hidrológico, por lo cual se clasifican:

- Acuíferos libres: Son formaciones en las que el nivel de agua se ubica debajo de la formación permeable (nivel freático bajo), estos, liberan agua directamente de los poros y son directamente afectados por la presión atmosférica.
- Acuíferos confinados o cautivos: Se encuentran cubiertos por una capa impermeable, se encuentran arriba de la superficie de la formación acuífera, la generación de agua se da por efecto de la expansión de agua y la descompresión de la estructura vertical.
- Acuíferos semiconfinados: Se caracterizan porque no todos sus bordes son cubiertos por capas impermeables, por lo cual, permiten el paso del agua en dirección vertical.
- Acuíferos costeros: Tiene alta capacidad de almacenamiento y transmisión de agua y tiene una característica muy particular y es que está conectado con el mar y pueden recibir agua de otros acuíferos que devolverá por rutas subterráneas al mar.

Figura 10. Clasificación de acuíferos



Fuente. Aquabook. Clasificación de los acuíferos. Recuperado de: http://aquabook.agua.gob.ar/407_

⁵⁰ ORDOÑEZ GÁLVEZ, Juan Julio. Cartilla técnica: aguas subterránea- acuíferos. Lima, Perú.: Zaniel I. Novoa Goicochea, 2011. p. 10. ISBN 978- 9972- 602- 78- 8

2.4.3.2 Parámetros ecológicos de un acuífero Ordoñez⁵¹, menciona que gracias a los siguientes parámetros, se pueden determinar la magnitud del recurso y su aprovechamiento racional con el control adecuado para evitar su agotamiento:

- **Porosidad:** Para los acuíferos es esencial que los poros estén interconectados para que el flujo de agua a través de este, esta comunicación se ve afectada por el tamaño y forma de las partículas, lo que hace variar la porosidad entre un 0% a un 50%.
- **Permeabilidad:** De esta depende el flujo del agua únicamente si los poros se encuentran interconectados de lo contrario la permeabilidad será muy pobre y el agua no circulara, este parámetro depende al igual que la anterior del tamaño y la forma de las partículas así como la viscosidad del agua.
- **Transmisibilidad o transmisividad:** Es una característica de los acuíferos que les permite conducir el agua o transmitirla en un determinado tiempo en dirección vertical, y dependerá del espesor del acuífero.
- **Coefficiente de almacenamiento:** Es una medida adimensional y se trata de la cantidad de agua que el acuífero puede liberar al descender la presión. Este comportamiento es característicos de los acuíferos confinados y libres.

2.5 Suelo

El suelo representa un ecosistema donde, actualmente, se puede encontrar una gran variedad de compuestos tóxicos, entre los cuales se incluyen los hidrocarburos derivados de las actividades petroleras. El suelo es un cuerpo natural que conforma el hábitat de bacterias, hongos, levaduras, virus y plantas superiores, entre otros, que sirve para la alimentación de los animales y del hombre a través de los ciclos tróficos. El suelo y los microorganismos mantienen los sistemas ecológicos, ya que le aportan componentes químicos y minerales (como resultado de la biodegradación); y complejos orgánicos como ácidos húmicos y fúlvicos, enzimas, vitaminas, hormonas y antibióticos; además, albergan una rica reserva genética⁵².

De acuerdo con Eweis⁵³, el suelo se encarga de realizar diversas funciones en el planeta tierra, como por ejemplo el aporte de nutriente para el crecimiento de plantas

⁵¹ *Ibíd.*, p 13- 17

⁵² LOYA DEL ANGEL, Daniela Itzel. Tecnologías para la restauración de suelos contaminados por hidrocarburos. Trabajo de grado especialista en gestión e impacto ambiental. México, Veracruz.: Universidad Veracruzana. Facultad de ciencias biológicas y agropecuarias. 2013. p. 17

⁵³ EWEIS, J, *et al.* Principios de biorrecuperación, 1999. Citado por LOYA DEL ANGEL, Daniela Itzel. Tecnologías para la restauración de suelos contaminados por hidrocarburos. Trabajo de grado

y microorganismos teniendo en cuenta que los minerales (constituyen el 50% del total del suelo), el aire (ocupa el 25 %), el agua (representa un 50% de los espacios vacíos del suelo), materia orgánica (ocupa alrededor del 5%) y organismos vivos (1%) son los principales componentes del suelo; gracias a estos componentes característicos se pueden clasificar los suelos.

Para Silos⁵⁴, el comportamiento que tiene un derrame de petróleo sobre el suelo se puede dar de la siguiente manera:

1. Cuando hay presencia de actividad agrícola, el hidrocarburo generalmente satura el suelo entre 10 a 20 cm sin depender de la profundidad.
2. La concentración y penetración del petróleo será mayor en zonas donde hay depresiones secas, sin alterar en gran porcentaje el agua subterránea si es que la hay.
3. Por naturaleza el petróleo tiende a migrar por zonas porosas, especialmente si son suelos artificiales por su mayor capacidad de permeabilidad.
4. En los casos donde el nivel freático es bajo, el petróleo no alcanza a afectar el agua pero si se presentan tiempos de lluvias su filtración hacia este nivel será más fácil.
5. El esparcimiento del derrame depende de las variaciones de la permeabilidad, puesto que, del 4% al 70% del esparcimiento ocurre durante las primeras 24 horas de ocurrido el derrame y si la permeabilidad es muy alta el petróleo se esparcirá más rápido hasta llegar al límite de saturación del suelo.

2.5.1 Parámetros ecológicos del suelo Para Loya Del Angel⁵⁵, los siguientes parámetros son los más importantes a la hora de tomar la decisión de que técnica de tratamiento o limpieza de suelo contaminado con petróleo se va a implementar.

- **Tamaño de partícula:** A partir de este parámetro se logra la clasificación de los suelos dada en milímetros o micrones, como se muestra en la tabla 4 y la determinación del impacto que se genera en las propiedades biológicas, físicas y químicas del suelo durante la degradación. Esta degradación en partículas no consolidadas que son las arenas y arcillas, es más efectiva por su facilidad de filtración.

especialista en gestión e impacto ambiental. México, Veracruz.: Universidad Veracruzana. Facultad de ciencias biológicas y agropecuarias. 2013. p. 18

⁵⁴ SILOS RODRÍGUEZ. Op. Cit., p.207

⁵⁵ LOYA DEL ANGEL. Op. Cit., p. 19 - 20

- **Heterogeneidad:** Una gran desventaja de este parámetro es que la ser el suelo muy heterogéneo, se forman canales por el paso de fluidos en las pacas poco consolidadas, lo que impide el uso de técnicas de degradación insitu generando resultados ineficientes.

Tabla 4. Clasificación de suelos por tamaño de partícula

Tipo de suelo	Tamaño de partícula
Arcillas	< 0,002 mm
Sedimentos	0,002 – 0,05 mm
Arenas	0.05 – 2.0 mm

Fuente. EWEIS, J, *et al.* Principios de biorrecuperación, 1999. Citado por LOYA DEL ANGEL, Daniela Itzel. Tecnologías para la restauración de suelos contaminados por hidrocarburos. Trabajo de grado especialista en gestión e impacto ambiental. México, Veracruz.: Universidad Veracruzana. Facultad de ciencias biológicas y agropecuarias. 2013. p. 19.

- **Densidad aparente:** Definido como el peso del suelo por unidad de volumen, a pesar de que el suelo está compuesto principalmente por sólidos se suelen formar espacios ocupados por aire o agua, por lo que la densidad será proporcional a la humedad presente.
- **Permeabilidad:** Es uno de los parámetros que se encarga de controlar la eficiencia de las técnicas implementadas en el tratamiento de suelos, por lo que, una baja permeabilidad es directamente proporcional a la efectividad (baja).
- **pH:** Es la medida encargada de determinar los grados de adsorción de iones que tiene el suelo, los cuales afectan directamente la movilidad, formas iónicas, solubilidad y disponibilidad de un contaminante en el suelo.
- **Humedad:** Característica importante para determinar que técnica de tratamiento es la más adecuada para aplicar, puesto que, una humedad alta puede generar impedimento en el paso del aire por el suelo, afectando la biodegradación y aumento de costos.
- **Materia orgánica:** Esta parte del suelo se compone de desechos animales y vegetales (humus), cuando un suelo cuenta con alto contenido húmico disminuye significativamente la movilidad de los compuestos orgánicos y ocasiona deficiencia en las técnicas de tratamiento aplicadas.

2.5.2 Comportamiento de un derrame de petróleo en suelo Loya de Angel⁵⁶, habla de que este comportamiento se basa estrictamente en las características físicas y químicas que presente el hidrocarburo derramado, así como las características que presenta el ecosistema afectado (parámetros ecológicos del suelo). El petróleo crudo y sus derivados más livianos, tienden a formar una capa consistente en el nivel freático moviéndose horizontalmente al flujo del agua subterránea (acuíferos), al contrario de los compuestos más pesados, que se desplazan hasta llegar a la base del acuífero formando una columna que se mueve en dirección al flujo del agua generando contaminación en toda su profundidad por efecto de arrastre. Este comportamiento se puede determinar midiendo el porcentaje de acumulación de contaminantes orgánicos con ayuda de absorbentes naturales, por lo cuales se genera absorción de la materia orgánica en forma, amorfa, natural o en líquidos de la fase no acuosa (LFNA), condensada, en polímeros o en residuos de combustión, adsorción en superficies minerales como le cuarzo, adsorción de zonas orgánicas húmedas y adsorción dentro de los poros más pequeños. Esta acumulación de contaminantes orgánicos, afecta las propiedades físicas (la estructura del suelo como consecuencia de la ruptura de los agregados, se visualiza un aumento de la retención de agua en la capas superficiales y afecta radicalmente el potencial hídrico) y las propiedades químicas del suelo (aumento del carbono orgánico puesto que el 75% del petróleo crudo es oxidable, se genera un disminución del pH por acumulación de carbono orgánico y generación de ácidos orgánicos y se presenta aumento del fósforo disponible).

Como se mencionó anteriormente, los parámetros de los contaminantes (petróleo), del suelo y los ambientales tienen una interacción importante durante el esparcimiento de un derrame, como se muestra en el cuadro 6.

Cuadro 6. Parámetros que influyen en el esparcimiento de un derrame en suelo.

Parámetros del contaminante	Parámetros del suelo	Parámetros ambientales
Solubilidad	Contenido y retención de agua	Temperatura
Presión de vapor	Porosidad, densidad y permeabilidad	Precipitación
Polaridad	Contenido de materia orgánica y profundidad de agua subterránea	Evapotranspiración

Fuente. LOYA DEL ANGEL, Daniela Itzel. Tecnologías para la restauración de suelos contaminados por hidrocarburos. Trabajo de grado especialista en gestión e impacto ambiental. México, Veracruz.: Universidad Veracruzana. Facultad de ciencias biológicas y agropecuarias. 2013, p. 22.

⁵⁶ Ibid., p. 21

Cabe resaltar, que el comportamiento de los hidrocarburos varían según el tipo de suelo que se tenga (arena, arcillas o aspecto rocoso y suelo con alto contenido orgánico) como se muestra en la figura 11.

Figura 11. Comportamiento del petróleo según el tipo de suelo



2.6 Consecuencias de los derrames de petróleo

2.6.1 Consecuencias ambientales

Cuando los hidrocarburos contaminan cuerpo de agua superficial estos, tiende a flotar debido a la diferencia de densidad que presentan con respecto al agua; por este motivo bloquean la penetración de la luz y el intercambio de gases, favoreciendo así la solubilización de materiales que afectan a las distintas poblaciones como el plancton o los micro invertebrados que viven en el fondo de ríos y pantanos, impidiendo el correcto desarrollo de la fotosíntesis. De esta manera ya estamos hablando de la afectación que se genera en la fauna y flora directamente implicada⁵⁷.

⁵⁷ ADAMS, R; ZAVALA CRUZ, J y MORALES GÁRCIA, F. Concentración residual de hidrocarburos en el suelo trópico, afectación a la fertilidad y su recuperación. *En: interciencia*. 2008. no. 33, p. 483-489. Citado por: VELÁSQUEZ AGRARIA, Johana Andrea. Contaminación de suelos y cuerpos de agua por hidrocarburos en Colombia, fitorremediación como estrategia biotecnología de recuperación. Trabajo de grado para especialización en biotecnología agraria. Yopal, Casanare.: Universidad nacional abierta y a distancia, 2016. p. 16

Bravo⁵⁸, dice que en el suelo, el petróleo generar modificaciones series y/o mortandad en los microorganismos (microfauna) presentes el suelo y sofocación de raíces de cualquier vegetación que se encuentre en la superficie, este último efecto tiene mayor impacto cuando el derrame alcanza zonas cultivadas, donde se han registrado que en la mayoría de veces desaparece por completo la cosecha. La microfauna, se comporta con respecto a la nivel de tolerancia que estos tengan al contacto con petróleo, es decir, las poblaciones más resistentes tiene mayor probabilidad de sobrevivir que las menos resistentes las cuales son especies que tienden a desaparecer o disminuir su población por los problemas tóxicos que genera el derrame en ellos.

Shigenaka⁵⁹ afirma, que todos los derrames de petróleo tienen impactos diferentes, puesto que, estos dependen del tipo de petróleo como se ha mencionado anteriormente, condiciones oceanográficas, latitudes, clima y el tipo de ecosistema, cada uno de estos aspectos son vitales para los estudios científicos que se realizan para analizar las consecuencias y los métodos de tratamiento que se aplicaran para determinar la magnitud del derrame. Actualmente, se registran los daños de los derrames más impactantes a nivel mundial para poder tener una idea científica de que posibles daños se tienen en un derrame a tratar así como la eficiencia del tratamiento que se usó en cada, a partir de estos registros se determinó que una de las consecuencias más preocupantes que puede dejar la presencia del petróleo en el ambiente, es el porcentaje de mortandad de animales y vegetales acuáticos lo que puede llegar a representar la extinción de alguna especie.

Agraz⁶⁰, identifica que los derrames se manifiestan de dos formas 1) es la contaminación crónica, causada por las descargas a fuentes hídricas por fuentes terrestres o acuáticas 2) la contaminación aguda, que generalmente ese transforma en catastrófica, que representa los derrames de hidrocarburos al mar. E igualmente identifico, que los cambios a largo plazo de un derrame de petróleo en ambientes marino están orientados a:

- La pérdida o desaparición de la biodiversidad a nivel global.
- La reducción critica de las especies más importantes o explotables a nivel comercial.
- El desequilibrio en comunidades animales donde se ve un incremento desmesurado de enfermedades y aparición de vegetación toxica.

⁵⁸ BRAVO, Elizabeth. Los impactos de la explotación petrolera en ecosistemas tropicales y la biodiversidad. En: Acción ecológica, Informe ejecutivo. Mayo, 2007. p. 40-41

⁵⁹ SHIGENAKA, Gary. Effects of oil in the enivronmmet. En: FINGAS, MERVIN F. Oil spill science and technology: prevention, response and cleanup. Estados Unidos.: FINGAS, Mervin. 2011. p. 984 – 1024

⁶⁰ AGRAZ HERNÁNDEZ, Claudia, *et al.* Golfo de México, contaminación e impacto ambiental: diagnóstico y tendencias. 2 ed. México. 2005. 682 p. ISBN 968- 5722- 37- 4

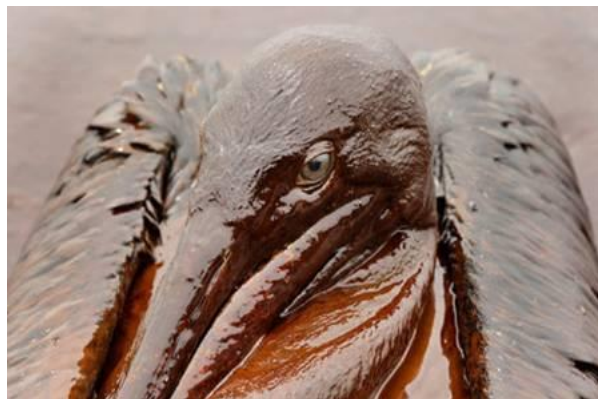
- La pérdida de ecosistemas esenciales para el equilibrio ecológico.

2.6.1.1 Efecto en aves Para Villamar⁶¹, el efecto del petróleo impregnado en el plumaje de las aves, hace que estas pierdan la capacidad de mantener la temperatura del cuerpo causando hipotermia, si el petróleo cubre el 100% de las plumas de las aves marinas (como se observa en la figura 12) estas pierden su facilidad de flotar en el agua y mueren ahogadas, este es uno de los impactos más notorios cuando los cadáveres quedan en tierra. El comportamiento normal de las aves, es limpiar su plumas con el pico, al intentar eliminar el crudo lo ingieren y pueden morir por intoxicación severa, esta misma situación se presenta cuando por instinto natural comen presas contaminadas, por lo tanto cuando este tipos de situaciones ocurren es cuando se identifica que la magnitud del derrame es bastante crítico.

“Según la FWS, en un informe dado a conocer a mediados de Noviembre, el incidente de Macondo afectó a 7.835 aves. Habían encontrado 2.888 aves visiblemente cubiertas de petróleo, de las cuales 1.897 estaba muertas y 991 vivas (66 y 34 por ciento, respectivamente). Otras 4.014 aves no estaban cubiertas de crudo pero si contaminadas internamente. El 77 por ciento murieron y el 23 por ciento vivieron”⁶².

El anterior, es un claro ejemplo de las graves consecuencias a estas especies animales que puede causar un derrame de grande magnitudes como el mencionado (plataforma Deep Water Horizon, pozo Macondo).

Figura 12. Pelicano cubierto de crudo



Fuente. Derrame de petróleo amenaza vida marina. En: Marketing world, 22 de Junio, 2010.

⁶¹ VILLAMAR, Zirahuén. ¿Cuál fue la visión oficial estadounidense del daño ambiental producido por el derrame de crudo del pozo Macondo? En: norteamericana. Enero- junio, 2011. vol. 6, no. 1, p. 211

⁶² Ibíd., p. 211

Para Bravo,⁶³ es importante resaltar que las aves marinas son casi el único grupo de vertebrados que no pueden evitar ser afectados por un derrame de petróleo, ya que, su alimentación depende de los peces degenerando poco a poco el hígado y generando neumonía severa con hiperplasia. Estas especies, están expuestas a contacto físico y contaminación toxica por consecuencia del petróleo, que puede generar afectaciones muy graves en su metabolismo y en su exterior, como por ejemplo, cuando un derrame es de gran magnitud las aves marinas pueden ser víctimas de quemaduras químicas por su vulnerabilidad en la piel y los vapores que emanan del petróleo pueden generar grandes daños en su sistema central por su disminución de glóbulos rojos, úlceras e los ojos y boca. Se ha demostrado mediante algunos estudios realizados en los distintitos eventos de derrames presentados a lo largo del tiempo, que los efectos reproductivos a largo plazo los vuelven incapaces de poner huevos y se genera un cambio radical en su comportamiento reproductivo (número de huevos puestos y adelgazamiento en la cascara del huevo). Estos casos, se observan más que todo en aves que permanecen constantemente en el agua como las garzas, grullas y patos.

2.6.1.2 Efecto en mamíferos “Roedores, felinos, oso, ciervos, manatíes, delfines y cachalotes son algunos de los mamíferos cuyos hábitat- y por tanto sus vidas- fueron afectados en mayor o menor medida por la contaminación por el crudo, sea directa o indirectamente”⁶⁴, como se ve en la figura 13. El comportamiento calórico de los mamíferos (que no tienen mucho pelo) para mantener su temperatura corporal depende del tejido graso, y al ser cubierto por petróleo acaba con este tejido e irrita la piel causando infecciones cutáneas graves, pero el impacto más grave en los mamíferos es la presencia de gases de petróleo que inhalan al salir a superficie y la intoxicación por ingesta de presas contaminadas. Para comprender un poco más los efectos generados, se toma como ejemplo, el derrame del Golfo de México, que ocurrió en Abril del 2010, en el que se registró, que hasta el 2 de Noviembre del mismo año se encontró que de nueve mamíferos vivos dos estaban cubiertos de petróleo, e igualmente se evidencio la muerte de 100 mamíferos donde cuatro estaban cubiertos de petróleo. Se obtuvo que solo 3 de 109 especies en total se pudieron regresar a su hábitat.

⁶³ BRAVO, Op.cit., p.44- 51

⁶⁴ VILLAMAR, Op.cit, p. 211- 212

Figura 13. Delfín intoxicado por petróleo



Fuente. Derrame de petróleo amenaza vida marina. En: Marketing world, 22 de Junio, 2010.

2.6.1.3 Efectos en organismos y ecosistemas marinos Farrington⁶⁵, menciona que la presencia de petróleo en el metabolismo de los animales y vegetales marinos genera intoxicación directa que en ocasiones puede provocar la muerte además del aumento de estrés por cambios de temperatura en el ambiente y aparición de enfermedades infecciosas. Cuando este organismo ingiere petróleo, y este se disuelve en el cuerpo a través de las membranas se genera una intoxicación letal directa, fallas en su etapa de reproducción al no poder encontrar una pareja para su apareamiento por afectación en el olfato y se evidencia un aumento del estrés psicológico al aparecer especies que no pertenecen al hábitat producto de la migración. En el cuadro 7, se observa los efectos de un derrame de petróleo en varios niveles biológicos que han sido comprobados mediante estudios científicos, a partir de los cuales se puede determinar el nivel de toxicidad ya que estos pueden variar de una especie a otra, por ejemplo, los crustáceos de mayor tamaño (langostas) y los anfípodos son los más afectados y sensibles cuando ocurren este tipo de accidentes, en el caso de los anfípodos muertos son arrastrados un día después de ocurrido el derrame y deben ser retirados antes de su descomposición para análisis, por esta razón, si el petróleo es derramado en un lugar muy lejano a la costa, días después estas se verán gravemente afectadas por no tener un fácil acceso para realizar la limpieza.

⁶⁵ FARRINGTON. Op. it., p. 23- 24

Cuadro 7. Respuesta a hidrocarburos de petróleo en varios niveles de organización biológica de organismos marinos

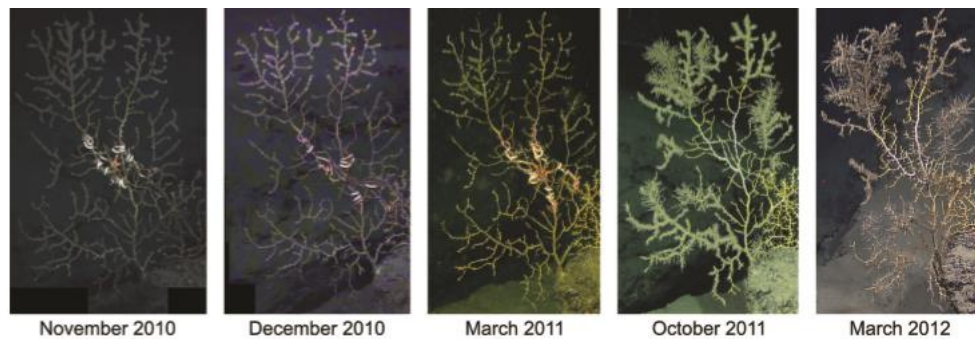
Nivel de organización biológica	Tipos de respuesta	Efectos en el siguiente nivel
Bioquímico celular	Deterior de las vías metabólicas	Interrupción de la energía
	Desintoxicación	Adaptación de organismos
Organismos	Cambios metabólicos	Reducción en el rendimiento de las poblaciones
	Cambios en el comportamiento	
	Aumento de enfermedades	
	Reducción en crecimiento y reproducción	
Población	Ajuste en las funciones	Regulación y adaptación de poblaciones
	Defensa de la enfermedad	
	Cambios de la dinámica de la población	Efectos sobre organismos coexistentes y en la comunidad
Comunidad	Adaptación de las poblaciones al estrés	Sin cambios a nivel comunitario
	Cambio en la composición de especies	Deterioro de la comunidad
	Reducción del flujo de energía	Producción secundaria reducida
	Adaptación al ecosistema	Sin cambios en la estabilidad de la comunidad

Fuente. FARRINGTON, Jhon W. Oil pollution in the marine environmental II: fates and effects of oil spills. En: Environment magazine. Julio- Agosto, 2014, vol. 56 no. 4, p. 25

Como ya se conoce, los arrecifes de coral son fundamentales para la vida de los todos los organismos ya que cuentan con la capacidad de generar materia orgánica proporcionando refugio para una gran variedad de especies y cuando estos entran en contacto con el petróleo el impacto genera es bastante significativo, puesto que no solo se afecta el arrecife si no toda la flora y fauna que gira en torno a él.

Fisher⁶⁶, muestra en la figura 14 ,el ejemplo de la acción que tuvo el derrame de petróleo del Golfo de México en el 2010 (Pozo Macondo, plataforma Deep Water Horizon) en el arrecife de coral más cercano a la cabeza de pozo que fue cubierto en un 50% por petróleo crudo dañando casi en su totalidad la mucosa protectora y el proceso de recuperación por medio de métodos biológicos que se realizó para no perder en su totalidad estos organismos, cabe resaltar que a pesar de que se realizaron todo tipos de tratamientos biológicos hoy en día (7 años después) no se ha obtenido el 100% de su estado original puesto que desaparecieron varias especies animales y vegetales de la zona que eran parte importante del proceso de recuperación del arrecife más afectado.

Figura 14. Proceso de recuperación de corales por derrame del Golfo de México



Fuente. FISHER, Charles R, *et al.* Coral communities as indicators of ecosystem level impacts of Deepwater Horizon spill. En: Bioscience. Septiembre, 2014. Vol. 64, no. 9, p. 797

2.6.1.4 Efectos sobre las comunidades microbianas Bravo⁶⁷, tiene cuenta que en el ambiente (ya sea agua o suelo), existen especies microbianas que tienen la capacidad de degradar petróleo y especies vulnerables a este tipo de contaminación. Las especies degradadoras se multiplicaran y presentaran cambios genéticos al entrar en contacto directo con el petróleo, provocando un aumento evidente en el pH en suelo y los niveles de concentración del K, Ca y Mg.

⁶⁶ FISHER, Charles R, *et al.* Coral communities as indicators of ecosystem level impacts of Deepwater Horizon spill. En: Bioscience. Septiembre, 2014. vol. 64, no. 9. p. 796- 807

⁶⁷ BRAVO. Op.cit, p. 46

2.6.1.5 Efectos sobre la vegetación y agricultura Bravo⁶⁸, revela que la presencia de petróleo en las plantas, es altamente tóxico sobre todo si se encuentra petróleo liviano, este fenómeno se explica por la generación de zonas anóxicas en las raíces por los altos niveles de toxicidad que provoca el petróleo, esta falta de oxígeno y la aparición de H₂S genera mortandad total de las raíces incluyendo la de los árboles que ya se encuentran bien establecidos. La diferencia no es muy grande, cuando se presentan derrames de crudo pesado, puesto que este genera sofocación de las estomas, que son las estructuras encargadas del intercambio de gases. El factor más influyente para la contaminación por petróleo, son los altos niveles de irradiación UV, aunque pueden generar impactos positivos o negativos; en cuanto a los positivos es que estos, ayudan a descomponer pequeñas partes del hidrocarburo pero mientras realiza esta descomposición aumenta la toxicidad del mismo (impacto negativo), este efecto de toxicidad se refleja mejor en las algas. Estos impactos, son absorbidos indirectamente por los animales que son dependientes de la vegetación para su reproducción, alimentación o hábitat.

La Amnistía Internacional⁶⁹, dice que teniendo cuenta que para transportar o distribuir el petróleo se hace uso de varias redes de oleoductos alrededor del mundo, y que estos oleoductos en la mayoría de los casos pasan por zonas altamente activas en agricultura y cultivos (rurales), los casos de derrames son muchos más comunes que en las plataformas por consecuencia de ataques terroristas, mal mantenimiento o el simple hecho de su presencia en zonas de alta población representa un riesgo muy alto de explosión. Al generarse derrames de petróleos en zonas con actividades agrícolas, los impactos generalmente son completamente devastadores, ya que se destruye inmediatamente los cultivos al entrar en contacto con las sustancias que transporta el oleoducto (petróleo o derivados).

2.6.2 Consecuencias económicas Velázquez⁷⁰, dice que los impactos generados por los derrames de petróleo no solo se deben centrar a nivel ambiental, sino también económico, ya que la contaminación de las fuentes hídricas siempre lleva a un déficit económico para las zonas que viven de las actividades acuáticas (pesca, turismo, consumo de agua y cultivo de especies), puesto que la contaminación genera desconfianza en los consumidores y aparece la crisis económica en la zona afectada.

⁶⁸ *Ibíd.*, p. 48- 49

⁶⁹ AMNISTÍA INTERNACIONAL. Nigeria: petróleo, contaminación y pobreza en el Delta del Níger. Londres: Amnesty international, 2009. p. 35- 37

⁷⁰ VELAZQUEZ. Op. Cit., p. 15

Por lo que Uwellen⁷¹, dice que los costos de un derrame depende de la zona en la que se genere, ya que este determina si el tiempo de respuesta es inmediata o no puede esperar un poco (no es lo mismo cuantificar un derrame en mar por su facilidad de expansión que cuantificar un derrame en tierra donde no es fácil expandirse) y el grado de daño ambiental y económico, por lo que se identificaron tres características de la ubicación que pueden afectar altamente los costos, estas son:

- Distancia: Cuando un derrame se presenta en áreas muy remotas, el tiempo de respuesta será muy complejo puesto que el acceso a la zona es casi imposible para el transporte de los equipos necesarios y logísticas, lo que aumentará significativamente los costos.
- Proximidad a la costa: Los costos incrementara cuando el derrame sea más cerca a la costa, ya que se requiere de gran cantidad de mano de obra que ayude a remover el petróleo de la costa y de los hábitats afectados.
- Proximidad a los centros económicos: Gran incremento de costos a los derrames que ocurran cerca de centro importantes para la economía de la zona afectada, por ejemplo, si un puerto se ve afectado el flujo de mercancía se detendrá generando grandes pérdidas, lo que requiere de un respuesta inmediata, ya que la compañía responsable puede recibir graves sanciones por daños a terceros.

Por lo anterior, se puede deducir que las zonas que son dependientes de las actividades turísticas se ven gravemente afectadas, especialmente cuando son áreas con estaciones climáticas en donde este tipo de ingreso económico se incrementa en épocas de verano, por lo tanto, los costos de limpieza del derrame aumentan en gran proporción, ya que la compañía responsable debe cubrir parte de los gastos de los ingresos perdidos por la falta de movimiento turístico y los gastos de limpieza/tratamiento de toda la zona afectada. Adicionalmente, se tiene en cuenta que entre más tiempo tome el ensamblaje de los equipos y la eficiencia de los grupos de trabajo en realizar la limpieza, los costos subirán debido a que las condiciones climáticas (sobre todo en zonas marinas) hacen que la expansión y filtración del petróleo derramado empeore notablemente.

Una de las actividades que más se ve afectada es la pesca, por ser la actividad que provee alimentación a los turistas, a los habitantes y genera ingresos económicos en todas las zonas costeras; esta, decrece significativamente generando una crisis económica grave en las personas que dependen exclusivamente de esta actividad. Villamar⁷², toma como ejemplo el derrame generado en la plataforma Deep Water

⁷¹ URWELLEN, Robert H. Location impacts cost in different ways. En: Oil spill cost and impacts. New York: Nova science publishers, Inc, 2009. p. 11-12. ISBN 978-1-61470-470-6

⁷² VILLAMAR. Op. Cit., p 213

Horizon en el Golfo de México en el año 2010, en el cual se registró que en el 2008 (antes del desastre) Estados Unidos generaba aproximadamente 5.500'000.000 de dólares gracias a la pesca y luego del accidente disminuyó a 659'000.000 dólares por el cierre de 217.000 Km² (representa alrededor del 35% de la zona más exclusiva de pesca en el Golfo) donde se prohibió de pesca de camarón, sábalo, ostras y cangrejos azules.

La contaminación mata los peces, sus larvas y sus fuentes de alimentación y afecta negativamente su capacidad de reproducción, causando un daño inmediato y a largo plazo, acumulativo, en las existencias de peces. Cuando se vierte petróleo y residuos en cuerpos de agua cerrados, los peces quedan directamente expuestos a los contaminantes y pueden morir. En un cuerpo de agua que fluye, como un río, es posible que los peces consigan abandonar las inmediaciones del área contaminada, pero los huevos y las larvas no pueden escapar y, con frecuencia, mueren. Según expertos en pesca y contaminación del medio ambiente, esto ha causado un descenso importante de las reservas totales. Los derrames de petróleo y otros contaminantes relacionados con el petróleo también han dañado gravemente los manglares, un importante lugar de cría de peces que resulta muy difícil de limpiar una vez que ha sido contaminado⁷³.

Sin embargo, la única actividad afectada que genera ingreso a muchas familias no es solo la pesca si no también el sector agrícola, ya que la presencia de hidrocarburos en el suelo disminuye su fertilidad y retrasa el crecimiento de las plantas y los arboles reduciendo la producción de frutas.

2.6.3 Consecuencias sociales Amnistía⁷⁴, habla de que todos los seres humanos tienen derecho de contar con una alimentación adecuada y limpia, y como ha sido mencionado anteriormente los efectos del petróleo en el metabolismo y desarrollo de los animales, también se presentan en las personas al consumir alimentos que han sido contaminados indirectamente por un derrame de petróleo generando intoxicación/envenenamiento. Este tipo de casos se presentan cuando no se realizan las debidas indemnizaciones en las zonas afectadas y los debidos procesos de limpieza por parte de las compañías responsables.

San Sebastián⁷⁵, explica que en los procesos de extracción se han registrado alrededor de dos billones de barriles de petróleo y desechos tóxicos, que han sido dispuestos directamente en el medio ambiente sin ningún control afectando a las comunidades indígenas, campesinos y demás poblaciones cercanas al desastre, lo

⁷³ AMNISTÍA INTERNACIONAL.Op. cit., p. 30

⁷⁴ *Ibíd.*, p. 39- 40

⁷⁵ SAN SEBASTIÁN, Miguel. Informe Yana Curi: Impacto de la actividad petrolera en la salud de las poblaciones rurales de la amazonia ecuatoriana.Medicus mundi: Icara editorial., 2000. p. 13.

que genera protestas continuas por parte de grupos ecologistas que van en contra del continuo crecimiento de la industria petrolera por el aumento en los impactos negativos en el medio ambiente y en la salud de la población, principalmente por el mal manejo que se lleva por parte de las compañías operadoras y gobierno de cada país, que desafían a las comunidades a justificar si realmente la aparición de las enfermedades son consecuencia de la actividades petrolera.

Para Peres⁷⁶, el simple contacto humano con hidrocarburos, genera impactos fisiológicos en los humanos, que pueden ocasionar enfermedades respiratorias, cáncer o desorden el sistema central nervioso que han sido identificados por estudios físicos y mentales realizados en personas con más cercanía a los derrames, en especial los pescadores. Por eso, se realizó un censo de las personas afectadas y los principales problemas detectados fueron enfermedades respiratorias e irritaciones en la piel. Por esta razón, fue de vital importancia realizar estudios epidemiológicos en las personas para analizar los efectos de un derrame, en especial en los trabajadores presentes en las plataformas (onshore u offshore) que tuvieran contacto con el crudo, en estos estudios se detectó tos, presión en el pecho, dificultad para respirar, irritación en los ojos, congestión nasal, dolores fuertes de cabeza, erupciones en la piel, cansancio extremo por fatiga y descontrol visual.

Ordinioha⁷⁷, realizaron un estudio en Nigeria, demostró que un derrame de petróleo aumenta en un 45% el nivel de radiación lo que significa que la aparición de patógenos cancerígenos pueden aumentar significativamente, los cuales pueden aparecer años después del derrame. La ingesta, contacto dérmico e inhalación de los compuesto del derrame pueden traer implicaciones de salud bastante complejas, algunos de los síntomas transitorios que se presentaron en algunas personas fueron: malestar, dolor de cabeza, náuseas, diarrea, dolor en los ojos, dolor de garganta, tos, urticaria y erupciones, pero fue más grave aun cuando se presentaron algunos casos de falla renal severa, hepatotoxicidad y hematoxicidad en niños de aproximadamente dos años de edad. Este tipo de síntomas se presentaron por la presencia de metales pesados como se muestra en la tabla 5, que hacían parte de los componentes del petróleo derramado, que contaminaron la superficie del agua y parte de los alimentos de los cuales el hierro, zinc y cobre fueron inofensivos teniendo cuenta que estos son esenciales para el metabolismo del cuerpo humano pero la presencia de plomo, níquel, cadmio e hidrocarburos son altamente tóxicos para la salud.

⁷⁶ PERES, Lauren C, *et al.* The deepwater horizon oil spill and physical health among adult women in southern Louisiana: the women and their children's health (watch) study. En: Environmental health perspectives. Agosto, 2016. vol. 124, no. 8. p. 1208- 1213.

⁷⁷ ORDINIOHA, Best y BRISIBE, Seiyefa. The human health implications of crude oil spills in the Niger delta, Nigeria: An interpretation of published studies. En: Nigerian medical journal. Enero-Febrero, 2013. vol. 54, no. 1, p.13- 14.

Tabla 5. Concentraciones de metales pesados comúnmente encontrados en derrames de petróleo.

<i>Rastro mineral</i>	<i>Rango (mg/L)</i>	<i>Concentración promedio</i>	<i>Límite deseable</i>
<i>Hierro</i>	0.25- 0.36	0.31	*0.3
<i>Zinc</i>	0.02- 0.04	0.03	*3
<i>Cobre</i>	0.04-0.05	0.14	2
<i>Cromo</i>	ND- 0.08	0.053	0.05
<i>Magnesio</i>	0.12- 0.17	0.14	*0.4
<i>Níquel</i>	ND- 0.08	0.023	0.07
<i>Plomo</i>	ND- 0.01	0.005	0.01
<i>Cadmio</i>	ND- 0.08	0.023	0.003
<i>THC</i>	3.40- 6.20	4.93	-

Fuente. ORDINIOHA, Best y BRISIBE, Seiyefa. The human health implications of crude oil spills in the Niger delta, Nigeria: An interpretation of published studies. *En: Nigerian medical journal*. Enero-febrero, 2013. Vol. 54, no. 1, p. 12

Además, de las graves consecuencias en la salud de los humanos se presentan innumerables conflictos sociales donde los indígenas son casi siempre los protagonistas, debido a que las empresas petroleras invaden parte de su territorio para las construcción y montaje de los equipos necesarios para la explotación de un yacimiento (lo que requiere de varias hectáreas), pero el conflicto no es solo por el uso de los espacios sino que además la compañía operadora está en la completa obligación de contratar mano de obra (servicios generales) que sean parte de la comunidad y encargarse de mejorar el estilo de vida de la comunidad, es decir, deben construir centros educativos y viviendas que mejoren notoriamente la calidad de vida de la población más cercana. Si estos pactos sociales, no se cumplen la comunidad indígena o población más cercana está en todo su derecho de hacer todo lo posible por detener las operaciones petroleras hasta que no se cumplan sus peticiones, por supuesto, este tipo de situaciones no solo son representativas de Colombia sino de todos los países que no suplen las necesidades de la población afectada con la aparición de la industria petrolera. A pesar de que la simple aparición de estas actividades en un territorio genera controversia entre compañía – comunidad, el impacto de un derrame termina siendo desastroso para las dos partes, primero, la empresa dado que los gastos que deben retribuir por daños es altísimo ya que no solo se cubren gastos por impacto social si no también ambiental, y segundo, la comunidad porque su economía se ve gravemente afectada especialmente en zonas rurales donde su principal materia prima o recurso económico son los recursos naturales y si estos se ven afectados, la población puede entrar en una grave crisis económica.

Ahora, si se habla de Colombia, se puede nombrar un claro ejemplo de conflicto social y son los continuos atentados terroristas en los oleoductos que atraviesan el país por parte de los grupos armados al margen de la ley que generan derrames de petróleo y explosiones por emisiones de gases continuamente, generando disputas entre el estado y los grupos armados por los gastos y daños generados.

2.7 ETAPAS CRÍTICAS

Es de saber que la industria petrolera a través de los años, ha generado diversas controversias a nivel mundial por los impactos ambientales a gran escala que han generados gracias a sus operaciones mal administradas, ha sido señalada como una de las industrias que más mal ha ocasionado a la biodiversidad especialmente por la quema de combustible que es conocida como la principal causa del calentamiento global. Dichas operaciones o fases realizadas se clasifican en: exploración, perforación, producción, transporte, refinación y finalmente distribución o consumo; las cuales, para llevarse a cabo se debe hacer un cambio drástico en la zona (deforestación, extracción de especies a zonas más seguras y contaminación visual) con el fin de evitar la expansión de algún accidente como ejemplo, en caso de que se presente algún incendio por falla en la operación se va a mantener dentro de la zona deforestada ya que en incendio no podrá expandirse por la falta de vegetación y así mismo las especies no sufrirán las consecuencias.

La eliminación de la vegetación en algunas zonas no es tan relevante, el problema es más grande cuando esta industria hace presencia en zonas de alta vegetación como los con la cuenca amazónica, el sudeste asiático y mares tropicales donde generalmente se encuentran las reservas más grandes de petróleo o gas.

“Con frecuencia se cree que los impactos directos de la extracción petrolera pueden ser controlados con tecnología, y solo permanecen mientras dura el proyecto. Estudios sobre el destino ambiental del petróleo demuestran que aunque la toxicidad del crudo disminuye con la degradación (que puede ser biológica o física), este sigue siendo una fuente de contaminación y de toxicidad para los organismos presentes en un ecosistema por largo tiempo”⁷⁸.

Es de resaltar que el proceso que se lleva desde la exploración hasta la refinación o distribución, cuenta con puntos críticos, en donde existe más probabilidad que se presente una falla mecánica o humana y se genere un derrame de crudo al ambiente ya sea en agua o en tierra. En estas operaciones, es normal que se presenten diversos cambios y transformaciones como se muestran en la tabla 13, que toca el tema de contaminación e impactos a nivel ambiental, económico y social. Según Schmidt ⁷⁹, cuenta que en varios casos, los derrames generados en estas etapas se dan como consecuencia de un “blowout”, evento más preocupante que se pueda presentar en la industria, que genera efectos muy negativos a nivel

⁷⁸ DI TORO, D.M; McGRATH, J.A. y STUBBLEFIELD, W.A. Predicting the toxicity of neat and weathered crude oil: toxic potencial and the toxicity of saturated mixtures. En: Environmental toxicology and chemistry . 2007. vol. 26, no. 1, p. 24 – 36 citado por BRAVO, Elizabeth. Los impactos de la explotación petrolera en ecosistemas tropicales y la biodiversidad. En: Acción ecológica, Informe ejecutivo. Mayo, 2007. p. 4.

⁷⁹ SCHMIDT- ETKIN, Dagmar. Spill occurrences: a world overview. En: FINGAS, MERVIN F. Oil spill science and technology. USA, Fingas Mervin, 2011. p. 17- 23

económico y ambiental. Cabe resaltar, que a pesar de que no se presente un blowout en plataformas offshore, el agua del yacimiento que es bombeada hasta superficie, contiene trazas de petróleo que por más tratamiento que se le realice no quedara un 100% libre de crudo y esta finalmente será dispuesta al mar afectando a largo plazo el ambiente marino por la continua acumulación de las trazas en el fondo del mar que se filtraran en el suelo marino, es decir que, independientemente de si provoca un accidente el daño tendrá las mismas magnitudes si no se tiene un control constante durante todo el ciclo de vida del pozo.

Cuadro 8. Transformación a ecosistemas por etapa crítica de operación

Transformación a ecosistemas por etapa crítica de operación	
<i>Exploración</i>	Alteración de ecosistemas naturales y antrópicos por la construcción de vías de penetración y construcción de campamentos: tala, cambios en los cursos de agua, desestabilización de taludes naturales; procesos intensivos de colonización por la vías construidas para la exploración y en los alrededores de los campamentos; ampliación de la frontera agrícola facilitada por la apertura de vías; creación de expectativas económicas poco sólidas y a corto plazo; desconocimiento de la territorialidad indígena; pérdida de la identidad cultural y desarraigo.
<i>Explotación</i>	Vertimientos de agua contaminada y lodos a esteros y ríos; contaminación fuentes de agua superficial y subterránea por la disposición permanente de vertimientos salinos a los cuerpo de agua; vertimiento de aguas negras de los campamentos a la red hídrica; producción de ruidos intensos; hibridación cultural; violencia, inseguridad, proliferación de actores sociales al margen de la ley; ruptura del núcleo familiar y por ende del tejido social: prostitución, madres solteras, indigentes; subutilización del recurso petróleo en el ámbito regional; grandes riquezas naturales asociadas con altos índices de pobreza; pérdida del capital ambiental; pérdida de identidad cultural: desarraigo; cambios drásticos en la economía local: sobrepuestos en los productos de consumo más común; aparición de economías no formales.
<i>Transporte</i>	Alteración de los ecosistemas que son atravesados por los oleoductos; incendios por accidentes; generación de amezca permanente por la presencia superficial de oleoductos; crecimiento desordenado de ciudades y pueblos.
<i>Refinación</i>	Contaminación de aire por emisiones de gases y ruidos; contaminación termina y química del agua; alto consumo de agua en el proceso, lo cual implica su contaminación; inadecuada disposición de los grandes volúmenes de residuos sólidos; generación de amezca por la presencia de grandes volúmenes almacenados de combustibles inflamables; crecimiento desordenado de ciudades y pueblos; cambios drásticos en la economía local y sobrepuestos en los productos de mayor consumo.
<i>Consumo</i>	Expulsión de gases contaminantes y energía en forma de calor a la atmosfera: cambio climático global; generación de ruido.

Fuente: AVELLANEDA CUSARÍA, Alfonso. Petróleo, seguridad ambiental y exploración petrolera marina en Colombia. *En*: Iconos, revista de ciencias sociales. Enero, 2005. Vol. 9, no. 21, p. 14.

Schmidt⁸⁰, cuenta que desde la década de los años 70 ha habido una reducción de derrames a nivel mundial de un 60% hasta los años 90, y hoy en día esa reducción es más notable puesto que se ha incrementado la producción, distribución y

⁸⁰ *Ibíd.*, p. 19

tratamiento como se muestra en la tabla 6, donde se evidencia la tasa de derrames de petróleo anuales a nivel mundial en ambientes marinos hasta los años 90 como referencia actual.

Tabla 6. Tasa de derrames de petróleo anuales a nivel mundial en ambientes marinos

<i>Estimación promedio anual (toneladas)</i>			
Fuente	Años 70	Años 80	Años 90
<i>Tanques</i>	428.646	190.180	126.743
<i>Recipientes sin tanques</i>	2.735	23.811	10.248
<i>Tuberías</i>	59.087	36.744	85.664
<i>Facilidades</i>	66.067	58.047	35.655
<i>Exploración/producción offshore</i>	69.111	68.099	38.351
<i>Otros</i>	9.241	1.775	3.905
TOTAL	634.887	387.656	300.546

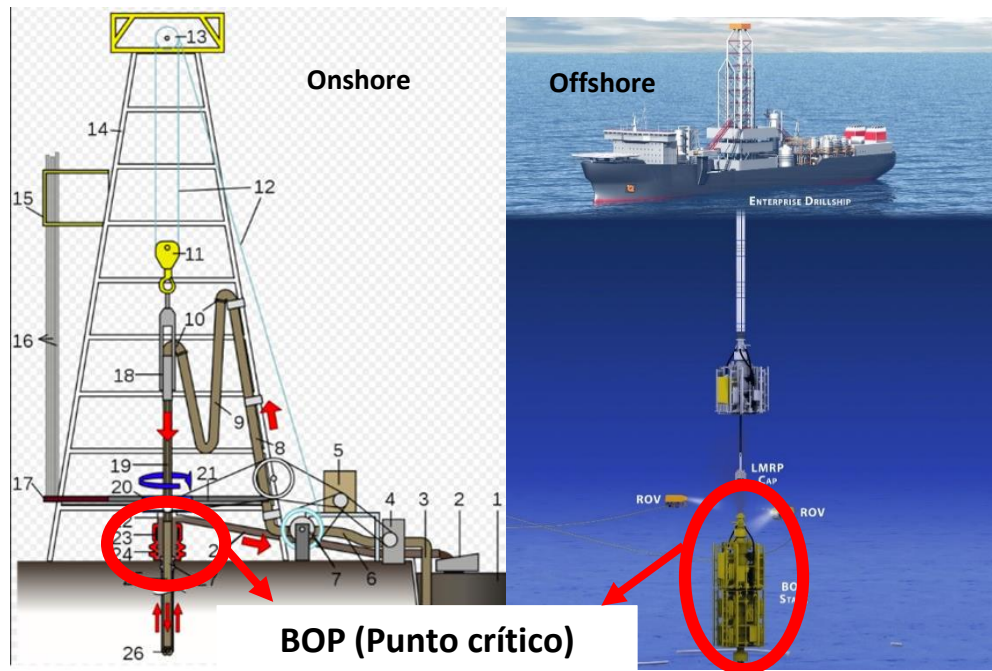
**Excluyendo los derrames ocasionados por la guerra*

Fuente. SCHMIDT- ETKIN, Dagmar. Spill occurrences: a world overview. En: FINGAS, MERVIN F. Oil spill science and technology. USA, Fingas Mervin, 2011, p. 1

2.7.1 Exploración Existen varios métodos de exploración (búsqueda de zonas ricas en hidrocarburos), como lo son los métodos de sísmica, gravimétrica, magnética, geofísica y geológica, a pesar de que todos los métodos son eficaces en cierta parte tienen un alto grado de incertidumbre por lo cual siempre se tendrá que perforar un pozo exploratorio para asegurarse de la existencia de un reserva que justifique todos las etapas posteriores, lo que incrementa el riesgo de que se presenten derrames cuando no se tienen los debidos controles de pozo en la actividad. Además, de la contaminación generada por la disposición de los fluidos de perforación al mar o en las piscinas cuando se lleva a cabo en zonas onshore que se utilizan para la perforación de este tipo de pozos.

Los pozos exploratorios se perforan con el fin de hallar un yacimiento productor, por lo cual se planifica con bajas probabilidades de certeza de encontrar el objetivo (petróleo o gas), es por esto que el equipo de perforación encargado de estos pozos debe contar con amplia experiencia y cumplir estrictamente los parámetros de seguridad, ya que el punto más crítico son las preventoras (BOP) como se muestra en la figura 15, si estos equipos no son de buena calidad o no se les ha hecho un mantenimiento adecuado las presión subterráneas pueden generar un explosión, sin hablar que es mucho más peligroso uso de preventoras en pozos exploratorios offshore por su difícil acceso y su gran tamaño como se ve en la figura 15.

Figura 15. Puntos críticos en pozos exploratorios onshore y offshore.



Fuente. TENARIS. Tubos de conducción offshore. Recuperado de: <http://www.tenaris.com/es-ES/Products/OffshoreLinePipe/Risers.aspx>

De todas las actividades o fases generadas en la industria petrolera, la exploración es la que menos probabilidad tiene de que se generen derrames de petróleo, siempre y cuando las compañías encargadas del proceso mantengan el control adecuado del pozo continuamente, así como el debido mantenimiento de los equipos subterráneos, sobre todo en áreas offshore.

2.7.2 Perforación Para Bravo⁸¹, una vez se inicia la perforación de pozos exploratorios, de alivio o de producción se genera una serie de desechos contaminantes (lodos) y cortes de perforación (lodo más roca triturada), que generalmente son tóxicos para el ambiente si no se manejan de la forma adecuada que pueden contener cierto grado de hidrocarburos. Los lodos que se emplean en esta etapa pueden ser base agua o base aceite (petróleo), utilizados para aumentar el pH y controlar la corrosión de los equipos. Cuando ocurre un derrame de lodo base aceite por mal control de presiones en pozo, hay un alerta ambiental, debido a que la presencia de este tipo de lodos que no solo vienen con presencia de hidrocarburos si no con una serie de aditivos altamente tóxicos (químicos) donde se visualizan cambios en los sistemas inmunológicos de algunas especies marinas inhibiendo su crecimiento y desarrollo, los puntos críticos donde más se presentan estas situaciones se muestran en la figura 16. En las zonas cercanas a las

⁸¹ BRAVO. Op.cit., p. 9

plataformas de perforación se han registrado altos contenidos de hidrocarburos en los tejidos de los peces, incidiendo en enfermedades hepáticas de los humanos que los consumen.

Aparte de los derrames, estos desechos son expuestos a cielo abierto en piscinas que no tiene ningún tipo de tratamiento, donde se acumulan grandes cantidades de desechos de alta toxicidad por lo cual son consideradas como un importante foco de contaminación, ya que si existe alguna filtración hacia el subsuelo, estos desechos migraran a través de él o se pueden desbordar por consecuencia de las lluvias constantes generando un impacto ambiental elevado.

Figura 16. Puntos críticos en actividades de perforación offshore y onshore

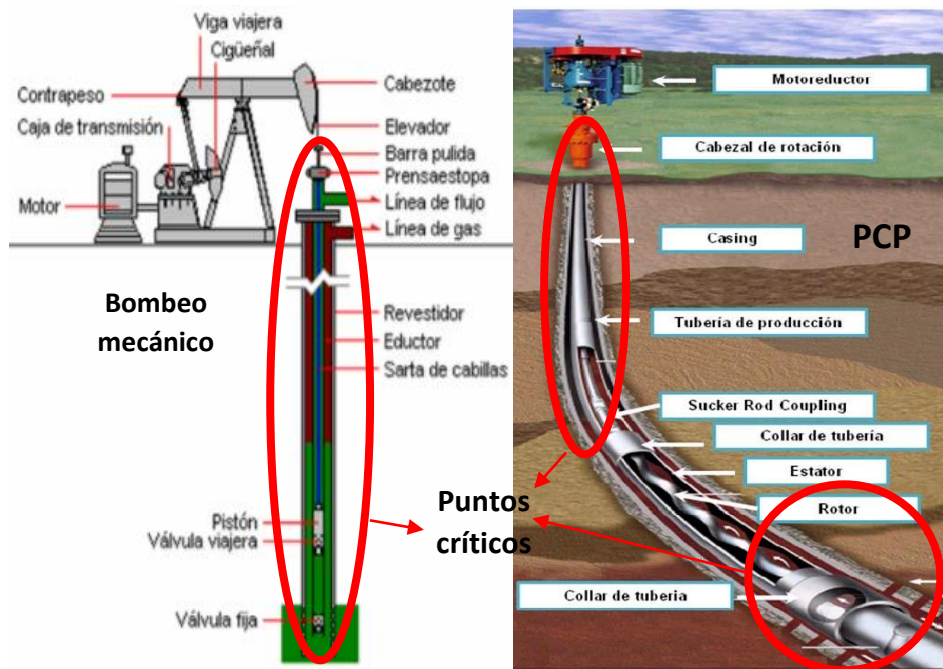


Fuente. OIL PRODUCTION. Drilling and production platform. Recuperado de: <http://oilproduction.net/files/offshore-PLATFORM-SMALLER.Pdf>

2.7.3 Producción Al iniciarse los procesos de producción, se debe entender que el ciclo de vida un pozo productivo lleva años, por lo que demanda de un mantenimiento y monitoreo constante para evitar alguna falla en las tuberías y equipos posteriores a la cabeza de pozo (superficie), en donde las presiones descontroladas pueden generar emisiones constantes o intermitentes de petróleo que contaminarían el subsuelo o el suelo/agua en superficie. Teniendo en cuenta que existen varios mecanismos de levantamiento artificial para ayudar en la producción del pozo, unos más eficientes y de fácil mantenimiento y otros más complejos (estos mecanismos son utilizados para ayudar al petróleo a salir a superficie cuando las presiones de fondo de pozo no son suficientes para llevarlo hacia arriba). En la figura 17, se puede ver el mecanismo de bombeo mecánico, este, es uno de los más útiles para el bombeo de crudos muy pesados (alrededor

de los 10^o API) para pozos onshore debido a que ocupan mucho espacio para ser implementados en plataformas offshore, adicionalmente muestra el mecanismo de cavidades progresivas (PCP) el cual puede ser instalado tanto en pozos onshore y offshore por el poco espacio que necesita, pero cabe resaltar que los equipos de subsuelo necesitan un especial cuidado y constante mantenimiento para evitar desgastes y fugas. En la figura 17, se observan los puntos críticos de los mecanismos expuestos.

Figura 17. Puntos críticos en mecanismos de producción bombeo mecánico y PCP



Fuente. PULIDO PARDO, Jorge Andrés. Evaluación técnico financiera del sistema de levantamiento artificial para un pozo piloto en yacimiento no convencional ubicado en el campo Llanura. Tesis para obtener el título de ingeniero de petróleos. Bogotá, 2017. Fundación universidad de América, p. 46.

2.7.4 Transporte y distribución Luego de la extracción del petróleo se procede a transportarlo hacia las unidades tratamiento (refinerías) y posteriormente a los consumidores (distribución) por medios de tuberías (oleoductos), tanques, camiones cisterna y buques, todas igualmente susceptibles a un derrame.

Para Schmidt⁸², Los buques puede transportar grandes cargas de petróleo (alrededor de 300.000 toneladas) y es la fuente que más se señala de ocasionar derrames de petróleo en el mar además de generar impactos severos en estos ecosistemas, ya que el difícil acceso a las zonas afectadas hace que la expansión

⁸² SCHMIDT- ETKIN.Op. cit., p. 24

del petróleo se incrementa rápidamente. En cuanto a las tuberías u oleoductos, que generalmente transportan petróleo refinado, diésel, gasolina y combustibles de aceite pesado tiene un promedio de derrame anual de 11.000 toneladas; este es un punto bastante crítico en un país como Colombia, donde los grupos armados al margen de la ley ocasionan constantes atentados en los oleoductos alrededor del país generando altos impactos ambientales y económicos para las comunidades cercanas.

Velázquez⁸³, explica que este tipo de eventos (tomando como ejemplo Colombia), se han generado en zonas del país con alta dificultad de acceso que impiden el desarrollo de métodos de vigilancia y control eficientes, estas situaciones generan un cambio significativo en la calidad del paisaje y servicios ecosistémicos (como lo son la regulación y cultura) para la vida rutinaria del ser humano.

“Debido a la amplia gama de productos derivados del petróleo que se manejan no ha sido posible evaluar cuantitativamente la contaminación involucrada desde la fase de explotación hasta la obtención de los petroquímicos básicos, ni del seguimiento a la infraestructura petrolera, sin embargo, se estima que hasta el 2006 las áreas afectadas han sido 6000 hectáreas de terrenos con potencial agrícola y pecuario”⁸⁴.

En la figura 18, se muestran dos formas de transporte de crudo, 1) Buque petrolero 2) oleoducto, los dos son críticos en cualquier punto ya que son los más susceptibles a derrames ya sea por fallas mecánicas, exceso de presiones o atentados terroristas.

Figura 18. Métodos de transporte de petróleo más susceptibles a derrames.



1) Buque petrolero

2) Oleoducto

Fuente. EL ESPECTADOR. Colombia exportará petróleo utilizando oleoducto ecuatoriano. En: Revista petróleo y gas, marzo, 2014. Recuperado de: <http://revistapetroleoygas.co/colombia-exportara-petroleo-utilizando-oleoducto-ecuatoriano/>

⁸³ VELAZQUEZ. Op. cit., 13-14

⁸⁴ *Ibíd.*, p. 15

2.7.5 Refinación Montero⁸⁵, el proceso de refinación se encarga de limpiar impurezas presentes en el fluido y separar ciertos componentes del petróleo extraído para proceder a la debida distribución de todos los derivados como lo son asfalto, coke, diésel, gas combustible, aceite combustible, gas oil, gasolina, combustible jet, queroseno, LGP (gas licuado de petróleo), lubricantes y azufre, por lo cual, la estructura de cada refinería depende exclusivamente del tipo de crudo que se va a tratar.

En este punto, los derrames generados se dan más por falta de monitoreo constante en los equipos, ya que en las refinerías se manejan valores de presión y temperaturas demasiado altas lo que hace que los equipos sufran un desgaste diario que puede ser corrosión por presencia de agua o agrietamiento de las paredes por filtración de sólidos que no fueron extraídos al comienzo del proceso, aumentando el nivel de riesgo de explosión en la unidad.

Schmidt⁸⁶, expone un promedio de 8,6 billones de toneladas de petróleo refinado importado y distribuido a zonas domesticas han sido derramados por consecuencia de malas operaciones en los proceso de tratamiento y mal mantenimiento en alguno de los equipos. La refinación de un crudo no solo contamina la atmosfera sino también la hidrosfera y litosfera por el contenido de emisiones de gas, líquido y sólido.

“Además del impacto producido en la vida silvestre, en otras palabras, todos los recursos bióticos, ya que los compuestos tóxicos encontrados en los efluentes gaseosos pueden participar en reacciones químicas con componentes naturales de la atmosfera, afectando los recursos abióticos como la destrucción de la capa de ozono, causando el calentamiento global, lluvias acidas o contaminación del suelo donde algunos compuestos permanecen por largos periodos de tiempo”⁸⁷. Este tipo de emisiones pueden afectar considerablemente la población más cercana a la refinería, estos riesgos son:

- Probabilidad de cáncer en humanos.
- Aparición de otras enfermedades en humanos y animales.
- Bioconcentración de compuestos químicos de peces.
- Riesgo de toxicidad crónica y agua en peces.

En la figura 19, se puede observar un esquema de instrumentación general de una facilidad de producción en el que cada punto del proceso es crítico, ya que el no

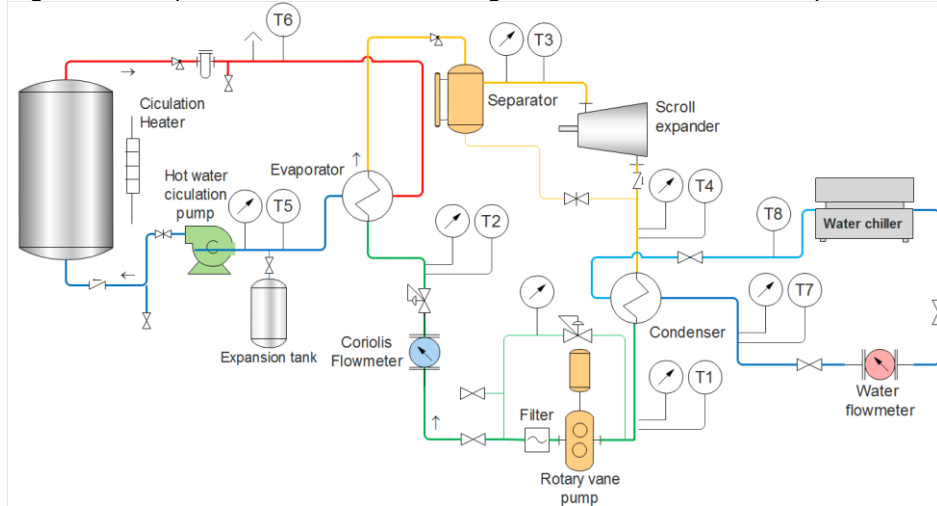
⁸⁵ MONTERO, Gisela. Toxicity and pollution facto: a proposal to evaluate the gaseous refinery emissions. En: Industrial pollutions including oil spills. New York: Harry Newbury y William De Lorne, 2009. p. 3- 6.

⁸⁶ SCHMIDT- ETKIN. Op. cit., p. 30

⁸⁷ MONTERO. Op. Ccit., p. 7

tener monitoreados los equipos constantemente y realizar un mantenimiento adecuado puede reducir el ciclo de vida y generar accidente como fugas o explosiones.

Figura 19. Esquema de instrumentación general de una facilidad de producción.



Fuente. FLEISCHER, Amy. College of engineering. Desing and construction of an organic Rankine cycle (ORC) for data center applications. En: Villanova university, college of engineering. Recuperado de: <https://www1.villanova.edu/villanova/engineering/research/Faculty/novatherm/research-projects/orc.html>

3. DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO DE BIODEGRADACIÓN MICROBIOLÓGICA

El método de biodegradación es uno de las muchas estrategias ambientales que se han creado para disminuir los impactos generados en la industria petrolera que sean compatibles con el ambiente, es decir, que los organismos que realizan el proceso de degradación de hidrocarburos son pertenecientes al ecosistema afectado, para que de esta forma no se vean impactados la flora y la fauna.

Pero Loya del Ángel⁸⁸, expresa que mucho antes de que la biodegradación fuera parte de la remediación de zonas contaminadas, se realizaban tratamientos fisicoquímicos y térmicos. De manera muy general, los tratamientos fisicoquímicos son los que utilizan todas las propiedades físicas y químicas de los contaminantes (en este caso petróleo) para lograr destruir y separar el contaminante del medio afectado y los tratamientos térmicos se realizan mediante el uso de calor que ayuda a incrementar la volatilización, esto aumenta las posibilidades de separación debido a que disminuye la viscosidad del petróleo y así sea mucho más fácil la remoción del medio contaminado por medio de quema y descomposición. Pero a pesar de que daban un resultado satisfactorio, en cuanto a la eliminación del contaminante se observaba que los impactos generados por la aplicación de los mismos aumentaban significativamente, puesto que la fauna se veía fuertemente intoxicada y la vegetación se perdió por consecuencia de las quemaduras, ya que los animales presentaban síntomas graves de intoxicación por ingesta de varias sustancias tóxicas o muerte a causa de la quema. Por esta razón, se pensó en la implementación de métodos biológicos que se llamó “biodegradación”.

Ahora bien, esta técnica de biodegradación se realiza gracias a la selección de una gran variedad de microorganismos (bacterias, algas, hongos, cianobacterias y actinomicetes) que se encargan única y exclusivamente de degradar el hidrocarburo derramado convirtiéndolo en energía alimenticia para el manejo de su metabolismo, lo que finalmente convertirán en dióxido de carbono, es un proceso que toma un periodo de tiempo más prolongado que los métodos convencionales (térmico y fisicoquímicos) pero que en muchas ocasiones han mostrado una gran mejoría en el aspecto de la zona afectada, este teniendo en cuenta que los gastos son mucho más bajos debido a que estas bacterias se obtienen por lo general de la misma zona impactada con el fin de que no modifique los procesos biológicos del ecosistema. De hecho, este método es el más utilizado a nivel mundial en casos de contaminación ambiental por fluidos tóxicos, pero como todo procedimiento científico tienen cierto porcentaje de incertidumbre, y esta no es la excepción por lo cual presenta ventajas y desventajas como se ve en el cuadro 9.

⁸⁸ LOYA DEL ÁNGEL. Op. cit., p. 26-28

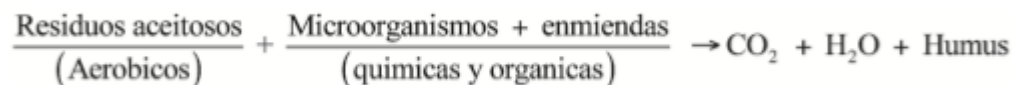
Cuadro 9. Ventajas y desventajas de la biodegradación.

VENTAJAS	DESVENTAJAS
Originan cambios mínimos en el ambiente en comparación con la aplicación de desemulsificantes	Para muchos tipos de vertidos no se ha podido comprobar su efectividad
Cuando se usa adecuadamente no produce efectos adversos	Es complejo la aplicación en el mar, por temas de accesibilidad.
Ofrece una solución más simple y completa que las tecnologías mecánicas	El tiempo para su actuación es largo
Representa el 30% o 40% del costo del tratamiento químico, la incineración o el relleno industrial.	Su implementación varía según el área a tratar, por lo que se requiere de información específica del lugar de las características del vertido.

3.1 FACTORES Y REQUISITOS QUE AFECTAN LA APLICACIÓN DE LA BIODEGRADACIÓN

Según Trujillo⁸⁹, la aplicación del tratamiento de biodegradación normalmente genera reacciones químicas gracias a los parámetros climáticos presentes como lo son la radiación solar, la humedad y el viento de la zona de estudio como se muestra en la ecuación 1, donde los microorganismos utilizados cambian las propiedades orgánicas de los hidrocarburos en CO₂, H₂O y humus.

Ecuación 1. Reacción química formada por la interacción de parámetros climáticos y microorganismos



Fuente. TRUJILLO TORO, María Alejandra y RAMÍREZ QUIRAMA, Juan Fernando. Biorremediación en suelos contaminados con hidrocarburos en Colombia. En: Revista de investigación agraria y ambiental. Julio- diciembre, 2012. Vol. 3, no. 2, p. 39

3.1.1 Factores que influyen en la implementación de la biodegradación Para Trujillo⁹⁰, los principales factores que puedes afectar el proceso de biodegradación son:

⁸⁹ TRUJILLO TORO, María Alejandra y RAMÍREZ QUIRAMA, Juan Fernando. Biorremediación en suelos contaminados con hidrocarburos en Colombia. En: Revista de investigación agraria y ambiental. Julio- diciembre, 2012. vol. 3, no. 2. p.39.

⁹⁰ *Ibíd.*, p. 40

- **Inoculación:** Que se encarga de añadir las bacterias a la zona contaminada, que al ser mayor se hará un mejor provecho a la especie utilizada.
- **Ambiente:** Puede modificar el tratamiento, ya que puede alterar factores como la temperatura, oxígeno, los nutrientes, pH y salinidad en agua.
- **Niveles de oxígeno:** Todos los procesos deben ser aerobios preferiblemente para beneficiar la calidad de vida de las bacterias sobre todo en la limpieza de suelos contaminados y así los resultados serán más altos y en menor tiempo.
- **Oxígeno disuelto:** Es importante mantener ciertos niveles de oxígeno cuando se está realizando el tratamiento en agua para evitar que las bacterias aerobias mueran.
- **Nutrientes:** Para mayor eficiencia y efectividad del tratamiento, es importante mantener los nutrientes (nitrógeno, fósforo y hierro) en relaciones 120:10:1 respectivamente.

Pero adicionalmente Adams⁹¹, habla de algunas limitaciones como se muestra en el cuadro 10, que tiene la biodegradación con respecto a la facilidad que tiene de degradar ciertos tipos de hidrocarburos (por ejemplo, la gasolina y el diésel se biodegradan fácilmente pero los hidrocarburos poli aromáticos son altamente complejos de degradar) que afectan el ataque de las enzimas bacterianas.

3.1.2 Requisitos para una buena eficacia del tratamiento en suelo y agua

Adams⁹², opina que hay que tener en cuenta los siguientes requerimientos para que la aplicación de la biodegradación sea completamente eficiente:

- **Tipo de hidrocarburos:** Como ya se ha mencionado anteriormente uno de los requisitos más importantes es identificar el tipo de hidrocarburo derramado para poder determinar que microorganismos son los adecuados para que se realice un proceso de degradación exitosa. Por eso, es necesario entender que la biodegradación se comporta mejor, más rápido y con menos complejidad en términos científicos en combustibles, lubricantes y petróleo crudo; pero es más complicado en presencia de aceite hidráulico, hidrocarburos con alta viscosidad o hidrocarburos contaminados con otros compuestos, tales como metales y/o plaguicidas.

⁹¹ ADAMS. Op, cit., p. 167- 168

⁹² Ibíd. p. 163

Cuadro 10. Factores que limita la aplicación de la biodegradación.

FACTOR	OBSERVACIÓN	RESOLUCIÓN
Concentración alta de hidrocarburos pesados.	Área superficial disponible al ataque enzimático bajo.	<ul style="list-style-type: none"> • Incrementar período de tratamiento. • Incorporar emulsificantes en el proceso de tratamiento. • Emplear una biorremediación en lodos en forma de land farming.
Contaminación de metales pesados	Metales pesados no son biodegradables.	<ul style="list-style-type: none"> • Determinar si las concentraciones residuales de metales son aceptables por análisis de riesgo. • Emplear biorremediación como pretratamiento en una tecnología de aislamiento.
Concentraciones tóxicas de hidrocarburos ligeros.	Los hidrocarburos de bajo peso molecular presentan propiedades de solventes que disuelven membranas celulares de bacterias.	<ul style="list-style-type: none"> • Volatilizar el suelo del sitio antes del inicio del tratamiento por biorremediación. • Diluir suelo altamente contaminado con suelo poco contaminado o nativo no contaminado.
Suelo o sedimento de textura fina	Intercambio bajo de gases puede resultar en condiciones anaeróbicas y reducir la tasa de reacción.	<ul style="list-style-type: none"> • Incorporar materiales de baja densidad (arena, paja, turba, etc.). • Emplear una biorremediación en lodos en vez de forma sólida, en forma de land farm.

Fuente. ADAMS.S, Randy H; DOMÍNGUEZ.R, Verónica I y GARCÍA. H, Leonardo. Potencial de la biorremediación de suelo y agua impactados por petróleo en el trópico mexicano. En: Terra. Marzo-junio, 1999. Vol. 17 no. 2, p.168.

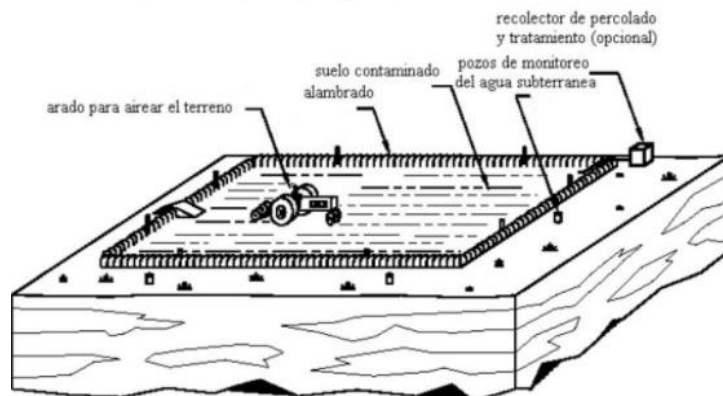
- **Tipo de material:** En este caso se refiere al tipo y textura de suelo, donde se comporta mejor en texturas medianas con un alto contenido de materia orgánica y más complejo en texturas demasiado arcillosas.
- **pH:** Caracteriza las propiedades químicas del suelo donde se genera el derrame, por ejemplo, en zonas pantanosas el suelo representa un pH ácido (entre 4 y 6) lo cual no representa problema si se emplean bacterias nativas.
- **Salinidad:** Este factor es muy variable, por decir, si el derrame se presenta en un ecosistema de manglares es muy fácil utilizar bacterias nativas adaptadas a las circunstancias ya que el agua de estas zonas tiene muy baja salinidad y las bacterias tienen una mejor activación. A diferencia de aguas marinas, donde se

presentan altos rangos de salinidad lo que dificulta la sobrevivencia de las bacterias en el medio.

- **Aireación:** Para este tratamiento es de vital importancia mantener condiciones aerobias en la zona a descontaminar, puesto que la biodegradación en zonas anóxicas disminuye en tasas aproximadas de 50 a 100 veces menos que la aeróbicas. Así que, esta aireación requerida se logra implementando buenos sistemas de drenaje y equipos que mantengan el suelo aireado constantemente (como mínimo cada tres días).
- **Lixiviados:** Contar con buenos equipos para recolección de lixiviados (residuos) especialmente en las técnicas de land farming de zonas tropicales debido a las fuertes lluvias que se pueden presentar que generan inundaciones devastadoras de las celdas de tratamiento. **Techo:** En las técnicas land farming (en suelo) es necesario contar con un techo sobre las celdas para evitar las inundaciones por lluvias.
- **Nutrientes:** Es sustancial mantener la concentración de los nutrientes en un rango de 100 ppm de nitrógeno, >10 ppm de fósforo y >1 ppm de potasio.
- **Temperatura:** La biodegradación funciona favorablemente en temperaturas que van de los 5° a los 40°C, pero es mucho más eficaz en temperaturas de 30 a 35° C.
- **Bacterias nativas:** Estas bacterias traen grandes beneficios a nivel ambiental y económico a la hora de implementar el tratamiento, ya que estas ya están acondicionadas a las características de la zona.
- **Acondicionadores:** Se hace uso de materiales como paja, arena, cascara de nuez, entre otros para mantener un buen drenaje y mantenimiento de la humedad de las celdas usadas en tratamientos de suelos contaminados.
- **Humedad:** Es crucial mantener en rangos adecuados la humedad de las celdas land farming alrededor de un 50 o 75% de la capacidad de la zona a tratar.

Como se evidencia en los requisitos, la mayoría va dirigida a las técnicas de land farming, algunos de estos, se pueden observar en la figura 20, donde se muestra un esquema general de la preparación y mantenimiento del suelo para adecuarlo a una celda.

Figura 20. Esquema de preparación de suelo para celda land farming



Fuente. US Environmental Protection Agency (EPA). How to evaluate alternative cleanup technologies for underground storage tank sites: A guide for corrective action reviewers. 1994. Recuperado de: http://www.epa.gov/oust/pubs/tum_ch5.pdf.

3.2 TECNOLOGÍAS DE BIODEGRADACIÓN

Es importante comentar que la biodegradación cuenta con las siguientes técnicas de implementación biológica, unas más efectivas en suelo, otras en agua dependiendo de sus características físico- química:

- **Landfarming:** es la preparación del suelo por medio de excavaciones donde se construyen celdas especiales para exponer las bacterias que fueron entrenadas en laboratorio en la zona contaminada, con el fin de que estas puedan actuar de manera natural en el subsuelo y puedan seguir con su ciclo metabólico normal mientras degradan el petróleo. Para Jacome y Bravo⁹³, esta técnica se destaca por el uso de bacterias nativas que realizan la descomposición del petróleo de forma aeróbica para la descontaminación exclusiva de suelos. Este, es el método más utilizado a través de los años, ya que es el que mejor resultados ha mostrado científicamente, pero a pesar de que es un mecanismo que es útil en aplicaciones exsitu e insitu, en el que las bacterias implementadas o cultivadas logran la oxidación biológica de los hidrocarburos derramados es necesario estimular los grupos microbianos mediante bioestimulación o aumentación cuando son ecosistemas con características complejas.

⁹³ ARBOLEDA JACOME, Viviana Gabriela y BRAVO BASANTES, Verónica Mercedes. Biorremediación del suelo contaminado con hidrocarburos de la central hidroeléctrica del campamento Secoya mediante landfarming. Trabajo de grado Ingeniería en biotecnología ambiental. Riohamba, Ecuador: Escuela superior politécnica de Chimborazo, facultad de ciencias. Escuela de ciencias químicas. 2008. p. 32

- **Tapetes microbianos:** Para Martínez y Gaju⁹⁴, este tipo de biodegradación se caracterizan por contener y mantener microorganismos aerobios y anaerobios, lo que lo convierten en un ecosistema artificial donde pueden adaptarse bacterias bastante complejas con gradientes de luz, presencia de oxígeno, presencia de ácido sulfhídrico y potencial de oxidación- reducción, que ha mostrado excelentes resultados en la degradación de hidrocarburos en todo tipo de agua contaminada; eso sí con un limitante y es que dichos tapetes solo son aplicables en la superficie de la capa agua afectada por lo cual actúan en profundidades de pocos milímetros.

Estos dos tipos de biodegradación anteriormente expuestos, son las técnicas que nivel mundial y a través de la historia han mostrado porcentajes de efectividad bastante altos, pero a pesar de que son muy eficaces a veces es necesario el uso de métodos que ayuden a acelerar los procesos de degradación de los hidrocarburos, ya que en varias ocasiones las características de los ecosistemas a tratar son bastante complejas y no ayudan con la activación microbiana. Para Lors y Mamindy- Pajandy⁹⁵, las prácticas para estimular su crecimiento y adaptación son:

- **Bioamuntación**, es el proceso mediante el cual se ayuda a las bacterias con el ingreso de bacterias comerciales o externas, que ya han sido adaptadas y aisladas para degradar suelos o aguas contaminadas.
- **Bioestimulación**, consiste en estimular la bacterias nativas que fueron extraídas de la zona contaminada, que se puede activar por adición de oxígeno, agua y varios nutrientes (fósforo y nitrógeno) conociendo las características químicas del suelo o el agua a tratar.
- **Biovolatilización**, este proceso de basa en la degradación de metales pesados, especialmente el mercurio altamente toxico, como es de saber todo compuesto que provenga de subsuelo (petróleo, agua y sedimentos) suele estar contaminado con este tipo de metales lo cual complica aún más su tratamiento.
- **Biorreactores**, es un recipiente que introduce los materiales afectados junto con agua, nutrientes y cultivos altamente densos de microorganismos, en donde se genera la desintegración del petróleo gracias a las enzimas presentes. Estos recipientes son generalmente implementados en laboratorio para lograr la adaptación de las bacterias antes de exponerlas en el ambiente.

⁹⁴ MARTÍNEZ, Alonso y GAJU, N. Op.cit., p. 83- 84.

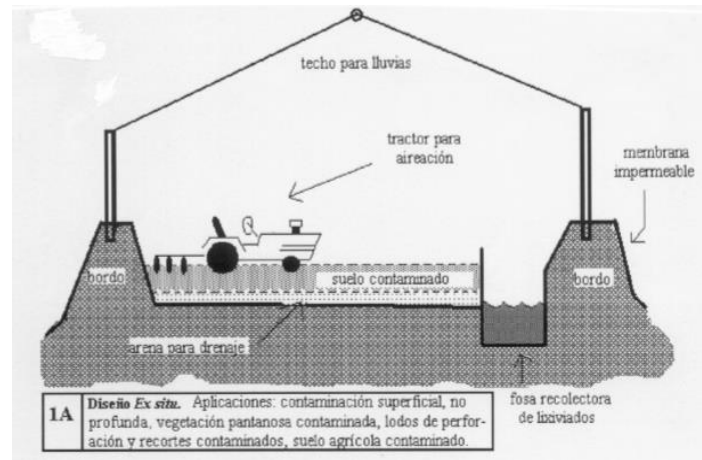
⁹⁵ LORS, Christine y MAMINDY- PAJANDY, Yannick. Bioremediation of heavy metals in sediments. En: VELÁZQUEZ FERNÁNDEZ, Jesús Bernardino y MUÑIZ HERNÁNDEZ. Bioremediation: processes, challenges and future prospects. New York, 2014 p. 11. ISBN: 978-1-62948-515-7 (Ebook)

- **La biofiltración**, que se encarga de limpiar el aire contaminado por medio de reactores biológicos donde actúa flora bacteriana que al igual que la biodegradación eliminan contaminantes volátiles y los convierten en dióxido de carbono, agua o biomasa. Este tipo de filtración, se encuentra dentro de los biorreactores para atrapar y recolectar los componentes degradados para exponer al ambiente los residuos mínimamente tóxicos.
- **La bioaspersión**, une el efecto de ventilación con el uso de microorganismos nativos, donde el aire y los nutrientes se inyectan para mejorar la acción de las bacterias, esta técnica es muy usada en suelo y aguas subterráneas contaminadas.

3.2.1 Formas de aplicación de las tecnologías

3.2.1.1 Exsitu Este tratamiento consiste en realizar una excavación, de grado o procesos de remoción de la zona a tratar que se efectúan con la ayuda de celdas land farming, biorreactor, biosuspensión, bioceldas o biopilas. Esta remoción se realiza antes de aplicar el tratamiento que se puede llevar a cabo en la misma zona (onsite) o fuera de la zona (off site). En la figura 21, se puede observar como es la preparación del terreno contaminado y como son las instalaciones y equipos necesarios antes de implementar el tratamiento, en la cual se cumplen los requisitos exigidos como el techo para la protección de las celdas, el tractor que se encarga de realizar la aireación del suelo constantemente, la arena para drenaje que cumple la función de los acondicionadores, cuenta con una zona de recolección de lixiviados y con una membrana impermeable para evitar la entrada de aguas lluvias.

Figura 21. Diseño general estructural de tratamiento exsitu.

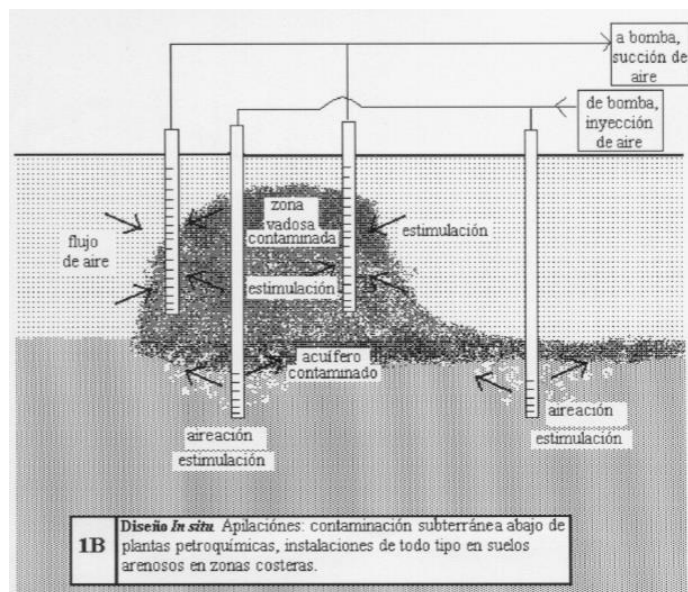


Fuente. ADAMS.S, Randy H; DOMÍNGUEZ.R, Verónica I y GARCÍA. H, Leonardo. Potencial de la biorremediación de suelo y agua impactados por petróleo en el trópico mexicano. En: Terra. Marzo- junio, 1999. Vol. 17 no. 2, p. 166.

3.2.1.2 Insitu Para Trujillo⁹⁶, este tipo de tratamiento se lleva a cabo sin necesidad de crear una excavación en la zona contaminada y a diferencia del tratamiento exsitu solo se puede ejecutar en el mismo lugar afectado (onsite). Normalmente, este tratamiento es el más adecuado y efectivo para la recuperación de la zona contaminada puesto que no se necesita modificar al terreno, siempre y cuando se haya realizado debidamente los estudios de impacto ambiental, se hayan tenido en cuenta las industrias cercanas que puedan resultar afectadas, los costos de inversión, el difícil acceso a la zona y la velocidad del proceso dependiendo de extensión que alcance el contaminante. En la figura 22, se puede observar la estructura general y los equipos utilizados para el tratamiento insitu de un acuífero contaminado, que cuenta con una tubería que comunica con la bomba de inyección de aire para realizar la aireación necesaria del suelo y una zona de estimulación para el crecimiento y mantenimiento adecuado de las bacterias.

⁹⁶ TRUJILLO. Op.cit., p.41

Figura 22. Diseño general del tratamiento insitu.



Fuente. ADAMS.S, Randy H; DOMÍNGUEZ.R, Verónica I y GARCÍA. H, Leonardo. Potencial de la biorremediación de suelo y agua impactados por petróleo en el trópico mexicano. *En*: Terra. Marzo- junio, 1999. Vol. 17 no. 2, p. 166.

En el cuadro 11, se presenta de forma más específica las diferencias más relevantes que presentan los dos tratamientos, como en qué zonas es mejor realizar la aplicación, los procesos que se llevan a cabo en cada uno, limitaciones, observaciones, ventajas y desventajas.

Cuadro 11. Comparación de tipos de aplicación de biodegradación.

	EXSITU	INSITU
APLICACIÓN	Contaminación superficial, no profunda, variedad de materiales.	Contaminación profunda, debajo de edificios, pavimento, etc.
PROCESOS	Controlar las condiciones en una celda o biorreactor para optimizar la biodegradación.	Modificar las condiciones en el subsuelo para optimizar la biodegradación.
VENTAJAS	Mejor control de condiciones.	Menos costosa que exsitu para la contaminación a profundidad, y se puede usar debajo de las instalaciones.
DESVENTAJAS	Puede ser más costosa que insitu.	Control de las condiciones es más difícil y depende mucho de las condiciones subterráneas.

Cuadro 11. (Continuación)

LIMITACIONES	Casi sin limitaciones.	Mucho más difícil en suelos muy arcillosos y con hidrocarburos muy viscosos.
OBSERVACIONES	Típicamente se hace en celdas de fase sólida o "land farm". Para contaminación superficial de vegetación pantanosa contaminada, algunos lodos de perforación y recortes contaminados, suelo agrícola contaminado.	Mejor para contaminación subterránea debajo de plantas petroquímicas. Muy útil para contaminación subterránea cerca de pozos petroleros y otras instalaciones petroleras en suelos arenosos en zonas costeras.

Fuente. ADAMS.S, Randy H; DOMÍNGUEZ.R, Verónica I y GARCÍA. H, Leonardo. Potencial de la biorremediación de suelo y agua impactados por petróleo en el trópico mexicano. En: Terra. Marzo-junio, 1999. Vol. 17 no. 2, p. 165

3.3 IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS

Adams⁹⁷, manifiesta que para iniciar el proceso de biodegradación se realizan las llamadas pruebas de factibilidad, donde se realizan estudios detallados de la zona afectada para lograr identificar sus propiedades físicas y así poder establecer las condiciones técnicas del tratamiento que se va a llevar a cabo, también ayudaran a reducir contratiempos y aumentos de costos de inversión. Por lo tanto, se evalúan los siguientes aspectos:

- Características físico químicas de la zona o material a tratar (suelo, agua, sedimento, lodo) y del contaminante (hidrocarburo). Que se basa en determinar las propiedades más relevantes para llevar a cabo la biodegradación (pH, conductividad, textura, carbono orgánico, nutrientes inorgánicos tales como el nitrógeno, fósforo, potasio, calcio y magnesio, tipo, concentración y toxicidad del hidrocarburo. La toxicidad se evalúa por medio de la prueba Microtox, la cual hace uso de bacterias marinas bioluminiscentes para posteriormente determinar la dosis adecuada para calcular la toxicidad.
- Identificación del potencial de microorganismos existentes en la zona para degradar los hidrocarburos. Dicho potencial microbiano, se puede determinar rápidamente y reconocer los organismos que se encuentran activos para definir el tiempo necesario para tratar la zona.
Estas pruebas se realizan en fase líquida con la adición de solo un poco del hidrocarburo en cuestión a una muestra que contiene cierta cantidad de nutrientes inorgánicos en una alta concentración. En esta mezcla se le agrega una muestra representativa de suelo afectado para luego agitarla para lograr la

⁹⁷ ADAMS. Op. cit., p. 162- 163

aireación adecuada, y de esta manera se mide continuamente el crecimiento de los organismos por espectrometría. Este proceso ayuda a identificar si las bacterias nativas seleccionadas tienen la capacidad suficiente de degradar los hidrocarburos derramados y que tan rápido es su crecimiento (rápido o lento).

Todo este análisis intensivo, se realiza con el fin de simular las condiciones reales del área afectada en un laboratorio.

3.3.1 Pruebas de identificación para suelos contaminados Conforme a Adams⁹⁸, el proceso que se realiza para la identificación de microorganismo cuando se trata de suelo contaminado por hidrocarburos consiste en colocar una muestra de suelo con nutrientes nativos o comerciales (por lo general se hace el estudio en base a bacterias nativas a no ser que estas muestren poca efectividad en la limpieza se implementan las comerciales) en un recipiente, seguidamente se realiza la aireación y humedad pero esta vez de forma manual. Para mejor seguridad, se utilizan varios recipientes con muestras de suelo pero con diferentes microorganismos para comparar y estudiar sus comportamientos en cada escenario, por lo que periódicamente se toman registros de que tanto ha disminuido la concentración del hidrocarburo, su toxicidad, nutrientes restantes, pH y la actividad microbiana.

Este estudio en especial de suelos, es mucho más costoso y pausado que los realizados en agua.

Trujillo⁹⁹ plantea que, para este tratamiento realizado en suelos se deben tener en cuenta los siguientes procesos que son necesarios para entender el proceso de biodegradación:

- Tener en cuenta que la biodegradación es un proceso natural realizado por bacterias que modifican moléculas orgánicas convirtiéndolas en otras sustancias como ácidos grasos y CO₂.
- Entender que la biodegradación se basa en la biorremediación, que define la aplicación de tratamientos a ecosistemas afectados con el fin de acelerar los procesos naturales de biodegradación.
- La adición de los nutrientes en un suelo contaminado como lo son nitrógeno o fósforo, ayudan a activar el crecimiento de las bacterias nativas, este proceso se conoce como fertilización.

⁹⁸ Ibid., p. 163

⁹⁹ TRUJILLO. Op.cit., p.39.

- Por último, se realiza la inoculación, que se define por ser la encargada de agregar las bacterias junto con nutrientes a un área contaminada.

Adicionalmente, “Es muy importante mantener el suelo en condiciones aerobias, porque la transformación de los hidrocarburos del petróleo en condiciones anaerobias es muy lenta o algunas veces inexistente”¹⁰⁰.

3.3.2 Pruebas de identificación para agua contaminada Básicamente las pruebas que se realizan en aguas contaminados por hidrocarburos derramados, es muy similar a la que se lleva a cabo en suelos. Se toman muestras de agua que presentes mayor concentración de hidrocarburos, y se ponen en contacto con gran variedad de microorganismo encontrados en la misma, la aireación se realiza con un agitar automático programado para que simule la turbulencia y movimiento de las corrientes presentes. Se mide contantemente el descenso de la contracción de hidrocarburos, su toxicidad, pH, viscosidad, densidad y tasa de crecimiento microbiano. Por supuesto es un procedimiento mucho más sencillo, puesto que el agua con sus propiedades de solubilidad facilita la aplicación del tratamiento y la expansión de las bacteria en la zona, aunque su costo puede variar según la extensión dela rea afectada y el tipo de agua (rio, mar o acuífero en general las condiciones tropicales).

Cabe resaltar que no todas las compañías que no están dispuestas a asumir los costos relacionados con estudios tan profundamente científicos y realizan estos procedimientos de identificación de manera empírica basándose en procesos que se han realizado en diferentes escenarios donde se han presentado derrame de hidrocarburos y que han funcionado correctamente. Pero en varias ocasiones se han presentados errores por falta de experiencia del personal o mal manejo de los equipos, que han dado un mal resultado a la hora de implementar el tratamiento, como el no logro de disminución de las concentraciones de hidrocarburos a nivel especificado por las autoridades ambientales lo que hace que los proyectos se retrasen.

3.4 USO DE PSEUDOMONAS EN TRATAMIENTO DE BIODEGRADACIÓN

Según pruebas científicas por Sulbarán¹⁰¹, la implementación de la biodegradación se hace gracias al uso de biosurfactantes, los cuales son productos del trabajo de los microorganismos (bacterias como las Pseudomonas), que presentan altas capacidades y características similares a los surfactantes químicos con la diferencia que son tomadas del lugares contaminado y su proceso es completamente natural ya que no causa más daños al ecosistema impactado como si lo hacen los químicos.

¹⁰⁰ ADAMS. Op. cit., p. 162

¹⁰¹ SULBARÁN MORA, Miguel, *et.al.* Caracterización de biosurfactantes producidos por Pseudomonas fluorescentes aisladas de emulsiones de petróleo pesado. En: Ciencia. Abril- junio, 2005. vol. 13, no. 2, p. 228.

Loya del Angel¹⁰², dice que las Pseudomonas son microorganismos pertenecientes al grupo bacteriano de las gram negativas y al subgrupo de las Proteobacterias, de forma oblicua que producen de manera natural biosurfactantes como lo son los ramnolipidos que son utilizados industrialmente para la degradación de aceites. Estas bacterias tienen tres subdivisiones que son las Pseudomonas aeruginosas, putidas y fluorescens.

- **Pseudomona Aeruginosa:** Este tipo de Pseudomonas se le han realizado varios estudios científicos donde a pesar de ser una opción de biodegradación del petróleo puede ser altamente peligroso para los seres humanos con problemas inmunológicos. Estas, son protagonistas de la degradación de varios sustratos como el n-hexadecano, hidrocarburos aromáticos y poli aromáticos. Su proceso de degradación se da gracias a que tienen la capacidad de sintetizar los ramnolipidos (biosurfactantes) cuando se encuentran en una fase estacionaria de su crecimiento, este proceso solo se puede dar en la primera parte de la biorremediación y así se logra solubilizar el hidrocarburo presente en la fase de mineralización.
- **Pseudomona putida:** Son saprofitos de suelo (organismos que se caracterizan por nutrirse de residuos que provienen de otros organismos como hojas muertas, cadáveres o excremento) que no presenta dioxigenasa (enzima que oxigena un sustrato por medio de oxígeno) lo que la hace una buena candidata para aplicaciones de biotecnología como la biorremediación.
- **Pseudomonas fluorescens:** Se encarga de descomponer químicamente naftalenos y fenantrenos, lo que las convierte en los microorganismos más aislados de la fase de degradación de TPH (hidrocarburos totales).

“Las Pseudomonas son las bacterias más eficientes en la degradación de compuestos tóxicos. La capacidad de estas bacterias para degradar a los hidrocarburos depende del tiempo de contacto con el compuesto, las condiciones ambientales en las que se desarrollen y su versatilidad fisiológica”¹⁰³.

Orozco, Pineda y Salgado¹⁰⁴, realizaron un estudio de laboratorio donde se determinó que del amplio grupo que representan las Pseudomonas para la degradación del petróleo, se demostró con varias pruebas e investigaciones que las Pseudomonas Putidas, las Pseudomonas Fluorescens y las Pseudomonas Aeruginosas tienen mejor capacidad para degradar hidrocarburos pesados que

¹⁰² LOYA DEL ANGEL. Op.cit., p. 47- 48.

¹⁰³ ARBOLEDA JACOME, Viviana Gabriela y BRAVO BASANTES, Verónica Mercedes. Op.cit., p. 32

¹⁰⁴ OROZCO CUELLAR, Gloria; PINEDA FLORES, Gabriel y SALGADO BRITO, Rosa. Optimización de degradación de la para.na 1 por Pseudomonas aeruginosa mgp-1. En: Ciencia y tecnología. Diciembre, 2009. vol. 11, no.6. p. 97

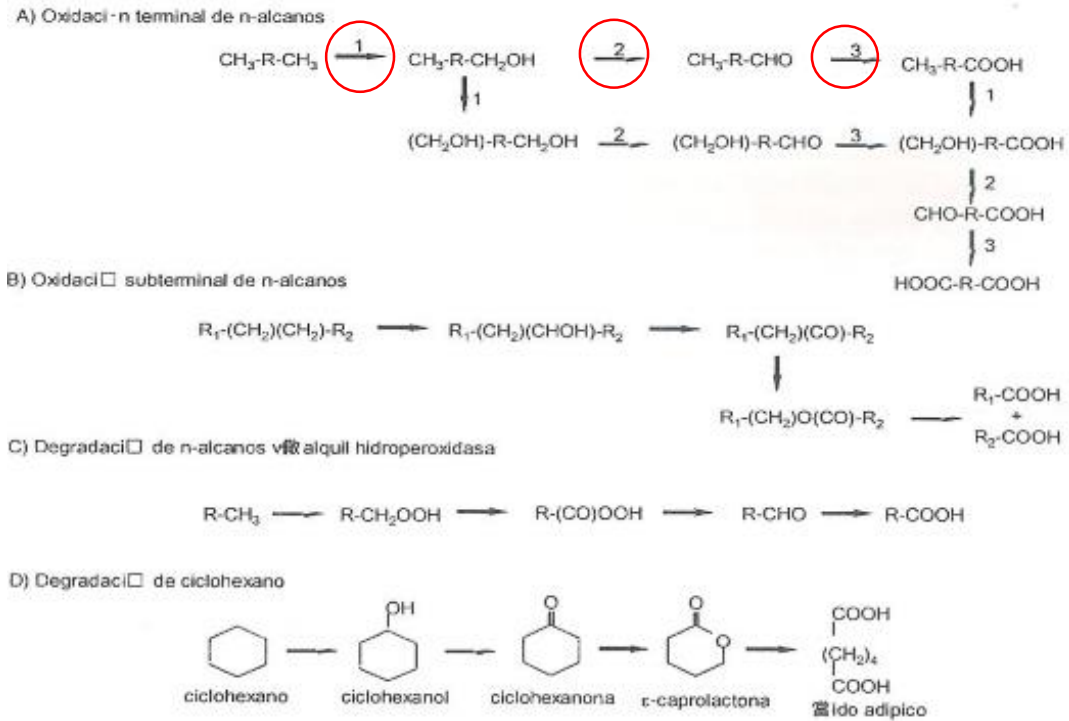
presentan alta complejidad para descomponer, a pesar de que las *P. aeruginosas* no han presentado evidencias significativas de lograr degradar completamente compuestos parafínicos con longitudes de 26 a 28 átomos de carbono.

3.4.1 Rutas de degradación de las Pseudomonas Como ya se ha mencionado y según las aclaraciones que hace Alanís¹⁰⁵, las *Pseudomonas* tienen una alta capacidad de adaptación para lograr la descomposición química y física de los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) tales como el naftaleno, hidrocarburos aromáticos como el tolueno e hidrocarburos alifáticos como los n- alcanos. Por esta razón, se habla de las rutas de biodegradación que realizan estos microorganismos que se relacionan con plásmidos catabólicos de las *Pseudomonas* (estos plásmidos pueden ser OCT, NAH y TOL; que son los representativos de las bacterias gram negativas). Por esta razón las rutas de degradación de las *Pseudomonas* se clasifican en tres:

Alk (C₆ a C₁₂ n- alcanos): Este grupo de hidrocarburos alifáticos son el grupo más exuberante de las cadenas encontradas en el petróleo. Estos grupos de hidrocarburos suelen tener una fácil biodegradación si se realiza de forma anaeróbica por diferentes rutas como se observa en la figura 23, en la que lleva a cabo la degradación de n- alcanos por *Pseudomonas putidas* (identificadas con el plásmido OCT), esta cadenas de hidrocarburos inicia por un alcano hidroxilasa. En esta figura 23, los círculos rojos representan tres reacciones que ocurren durante la ruta de degradación de la siguiente manera: 1) Se genera un hidroxilización por medio de la catalización formada por el mismo grupo de enzimas bacterianas, en este caso las *Pseudomonas putidas* 2) da paso a la formación de alcohol deshidrogenasas, el cual es una enzima bacteriana presente en el metabolismo de la *Pseudomna putida* 3) se inicia la formación de aldehído deshidrogenasas, el cual es una enzima que se encuentra en la vegetación o es residuos de animales, en este punto es donde se inicia la interacción de las bacterias con la naturaleza para realizar el proceso de limpieza total.

¹⁰⁵ ALANÍS GARCÍA, Ernesto y GUERRERO LEGARRETA, Isabel. *Pseudomonas* en biotecnología. En: *Biotecnología*. 2004. vol. 9, no. 1, p. 29-31.

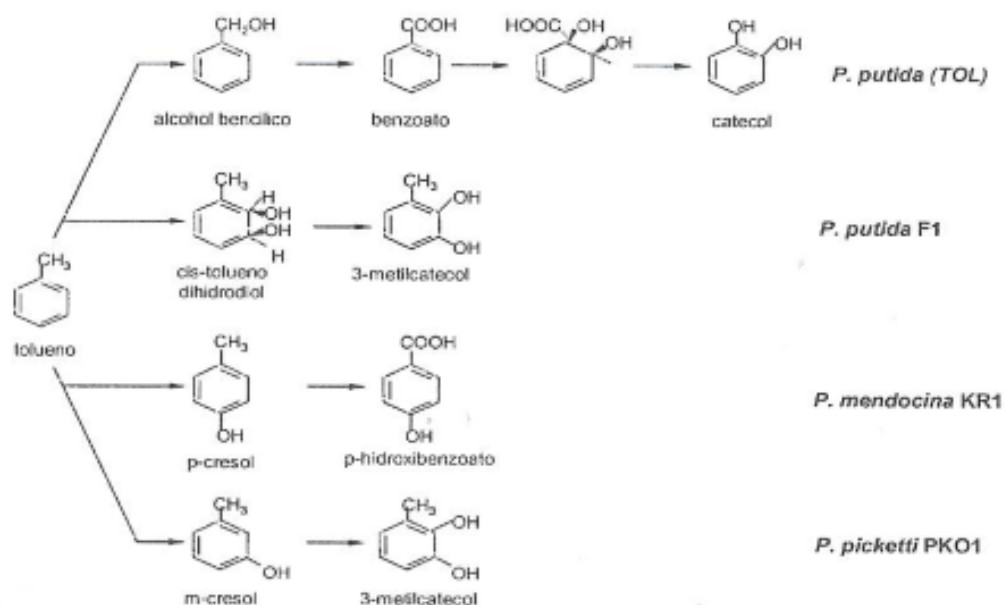
Figura 23. Rutas de degradación de n-alcános



Fuente. ALANÍS GARCÍA, Ernesto y GUERRERO LEGARRETA, Isabel. Pseudomonas en biotecnología. En: Biotecnología. 2004. vol. 9, no. 1, p.30.

- Xyl (tolueno):** Para la degradación de estos hidrocarburos se siguen cinco rutas de las cuales cuatro se realizan gracias a las Pseudomonas como se muestra en la figura 24, el proceso se inicia por medio del plásmido TOL, el tolueno es degradado consecutivamente en alcohol bencílico, benzoato y catecol (los dos últimos son producto de la formación del alcohol bencílico). La primera etapa de la degradación la realiza la Pseudomona putida F1 que deja como resultado la formación de cis- tolueno dihidrodil que a su vez es transformado en 3- metilcatecol. La segunda etapa de degradación la realiza la Pseudomona mendocina KR1, que se encarga de transformar el tolueno a p- cresol producto de la acción del tolueno-4-monoxigenasa, formando a su vez p- hidroxibenzoato gracias a la oxidación del metilo. La última etapa es realizada por las Pseudomona pickettii PKO1, genera oxidación en el tolueno por medio de la acción del tolueno-3 – monoxigenasa a m- cresol, el cual se continua oxidando dando paso a la formación del 3- metilcatecol.

Figura 24. Degradación del tolueno por *Pseudomona putida* (TOL), *Pseudommona putida* F1, *Pseudomona mendocina* KR1 y *Pseudomona pickettii* PKO1.



Fuente. ALANÍS GARCÍA, Ernesto y GUERRERO LEGARRETA, Isabel. *Pseudomonas* en biotecnología. En: *Biotecnología*. 2004. vol. 9, no. 1, p. 30.

- **Nah (naftaleno):** Este grupo de hidrocarburos aromáticos policíclicos son altamente tóxicos, mutagénicos y cancerígenos. El naftaleno se forma por lo general por la mala combustión de la materia orgánica (por ejemplo la combustión de gasolina, el diésel o el cigarrillo). Estos son degradados completamente en condiciones aeróbicas, que se inicia por la acción de la dihidroxilación de uno de los anillos aromáticos polinucleares y posteriormente se genera la división del anillo dihidroxilado. Generalmente, esta degradación se realiza gracias a las *Pseudomonas fluorescens*.

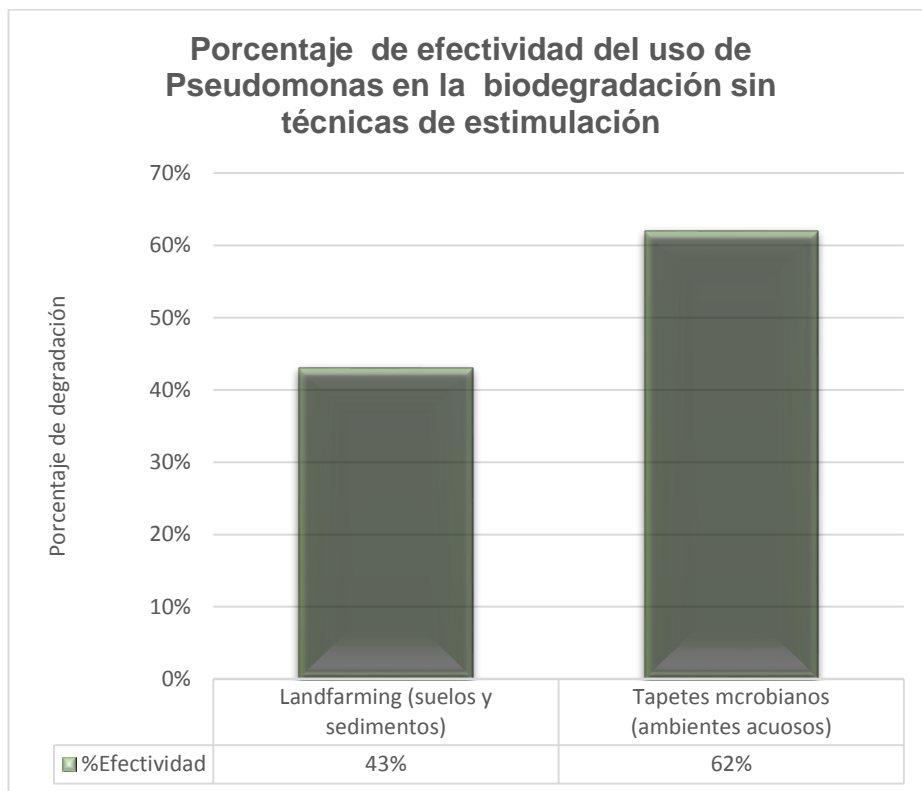
3.5 RELACIÓN ENTRE LAS PSEUDOMMONAS Y LAS TECNOLOGÍAS DE BIODEGRADACIÓN

López y Lozada¹⁰⁶, resaltan que una de las técnicas más usadas de biodegradación en aguas contaminadas son los tapetes microbianos (los cuales son muy similares a la activación que tienen los microorganismos en la técnica land farming de suelos), en el que un grupo de microorganismos aerobios y anaerobios colonizan las zonas contaminadas de agua, pero también es eficiente la aplicación de técnicas de estimulación como los biorreactores o tanques reactores de agitación, en los cuales

¹⁰⁶ LÓPEZ, Nestor Alí y LOZADA DÁVILA, José Rafael. Uso de la biorremediación para el saneamiento de sustratos contaminados por petróleo en el oriente de Venezuela. En: *Ecodiseño y sostenibilidad*. Enero- diciembre, 2011. vol. 3, no. 1, p 228- 231.

se utilizan exclusivamente *Pseudomonas* para que el resultado de degradación de hidrocarburos en agua alcance aproximadamente un 50% ya que sin su ayuda solo se podría llegar a tener un porcentaje de efectividad de un 43%, como se ve en la figura 25. Adicionalmente para el agua contaminada, existe la posibilidad de hacer uso de sulfato disuelto en el agua para mejorar los resultados de la biodegradación. Cuando se aplica el método de tapetes microbianos en aguas marinas, se ha evidenciado que mediante varios estudio y pruebas de microcosmos realizadas en laboratorio para simular la acción de la *Pseudomonas* en el ambiente real alcanzan una eficiencia de degradación exitoso de aproximadamente el 62% como se puede ver en el gráfico 1, sin ninguna ayuda de estimulación, sin embargo este porcentaje de eficiencia se logra evidenciar luego de largos periodos de tiempo (es decir años o meses dependiendo de la extensión del derrame y del tipo de hidrocarburo).

Grafico 1. Porcentaje de efectividad del uso de *Pseudomonas* en la biodegradación sin técnicas de estimulación



Para Lors y Mamindy- Pajany¹⁰⁷, el comportamiento de las *Pseudomonas* en la degradación de mercurio altamente toxico (bioventilización) es bastante eficaz debido a las propiedades que tienen estas bacterias para lograr sobrevivir en ambientes contaminados con metales pesados y lograr utilizar la descomposición

¹⁰⁷ LORS, Christine y MAMINDY- PAJANDY, Yannick. Op.cit., p. 11.

de los mismos como energía alimentaria, ya que desarrollan instantáneamente mecanismos de desintoxicación. Para este caso en especial, el grupo de Pseudomonas mejor adaptadas son las Pseudomonas Putidas. El proceso de adaptación se inicia en un biorreactor (recipiente) al cual se le inyecta aire con cierta cantidad de mercurio inmovilizado convirtiéndose en una fase gaseosa para lograr recuperarlo, por efectos de gravedad las partículas más pesadas caerán y quedarán suspendidas en una fase líquida, en el que generalmente se utiliza agua, al generarse la mezcla (contacto mercurio agua) se activan inmediatamente los microorganismos (Pseudomona Putida) formando biofilms o tapetes microbianos a pequeña escala. Posteriormente se genera la filtración, para impedir que los compuestos tóxicos que ahora son volátiles se liberen en el ambiente, de esta forma los que quedan atrapados vuelven a reiniciar el proceso de degradación para que las bacterias lo descompongan casi en un 65% en periodos de tiempo considerables los cuales dependen de la cantidad de mercurio presente en el hidrocarburo y las concentraciones del mismo.

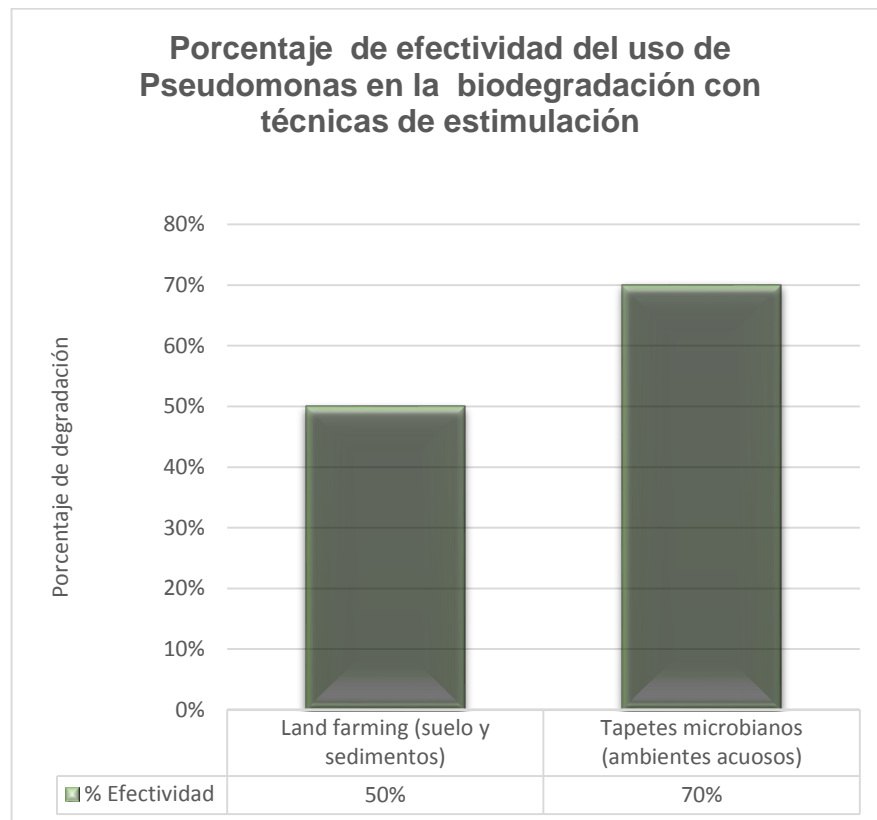
En cada proceso o método de aplicación de las bacterias en las zonas contaminadas es necesario generar una estimulación extra (adición de oxígeno y nutrientes) para que las Pseudomonas incrementen su población y tenga una mayor activación al digerir las cadenas de hidrocarburos, para que en el momento en que se lleve a cabo la aplicación directa o bioaumentación, las bacterias estén completamente modificadas y preparadas para sobrevivir al quedar expuestas al ambiente externo al laboratorio. Estos dos métodos de adaptación o aplicación son realmente efectivos y han incrementado en casi un 5% más la efectividad de la degradación cuando se realizan sin ayuda adicional, como se ve en el gráfico 2, donde se evidencia un incremento importante en la efectividad del proceso llevado a cabo por las Pseudomonas.

El uso de Pseudomonas a nivel científico ha dado grandes resultados no solo para la degradación de hidrocarburos sino también en todos aquellos químicos tóxicos en cualquier tipo de tecnología, que se identifiquen por su compleja composición. La actividad de este grupo de bacterias es realmente importante en el desarrollo de biotecnologías que sean altamente compatibles con el medio ambiente, así involucre periodos de tiempo muy largos en poder realizar la degradación. Además la interacción que hay entre los métodos de landfarming y los tapetes microbianos con las bacterias son realmente altos, sobre todo cuando la Pseudomonas son las que mejor se comportan y sobreviven en ambientes extremadamente contaminados con todo tipo de componentes altamente tóxicos que se encuentren presentes, y aunque de acuerdo a algunos registros de zonas contaminadas con petróleo pesados o livianos se han intentado utilizar microorganismos que puedan tener algunas propiedades similares a las Pseudomonas es muy raro la veces que estas

puedan lograr un trabajo exitoso, por tal razón es necesario la implementación de Pseudomonas comerciales que tiene un desventaja y es que al no pertenecer al área que se va a tratar, no logran explotar todas su cualidades y es necesario que trabajen junto con la ayuda de todos lo microorganismos nativos que se encuentren en el lugar y poder lograr un porcentaje bueno de degradación.

Y es que a pesar de que la ciencia avanza cada vez más, no se ha podido igualar o imitar los procesos que realizan estas bacterias para lograr degradar compuestas tan tóxicos como es la presencia de hidrocarburos en el ambiente, y lograr que de alguna manera no se generen residuos contaminantes durante el tratamiento.

Grafico 2. Porcentaje de efectividad del uso de Pseudomonas en la biodegradación con técnica de estimulación.



3.6 PROCESO DE AISLAMIENTO BACTERIANO EN LABORATORIO

Para entender más a fondo como es el proceso de aislamiento o preparación de las Pseudomonas y demás microorganismos usados para realizar la biodegradación de petróleos derramados, se tendrá en cuenta ciertos cálculos e investigaciones realizadas años antes a nivel laboratorio.

3.6.1 Proceso científico de adaptación bacteriana para aguas contaminadas A través del tiempo y tomando como referencia la infinidad en accidentes petroleros en zonas marinas en grandes o pequeñas cantidades, se ha generado un cantidad de estudios científicos en diferentes universidades del mundo en las cuales investigan constantemente métodos más eficientes para la aplicación de la biodegradación con bacterias en las zonas acuosas afectadas. Pero hasta el momento, se ha llegado a la conclusión de que desde hace diez años aproximadamente el proceso general para la recolección, aislamiento y preparación de dichos microorganismos es similar en cualquier parte del mundo. Peor a lo que se quiere lograr realmente, es a poder proponer e implementar tecnologías que ayuden a que este proceso se realice en menor tiempo estimulando el crecimiento y reproducción de dichas bacterias sin alterar su metabolismo.

Por esta razón se tomó como ejemplo la investigación publicada de Echeverri¹⁰⁸, los cuales aislaron 4 cepas de *Pseudomonas* encontradas en sistemas marinos, este proceso científico de aislamiento se realizó con el fin de evidenciar las capacidades que poseían las bacterias a la hora de entrar en contacto con diferentes tipos de petróleo y definir su capacidad de adaptación al ambiente contaminado (temperaturas, pH, salinidad y concentración de nutrientes y del contaminante), el procedimiento se realizó de la siguiente manera:

1. Se identificaron los medios de cultivo y los métodos necesarios para llevar a cabo la preparación de las bacterias. En este punto se implementaron dos líquidos, el primero, llamado “caldo de pre- enriquecimiento” que cuenta con características nutritivas, preparado debidamente con compuestos comerciales como $(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$ en una concentración de 0,9 mg/L, ACPM al 1% agregado pausadamente; el segundo llamado “caldo de enriquecimiento” con un volumen total de 1 litro de agua destilada, al cual se le adiciono sales reactivas, K_2HPO_4 con concentración de 1,5 g/L, KH_2PO_4 con 0,5 g/L, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ con 0,5 g/L, NaCl con 0.5 g/L, MgSO_4 con 3 g/L, FeSO_4 con 0.002 g/L, CaCl_2 con 0,002 g/L, suplementos de petróleo al 1%.
2. Se realizó el muestreo en un área radial cerca a los vertimientos finales de la refinería de la zona, marcando cinco puntos críticos para tomar las muestras las cuales se ejecutaron en cuatro zonas donde se encontraron altas concentraciones de microorganismos: Bio- película, sedimentos, neuston y agua superficial. Posteriormente, las muestras fueron almacenadas en un sistema de refrigeración para ser transportadas al laboratorio.

¹⁰⁸ ECHEVERRI JARAMILLO, Gustavo Eugenio; MANJARREZ PABA, Ganiveth y CABRERA OSPINO, Melody. Aislamiento de bacterias potencialmente degradadoras de petróleo en hábitats de ecosistemas costeros en la Bahía de Cartagena, Colombia. En: Ciencia Biomédica. Enero- junio, 2010. vol. 8, no. 13, p. 78- 84.

3. Ya en laboratorio, se inició la etapa de pre- enriquecimiento de las bacterias por cada zona recolectada (Bio película, sedimentos, neuston y agua superficial), en donde se incubaron las bacterias en el caldo ya preparado a 35°C con una agitación constante durante 7 días. Posteriormente, se aplican una coloración a cada muestra , luego se tomaron 10 microgramos de cada uno para sembrarlos en un cultivo que contiene 1% de ACPM para iniciar el proceso de adaptación y aislamiento de varias grupos, estos se colocaron en incubación durante 1 día completo a una temperatura de 35°C.
4. Luego, se inicia la etapa de enriquecimiento que consta de un tiempo de 3 semanas, pero llegados 7 días de incubación de la muestras de la anterior etapa, se extrae 1 ml de cada una para ser puesta en contacto con el caldo de enriquecimiento al cual se le adiciona 1% de petróleo crudo, posteriormente, se colocan en proceso de siembra por 7 días a 37°C con agitación constante.
5. Se realiza la selección de los grupos bacterianos más efectivos, dejándolos en incubación por 24 horas en un caldo nutritivo, para luego realizar varias siembras de cultivos con presencia de petróleo crudo al 1% a 30°C durante 7 días.
6. Por último se analiza la identificación bioquímica, por medio de softwares especiales que identifican rápidamente el género y la especie de microorganismo estudiado con su debido porcentaje de efectividad.

Para Echeverri¹⁰⁹, los resultados de este estudio realizados en aguas marinas de Cartagena, Colombia en inmediaciones a la refinería existente en la zona de estudio, arrojó como resultado que las *Pseudomonas Aeruginosas* presentan alta selectividad en los ensayos de coloración y bioquímica (realizado por software) como se muestra en la figura 25, una gran adaptabilidad y efectividad para lograr la degradación. Sin embargo, es necesario que aparte de las pruebas de preparación anteriormente mencionadas se realicen estudios más profundos cuando estas bacterias se vayan a implementar en bioderremediaciones de aguas contaminadas, ya que las condiciones ambientales de estos ecosistemas son bastante complejos y pueden afectar la actividad microbiana.

¹⁰⁹ *Ibíd.*, p. 78-84

Figura 25. Caracterización bioquímica de *Pseudomonas* encontradas.



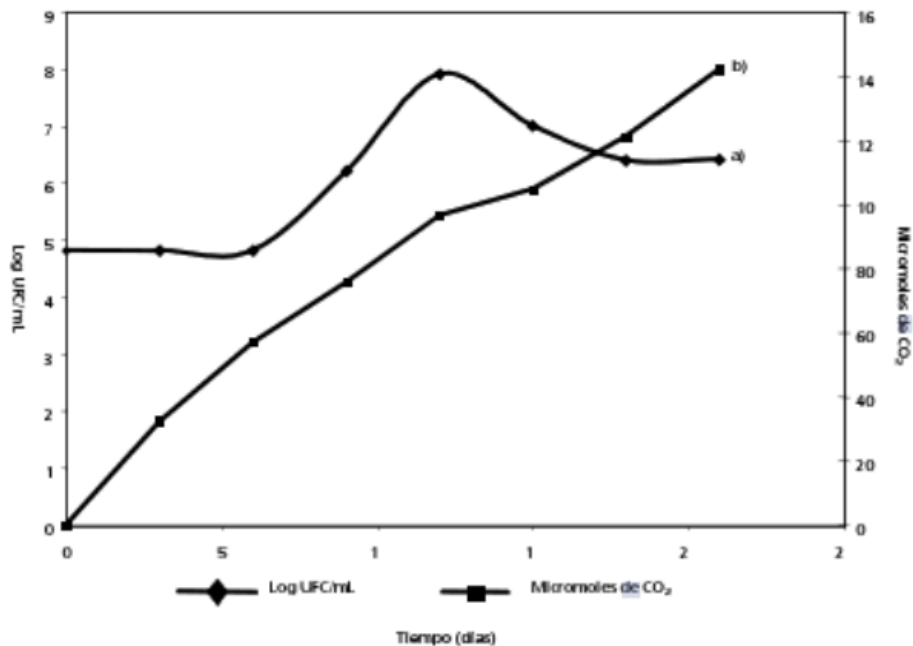
Fuente. ECHEVERRI JARAMILLO, Gustavo Eugenio; MANJARREZ PABA, Ganiveth y CABRERA OSPINO, Melody. Aislamiento de bacterias potencialmente degradadoras de petróleo en hábitats de ecosistemas costeros en la Bahía de Cartagena, Colombia. En: Ciencia Biomédica. Enero- junio, 2010. Vol. 8, no. 13, p. 85.

En este estudio científico se hizo uso de ACPM o diésel como única fuente carbono y energía, pero al realizar estas adaptaciones microbianas se puede hacer uso de diferentes tipos de hidrocarburos en diferentes concentraciones según se requiera en la zona afectada (tipo de petróleo derramado). Así como también las temperaturas de incubación o siembra, se nivelan teniendo en cuenta las condiciones climáticas y propiedades del ecosistema para saber cuántos días se deben aislar. Como se demuestra en otro experimento realizado por Cuellar, Pineda y Salgado¹¹⁰; donde se usó como fuente principal de carbono y energía un petróleo parafínico, en el cual se observa que existe un alto crecimiento de las cepas

¹¹⁰ CUELLAR OROZCO, Gloria; PINEDA FLORES, Gabriel y SALGADO BRITO, Rosa. Optimización de la degradación de la para.na p-1 por *Pseudomonas aeruginosa* mgp-1. En: Ciencia y tecnología, Universidad Simón Bolívar. Diciembre- enero, 2009. vo. 11, no. 6, p. 96- 100.

bacterianas de *Pseudomonas* en poco tiempo (día seis) lo cual es menor que el experimento donde se usó ACPM, el crecimiento deja de ascender a partir del día 20 y vuelve a aumentar rápidamente hasta encontrar un equilibrio alrededor del día 28, lo cual es muy bueno, ya que quiere decir que al clonar las bacterias en el ambiente contaminado estas se reproducirán más rápido y se puede deducir que la biodegradación llevara menos tiempo generando proporcionalmente CO_2 , esto quiere decir que las bacterias están utilizando el hidrocarburo como fuente alimenticia como se muestra en la figura 26.

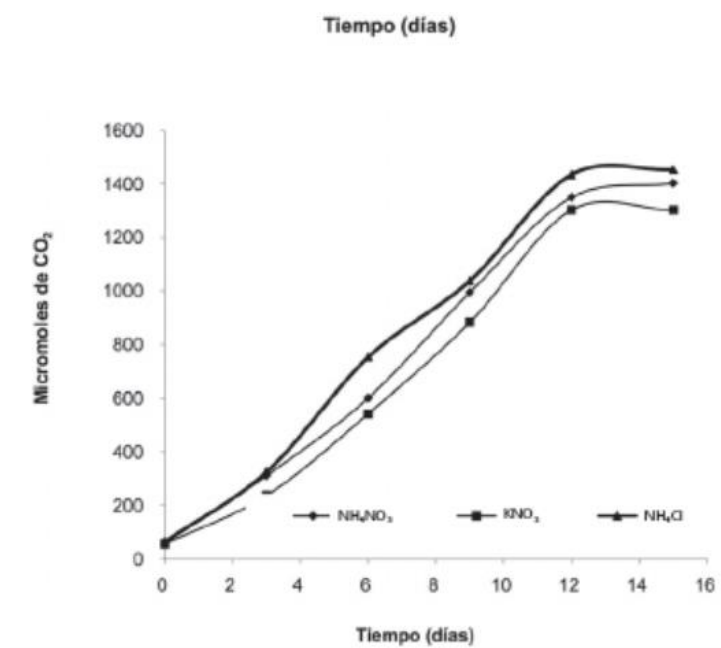
Figura 26. Tasa de crecimiento y generación de CO_2 de las *Pseudomonas* usando como fuente de energía petróleo parafinico.



Fuente. CUELLAR OROZCO, Gloria; PINEDA FLORES, Gabriel y SALGADO BRITO, Rosa. Optimización de la degradación de la parafina p-1 por *Pseudomonas aeruginosa* mgp-1. En: Ciencia y tecnología, Universidad Simón Bolívar. Diciembre- enero, 2009. vo. 11, no. 6, p. 99.

Adicionalmente, identificaron que la implementación de diversas fuentes de nitrógeno ayuda a estimular el crecimiento y activación de todos los microorganismos presentes especialmente cuando se trata de cepas de *Pseudomonas* que en este caso ayudaron a incrementar la mineralización de la parafina tratada como se observa en la figura 27, donde se hizo uso de NH_4NO_3 , KNO_3 y NH_4Cl .

Figura 27. Tasa de crecimiento de *Pseudomonas* con implementación de tres fuentes de nitrógeno.



Fuente. CUELLAR OROZCO, Gloria; PINEDA FLORES, Gabriel y SALGADO BRITO, Rosa. Optimización de la degradación de la para.na p-1 por *Pseudomonas aeruginosa* mgp-1. En: Ciencia y tecnología, Universidad Simón Bolívar. Diciembre- enero, 2009. vo. 11, no. 6, p. 101.

A pesar que el grupo de *Pseudomonas* es muy amplio y que algunas no han sido lo suficientemente estudiadas, son el grupo más encontrado en zonas contaminadas con hidrocarburos y que con más frecuencia se les facilita adaptarse a las altas concentraciones de hidrocarburos lo cual es una ventaja grande frente a otros microorganismos, ya que estas pueden ser implementadas en derrames pequeños con petróleos livianos o derrames extensos con petróleos muy pesados, por lo que la convierte en la bacteria más utilizada a nivel mundial para liderar procesos de remediación biológica de compuestos tóxicos de cualquier tipo.

3.6.2 Proceso científico de adaptación bacteriana para suelos contaminados

En el caso de los suelos, la biodegradación se realiza gracias a la micro flora que se produce en suelos fértiles e infértiles (bacterias y hongos), que al igual que en el agua son conocidas por tener una alta capacidad y adaptación en zonas contaminadas con hidrocarburos y así mismo lograr una degradación eficaz, este proceso consiste en ingerir pequeñas cantidades de petróleo derramada hasta lograr convertirlo en metabolitos, lo que facilita su remoción del ambiente contaminado.

Es por esto, que al igual que el caso presentado sobre el proceso que se lleva a cabo para el aislamiento y preparación de las bacterias para aguas contaminadas, Fernández¹¹¹, realizaron una investigación experimental en la Universidad de Carabobo, Venezuela sobre la biorrecuperación de un área seleccionada perteneciente a suelos para practicas ganaderas y agrícolas que fueron contaminados con petróleo como consecuencia del mal manejo y supervisión de 15 de 82 pozos abandonados cerca de la zona (Yaracal, Falcón), los cuales presentaron filtraciones en las tuberías subterráneas, así pues, los investigadores en cuestión realizaron pruebas de laboratorio para explicar el procedimiento para la debida preparación de los microorganismos que se van a implementar y la forma en que deben ser recolectadas las muestras. Este proceso se realizó de la siguiente forma:

1. Se investigó y analizo cuál de los 15 pozos era el que más filtraba petróleo al suelo, ya que se de esta manera se tiene certeza de que a su alrededor a un constante movimiento bacteriano y del cual se tomaron 9 muestras de los puntos más afectados a un profundidad de 15 cm cada una.
2. Para poder el estudio es completamente necesario tomar muestras no solo de los fluidos y microorganismo si no contar con una muestra representativa del suelo afectado, por lo cual para este caso se tomaron 2 Kg de suelo, con el fin de identificar sus propiedades físicas y químicas mediante diferentes técnicas del laboratorio (lo cual depende directamente de los equipos con los que se cuente, como por ejemplo, el método gravimétrico, volumétrico, ácido ascórbico, técnicas de absorción y mediciones de pH). Con eso de podrá determinar más adelante que tan rápido y eficiente ser ala biodegradación en la zona.
3. Se procede a preparar el líquido de adaptación y siembra de microorganismo, que en este caso se conoce como “medio mínimo surfactante” encargado de aportar nutrientes para el crecimiento provechosos de los grupos bacterianos, por medio de cuatro opciones de soluciones acuosas con diferentes mezclas químicas como se muestra en la tabla 7.

¹¹¹ FERNÁNDEZ, CELESTE, *et.al.* Biodegradación de asfalto y resinas por microorganismos presentes en suelo contaminado con hidrocarburo. En: Revista de la facultad de ingeniería U.C.V. abril, 2008. vol. 23, no. 4, p. 7-14

Tabla 7. Medios de soluciones acuosas para la siembra de los microorganismos

MEDIOS DE SOLUCIONES ACUOSAS	
Opción A	<ul style="list-style-type: none"> • 1,5 g de KH_2PO_4 • 1,5 g de NaH_2PO_4 • 2,5 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ • 0,5 g DE NaCl <p style="text-align: center;"><i>Todos disueltos en agua destilada dando como resultado un volumen de 500 ml.</i></p>
Opción B	<ul style="list-style-type: none"> • 1 g de NH_4Cl <p style="text-align: center;"><i>Diluido en agua destilada dando como resultado un volumen total de 125 ml.</i></p>
Opción C	<ul style="list-style-type: none"> • 150 mg de FeSO_4 <p style="text-align: center;"><i>Disuelto en agua destilada dando como resultado un volumen total de 125 ml.</i></p>
Opción D	<ul style="list-style-type: none"> • 5 mg de $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ • 2,5 mg de ZnSO_4 • 3,5 mg de $\text{NaMoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ <p style="text-align: center;"><i>Disueltos de agua destilada dando como resultado un volumen total de 125 ml.</i></p>

4. Se hizo uso de cuatro recipientes que funcionaron como sistemas de activación de los microorganismos en cuestión, donde se introdujeron las muestras extraídas de suelo contaminado, los cuales fueron llenados con el medio mínimo surfactante para dar inicio al tratamiento y estimulación de las bacterias, los cuales se mantuvieron con sistemas de aireación constante manual y automático. Para identificar que las bacterias estuvieran realizando el proceso debidamente se tomaron muestras de suelo (20 g exactamente) de los recipientes a partir del día 7 cada 5 o 6 días para verificar la cantidad de hidrocarburos presentes y porcentaje de biodegradación a medida que pasa el tiempo.

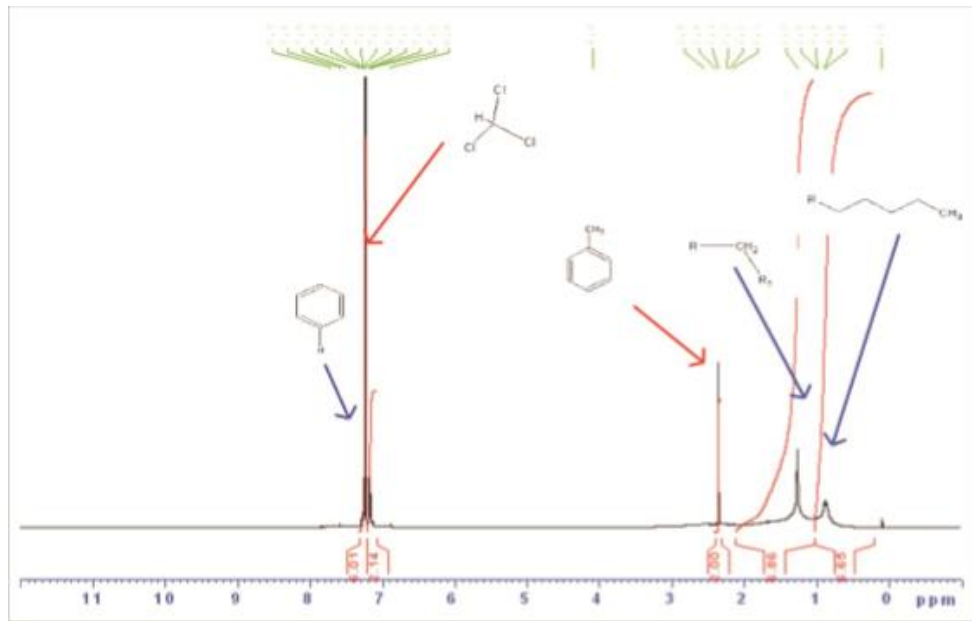
5. Posteriormente, a la muestras tomadas de los recipientes con medio mínimo surfactante, se realizó la caracterización e identificación de la propiedades del petróleo a tratar mediante el análisis SARA (saturados, aromáticos, resinas y asfaltenos), mediante el cual se fraccionan ciertas cantidades de petróleo en cuatro tipos de solubilidad con ayuda de diferentes solventes, como se ve en la tabla 8. De estas fracciones se precipitaron las moléculas más pesadas por medio de n– heptano (solvente), agitación manual y reposo en papel filtro, así sucesivamente con cada muestra que se obtenga para evaluar qué tipo de solvente es el más adecuado y lograr la adaptación de los microorganismos. Esta evaluación se realiza con resonancias magnéticas de protones para analizar los picos altos y bajos con el método de la transformada de Fourier, como se ve en la figura 28, en la cual se pueden ver las cadenas de hidrocarburo presentes por cada fracción para de esta forma interpretar el comportamiento de las bacterias y los periodos de biodegradación.

Tabla 8. Caracterización del petróleo por análisis SARA

Fracción de crudo	Porcentaje en masa de las fracciones (%Frac + 0,5)%	
	Crudo	Suelo contaminado antes del tratamiento
Hidrocarburos saturados	37,0	37,4
Hidrocarburos aromáticos	48,0	46,6
Resinas	13,4	14,9
Asfalto	0,0	1,12

Fuente. FERNÁNDEZ, CELESTE, *et.al.* Biodegradación de asfalteno y resinas por microorganismos presentes en suelo contaminado con hidrocarburo. En: Revista de la facultad de ingeniería U.C.V. abril, 2008. Vol. 23, no. 4, p. 12

Figura 28. Picos generados en resonancia magnética de protones



Fuente. FERNÁNDEZ, CELESTE, *et.al.* Biodegradación de asfalteno y resinas por microorganismos presentes en suelo contaminado con hidrocarburo. En: Revista de la facultad de ingeniería U.C.V. abril, 2008. Vol. 23, no. 4, p. 13.

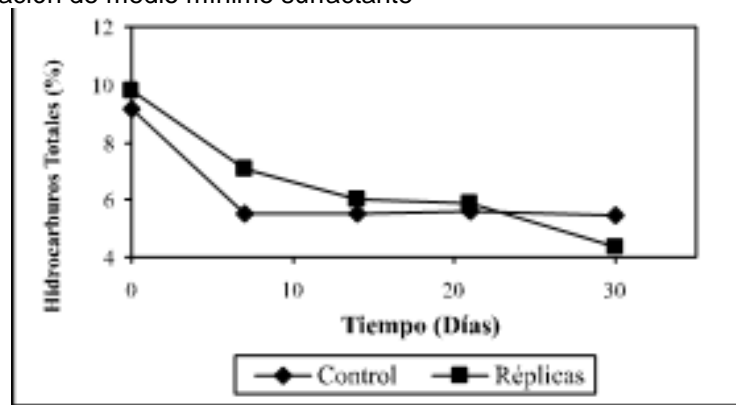
- Luego se realiza la parte más importante del todo el proceso, y es la revisión del crecimiento de las cepas bacterianas, donde se hizo uso de métodos numéricos estadísticos como en método de dilución seriada, para la identificación de la tasa de crecimiento de los cultivos bacterianos aerobios, que fueron incubados a una temperatura de 37°C por 1 día (cabe resaltar que las temperaturas van acorde con las que presente el subsuelo o suelo contaminado).

Es de gran importancia que en el momento de hacer los estudios de caracterización del suelo contaminado para identificar las propiedades físico químicas del mismo, de tenga en cuenta los rangos del pH, teniendo en cuenta que las bacterias tiene

mayor tasa de crecimiento en rangos de pH entre 6 y 8, ya que este parámetro afecta la capacidad de degradación por la reacción negativa que puedan llegar a tener las bacterias nativas disminuyendo su tiempo de vida.

En este experimento de los cuatro recipientes mencionado al inicio tres fueron saturados con el medio mínimo surfactante y uno fue una muestra original que no obtuvo ayuda del solvente para incrementar la biodegradación, esto se hizo con el fin de comprar el comportamiento de las bacterias nativas en condiciones naturales y en condiciones de estimulación (aplicación del solvente). En esta estudio dio como resultado que la tasa de biodegradación es mayor en los tres recipientes (replicas) que fueron estimulados con químicos comerciales y que las bacterias nativas actuaban muy lento en entornos naturales (control) como lo muestra la figura 29, lo que significa que el suelo a tratar tiene rangos de pH muy ácidos donde las bacterias serán más lentas en su proceso de limpieza.

Figura 29. Tasa de biodegradación durante el estudio con y sin aplicación de medio mínimo surfactante



Fuente. FERNÁNDEZ, CELESTE, *et.al.* Biodegradación de asfalteno y resinas por microorganismos presentes en suelo contaminado con hidrocarburo. En: Revista de la facultad de ingeniería U.C.V. abril, 2008. vo. 23, no. 4, p. 11

Este método mencionado anteriormente, es un procedimiento científico universal y es el mismo independientemente de los microorganismos que se quieren implementar (entre ellos las *Pseudomonas*), solamente varía según los equipos e instalaciones de laboratorio y los suelos a tratar ya que todos los suelos cuentan con propiedades físico- químicas diferentes según la zona. Es muy importante seguir correctamente los pasos para que el proceso de biodegradación se logre en un tiempo optimo y con un porcentaje de incertidumbre mínimo.

3.6.3 Determinación de la tasa de biodegradación Para Fernández¹¹², los cálculos de tasa de biodegradación se realizan con respecto a las concentraciones y componentes del petróleo que se va a tratar, esta relación se determina mediante la ecuación 2:

Ecuación 2. Determinación de la tasa de biodegradación

$$\%Degr_{(inicio)} = 100 - \left(\frac{\%P_{Total [i]}}{\%P_{Dinicio}} \right) * 100$$

Fuente. FERNÁNDEZ, CELESTE, *et.al.* Biodegradación de asfalto y resinas por microorganismos presentes en suelo contaminado con hidrocarburo. En: Revista de la facultad de ingeniería U.C.V. abril, 2008. vo. 23, no. 4, p. 10.

Donde:

$i=[1 \dots 30]$

%Degr_(inicio)= Porcentaje de degradación con respecto a la contaminación inicial (%).

%P_{Total(i)}= Porcentaje de petróleo en el día de muestreo.

%P_{Total (Dinicio)}= Porcentaje de petróleo total en el día de inicio.

Adicionalmente existe otro método para la determinación de la tasa de biodegradación por métodos aerobios, el cual fue investigado y estudiado por Bland,¹¹³ estos cálculos son basados en pruebas científicas que realizaron en 1993 en donde se determina que se deben tomar muestras representativas cada cinco días cuatro veces a partir del momento en que se realiza la incubación de las bacterias en contacto con ciertos porcentajes del petróleo a degradar, dentro de las cuales se deben tomar medidas constantes de la cantidad de oxígeno disuelto, de la demanda biológica de oxígeno (DBO) y demanda química de oxígeno de la siguiente manera:

1. Se determina la demanda la relación DBO a DQO:

Ecuación 3. Determinación de la relación DQO a DBO

$$DBO = (m_{bo} - m_{ax}) - (m_{bo} - m_{bx})$$

Fuente. R.G. Bland, D.K. Clapper, N.M. Fleming, C.A. Hood, Milpark Drilling Fluids. Biodegradation and drilling fluid chemicals. En: SPE/IADC Drilling conference (1: 23-25, Febrero: Amsterdam). SPE/IADC 25754. Amsterdam: IADC members y SPE members, 1993. p. 730

¹¹² *Ibíd.*, p. 10

¹¹³ Bland, Clapper, Fleming y Hood. *Op. cit.*, p. 730

Donde:

m_{bx} = Valor en blanco del día x

m_{ax} = Valor de subpruebas equivalentes al día x (test subs)

2. Luego se determina la tasa o porcentaje de biodegradación:

Ecuación 4. Determinación de la tasa de biodegradación por relación DBO

$$\%Biodeg = \frac{DBO (mg/L)}{Test\ sub (mg/L) \times DQO} \times 100$$

Fuente. R.G. Bland, D.K. Clapper, N.M. Fleming, C.A. Hood, Milpark Drilling Fluids. Biodegradation and drilling fluid chemicals. En: SPE/IADC Drilling conference (1: 23-25, Febrero: Amsterdam). SPE/IADC 25754. Amsterdam: IADC members y SPE members, 1993. p. 730

3. La tasa de biodegradación también se puede calcular mediante la demanda teórica de oxígeno (DTO) de la siguiente forma:

Ecuación 5. Determinación de la tasa de biodegradación mediante la DTO

$$\%Biodeg = \frac{DBO(mg/L)}{Test\ subs (mg/L) \times DTO} \times 100$$

Fuente. R.G. Bland, D.K. Clapper, N.M. Fleming, C.A. Hood, Milpark Drilling Fluids. Biodegradation and drilling fluid chemicals. En: SPE/IADC Drilling conference (1: 23-25, Febrero: Amsterdam). SPE/IADC 25754. Amsterdam: IADC members y SPE members, 1993. p. 730

4. Para determinar la demanda teórica de oxígeno (DTO)

Ecuación 6. Determinación de la demanda teórica de oxígeno.

$$DTO = \frac{16[2c + 0,5 (h - cl - 3n) - o]}{MW}$$

Fuente. R.G. Bland, D.K. Clapper, N.M. Fleming, C.A. Hood, Milpark Drilling Fluids. Biodegradation and drilling fluid chemicals. En: SPE/IADC Drilling conference (1: 23-25, Febrero: Amsterdam). SPE/IADC 25754. Amsterdam: IADC members y SPE members, 1993. p. 730

Donde:

c: Número de átomos de carbono
h: Número de átomos de hidrogeno
cl: Número de átomos de cloro
n: Número de átomos de nitrógeno
o: Número de átomos de oxígeno
MW: Peso molecular

Para Gohlke¹¹⁴, luego de identificar las tasas de biodegradación que tiene las cepas bacterianas en laboratorio se debe calcular obligatoriamente la concentraciones del contaminante “LOC” que se encuentra en la zona afectada por medio de las muestras tomadas (ya sea de agua o de suelo), este cálculo se hace con el fin de identificar los niveles de contaminantes presentes en los peces que se usan para consumo humano de la siguiente manera:

Ecuación 7. Determinación de concentración de contaminantes.

$$LOC = (RL \times BW \times AT \times CF) + (CSF \times CR \times ED)$$

Fuente. GOHLKE, Julia M, *et.al.* A review of seafood safety after the Deepwater Horizon blowout. En: Environmental health perspectives. Agosto, 2011. vol, 119, no. 8, p. 1065

Donde:

RL: Nivel de riesgo
BW: Peso corporal promedio de una persona adulta
AT: Tiempo promedio
CR: tasa de consumo
ED: Duración de exposición
CF: Factor de conversión que es igual a 1000 µg/mg
CSF: factor de pendiente de cáncer que es igual a 7.3 mg / kg / día

Los dos últimos datos son basados en la evaluación de riesgos de la EPA de Estados Unidos.

Como se ha podido ver en toda la información mencionada anteriormente la única forma en que un proceso de biodegradación falle es que nos existe la suficiente cantidad de microorganismos para cubrir el desastre, además del manejo y seguimiento constante que los profesionales o encargados de las pruebas científicas hagan con todas las muestras tomadas de los puntos críticos, por

¹¹⁴ GOHLKE, Julia M, *et.al.* A review of seafood safety after the Deepwater Horizon blowout. En: Environmental health perspectives. Agosto, 2011. vol, 119, no. 8, p. 1065.

supuesto es inevitable que haya cierto porcentaje incertidumbre ya que claramente todo proceso biológico necesita de periodos de tiempos prolongados para poder adaptarse al ecosistema, pero finalmente es un método muy sabio y aplicativo ya que de esta forma el daño ambiental no incrementa más de lo que ya está afectado. Claramente, la industria petrolera está dentro de una de las que más afecta el medio ambiente por la transformación extrema que hace en los ecosistemas donde se realizan dichas actividades, pero es un recurso supremamente necesario para el funcionamiento de la humanidad y la única forma de disminuir los derrames es tener buenas practicas operacionales, que las compañías cumplan al pie de la letra la licencia ambientales entregadas

4. CASOS DE ESTUDIO DE BIODEGRADACIÓN EN SUELO Y AGUA

Para poder tener certeza de que este tipo de proceso biológico si ha sido implementado y ha tenido resultados exitosos, se mostraran dos casos de aplicación donde fue implementado la biodegradación por bacterias nativas, específicamente las cepas bacterianas conocidas como Pseudomonas.

4.1 CASO DE ESTUDIO EN AGUA CONTAMINADA: DERRAME DE LA PLATAFORMA DEEPWATER HORIZON (2010)

Este caso se presentó el 20 de Abril del año 2010 a inmediaciones de las costas del Golfo de México (Mississippi), en la plataforma marina conocida como horizonte profundo encargada de la perforación del pozo exploratorio Macondo, en el cual se llevaba una profundidad perforada de 5.000 ft (1525 metros aproximadamente), este pozo estaba cargo de la operadora British Petroleum que la tomar una muy mala decisión al no invertir el dinero y equipo suficiente para realizar las pruebas de la fase de cementación provoco una de las tragedias ambientales más grandes de los Estados Unidos.

Las empresas prestadoras de servicio que se encontraban realizando la perforación del pozo evidenciaron que las privas de presión realizadas tenían un resultado erróneo, pero la British Petroleum no presta la suficiente atención, por lo cual el 20 de Abril en las horas de la tarde, la cabeza de pozo empezó a emanar gas metano en el fondo del mar a causa de las altas presiones hidrostáticas represadas en la tubería de fondo por la mala circulación de los cortes de perforación a superficie. Estas altas presiones provocaron un Blowout o más conocido como reventón de pozo, el cual destruyó por completo toda la columna de perforación y plataforma ocasionando una fuerte explosión, la muerte de 11 trabajadores y la emanación de 4,9 millones de barriles en dos meses. Esta respuesta tan tardía, se dio a que debido a las presiones altas fue necesario la perforación de un pozo auxiliar cerca para poder sellar el pozo en el subsuelo lo cual permitió que se derramaran miles de barriles diariamente.

El derrame alcanzo varias costas (como Luisiana, Alabama y Florida) y fue tan extenso que alcanzo a afectar zonas de la ciudad de Panamá, el área impactada se detectó por medio de registros satelitales que identificaron el rumbo de las corriente que estaban transportando rápidamente le petróleo por las costas, una de las imágenes que se logró se puede ver en la figura 30, donde se observa la emulsión entre agua y petróleo que se generó por la turbulencia del agua de mar.

Figura 30. Imagen satelital del derrame de Golfo de México



Fuente. BBC Mundo. El derrame del Golfo de México en cifras. En: BBC mundo, 2010. Recuperado de: http://www.bbc.com/mundo/internacional/2010/06/100602_derrame_petroleo_bp_cifras_golfo_mexico_amab.shtml

Las autoridades del servicio federal de pesca y vida silvestre (FWS), indicaron que: “ El tipo de crudo en esta fuga se clasifico como ligero, que es moderadamente volátil y puede dejar residuos de hasta un tercio del total vertido luego de varios días, así como una película sobre los recursos marinos , con potencial de permanecer como contaminante durante periodos largos”¹¹⁵.

Según Lu¹¹⁶, el 15 de Julio de 2010, cuando se finalizó el sellado de la cabeza de pozo, se inició la aplicación de dispersantes químicos, específicamente COREXIT EC9500A y COREXIT EC9527A cuando se detectó una capa de petróleo a una profundidad de 1000 metros, la cual un tiempo después desapareció ya que los dispersantes activaron la actividad microbiana y dio inicio a la biodegradación. El proceso de preparación de microorganismos en este derrame en especial, se llevó acabo el siguiente proceso:

1. Se tomaron muestras (exactamente trece) de agua contaminada a varias profundidades en las zonas más críticas entre el 27 de mayo y el 2 de Junio del 2010, con ayuda de dos barcos especiales y equipados adecuadamente para tener fácil acceso llamados R/V Ocean Veritas y R/V Brooks McCall que se encargaban de detectar las zonas donde había presencia de petróleo, con el fin de identificar las propiedades físico- químicas del petróleo y del agua tratar

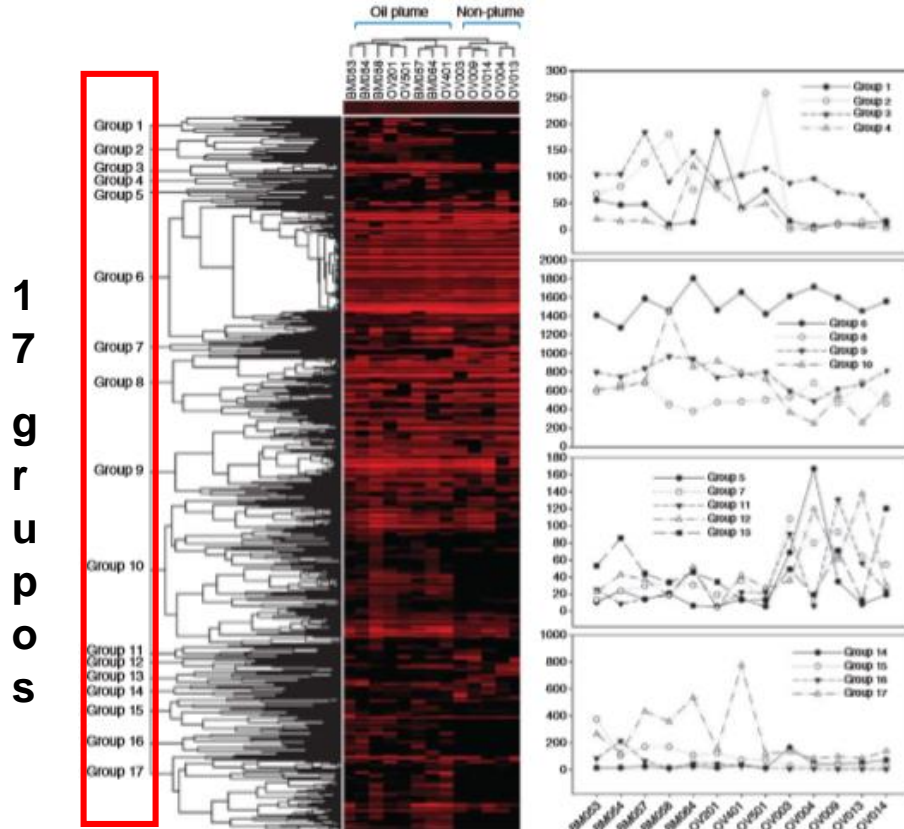
¹¹⁵ VILLAMAR. Op. cit., p. 209

¹¹⁶ LU, Zhenmei, *et.al.* Microbial gene functions enriched in the Deppwater Horizon deepsea oil plume. En: The ISME journal, 2012. vol, 6, p. 452- 457

como: oxígeno disuelto, cantidad de pequeñas partículas de crudo presentes, temperatura del agua (en zonas contaminadas y no contaminadas), cantidad de nitrógeno amoniacal total, cantidad de nitrito total y cantidades de ortofosfato.

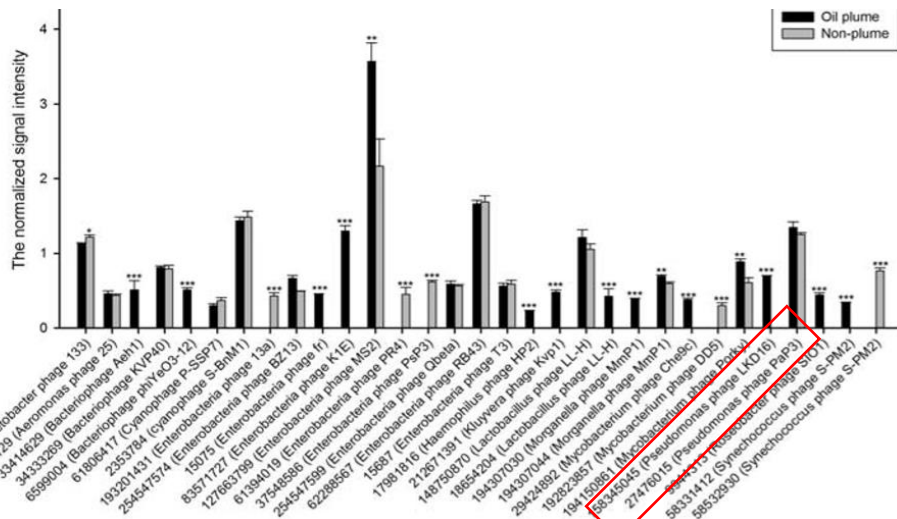
2. Ya en laboratorio se realizó un análisis a fondo de los grupos bacterianos que se lograron extraer, por medio de un equipo llamado GeoChip 4.0, donde se almacenan diferentes genes microbianos (biorreactor), donde se realizó la incubación a una temperatura de 42°C con 40% de formamida en un periodo de 16 horas aproximadamente.
3. Posteriormente, se escaneó cada célula detectada para definir cuántas clases de microorganismos habían (o resonancia magnética), para identificar picos altos y bajos que determinarían el índice de diversidad microbiana, tasa de posible crecimiento, composición y estructura de la cepa microbiana y el análisis de correspondencia canónica (CCA) para poder decidir si se pueden vincular al proceso bacterias comerciales (no nativas). Los resultados de estas variables se muestran en la figura 31, de la cual se puede observar que se detectaron 17 grupos de microorganismos en las muestras recolectadas, las cuales mostraron que cumplen con los requisitos para degradar partículas de carbono, mostraron que pueden lograr reducciones significativas de sulfato y una buena resistencia a metales pesados y al estrés.
4. Al observar que todos los grupos microbianos mostraron buenas respuestas, se inició una selección más exhaustiva en la cual se evaluaron: la cantidad de oxígeno disuelto, la temperatura en la cual es más fácil adaptarse y la cantidad total de hidrocarburos volátiles en los cuales son capaces de sobrevivir, tratando de separar las propiedades físico-químicas mediante un análisis de partición de variables CCA (análisis de correspondencia canónica) para determinar la estructura de cada grupo microbiano.
5. Es importante saber que la presencia de fósforo en los ciclos marinos disminuyen la eficacia de la biodegradación, y una de las consecuencias de un derrame de petróleo es el aumento de fósforo en el ambiente, a pesar de que incrementa la actividad bacteriana sus ciclos de vida son muy bajos si estos microorganismos no son lo suficientemente capaces de sobrevivir. Así que esta última selección de bacterias se identificaron las cepas con mayor capacidad de adaptación para la zona, dentro de las cuales se encontraron dos cepas de *Pseudomonas* como se observa en la figura 32 mediante un bacteriófago. A pesar de que estas bacterias aparecen generalmente cuando hay presencia de hidrocarburos pesados, en este caso el incremento de fósforo hizo que este grupo creciera favorablemente.

Figura 31. Lectura y resultados de la resonancia magnética de microorganismos.



Fuente. LU, Zhenmei, *et.al.* Microbial gene functions enriched in the Deepwater Horizon deepsea oil plume. *En: The ISME journal*, 2012. vol, 6, p. 453

Figura 32. Identificación de grupos de bacterianos favorables para biodegradación.



Fuente. LU, Zhenmei, *et.al.* Microbial gene functions enriched in the Deepwater Horizon deepsea oil plume. *En: The ISME journal*, 2012. vol, 6, p. 457.

Para Lu¹¹⁷, a pesar de todos los estudios realizados, la cantidad del petróleo derramado de pozo Macondo dejó un impacto grave a grandes profundidades por presencia de petróleo liviano y gas metano. La actividad bacteriana implantada en las zonas mediante tapetes microbianos no alcanza a llegar a zonas tan profundas y según las investigaciones realizadas en casos de derrames de petróleo anteriormente, la única forma en que se logre biodegradar el petróleo a grandes profundidades es la actividad y capacidad que tengan las bacterias indígenas presentes en ese entorno ya que son microorganismos que son altamente capaces de sobrevivir en lugares donde el oxígeno es muy escaso, estos son procesos que la tecnología actual no ha logrado descifrar.

Finalmente, se determinaron los niveles de contaminación que pudieran afectar a los seres humanos que consumen fauna marina, se calculó la concentración del contaminante presente en el agua con la ayuda de la ecuación 6, con la cual la EPA como citó Gohlke¹¹⁸, determinó que:

RL: El nivel de riesgo dio como resultado 1×10^{-5}

BW: Peso corporal promedio de adulto se asumió en 80 Kg

AT: Tiempo promedio se asumió en 78 años, como la base de expectativa de vida

CR: tasa de consumo para el camarón y cangrejo se estableció en 13 g/día, 12 g/día para ostras y 49 g /día para el resto de peces, teniendo en cuenta que en la zona se tenía un estimado estadístico de 90 consumidores de estas especies.

ED: Duración de exposición se tomó para 5 años, que es el tiempo promedio en que el contaminante sigue presente en las especies marinas.

Y como se mencionó anteriormente para:

CF: El factor de conversión se toma el valor de 1000 µg/mg

CSF: En el factor de pendiente de cáncer se tomó un valor de 7.3 mg / kg / día

A final del año 2010, se recolectó la información científica que se pudo obtener durante los procesos de recuperación los cuales dieron un cálculo de 40 mil millones de dólares (USD) en solo daños ambientales y 20 mil millones de dólares en la reparación de daños a nivel social y económico que exigieran los habitantes de las zonas que dependían del turismo y la pesca.

¹¹⁷ Ibid., p. 157 -158

¹¹⁸ Gohlke, *et.al.* Op.cit., p.1065

Los costos generados y registrados hasta el día de hoy se basaron en la comparación de los resultados e impactos que dejaron derrames anteriormente que se caracterizaron por tener dimensiones similares al del derrame del Golfo de México, tales resultados se muestran en la tabla 9, donde se observan las concentraciones de crudo y demás contaminantes tóxicos que fueron expuestos al ambiente y que fueron consumidos e impregnados en la piel de la flora marina. Esta información, se analizó con el fin de pautar límites aceptables para la ingesta humana y que estos no se vieran afectados con la aparición de enfermedades o intoxicaciones, de ahí que se vieran los altos costos, ya que debían cubrirse todos los impactos sociales, económicos y ambientales, teniendo en cuenta que ninguno tiene más relevancia que el otro.

Según la opinión dada por Narváez entrevistada por la agencia informativa Conacyt el 5 de Julio del 2017 en Yucatán, la recuperación de suelo marino y el agua de la zona continua en proceso con aplicación de varios tratamientos biológicos constantes, lo cual genera que se iniciaran investigaciones científicas alrededor del mundo que ayudaran a recrear la manera en que las bacterias logran incrementar las tasas de degradación en un menor tiempo, sin embargo cabe aclarar que la extensión de derrame fue muy grande y es casi imposible lograr aunque sea un 60% de degradación del petróleo que se derramó. Dichas investigaciones están a cargo del grupo del centro de investigación y estudios avanzados del instituto politécnico nacional CINEVESTAV IPN que hace parte del proyecto de investigación llamado análisis de comunidades microbianas en el Golfo de México y su aplicación en la degradación de hidrocarburos, con el cual están intentando mimetizar hoy en día la acción bacteriana como se ha mencionado anteriormente pero con muestras de agua mucho más grandes adaptando consorcios y no especies específicas, es decir, cultivar en una misma zona varias especies bacterianas que tengan capacidades y propiedades metabólicas diferentes para incrementar la eliminación de las infinitas mezclas de hidrocarburos, así lograr reducir más los costos y los daños ambientales secundarios .

Tabla 9. Resultados contenido de los niveles de concentración presentes en el derrame del Golfo de México plataforma Deepwater Horizon

Oil spill	Magnitude of spill (gallons)	Fisheries closures	RL ^a	BW (kg)	PAH CSF (mg/kg/day) ^b	CR (g/day)	ED (years)	LOC
DH, Gulf of Mexico, 2010	206,000,000	1–12 months, area around platform opened 19 April 2011	1:100,000	80	7.3	Finfish: 49 Shrimp/crab: 13 Oysters: 12	5	Finfish: Shrimp: Oysters:
T/V <i>Dubai Star</i> , San Francisco Bay, California, 2009	400–800	1 month	1:10,000	70	11.5	32.5 (one 8-ounce meal per week)	30	Fish an
<i>Cosco Busan</i> , San Francisco Bay, California, 2007	58,000	1 month	1:10,000	70	11.5	32.5 (one 8-ounce meal per week)	30	Fish an
M/V <i>New Carissa</i> , Oregon, 1999	70,000	Bivalves: 21 days	1:1,000,000	70	7.3	Shellfish: 7.5 (average) 32.5 (high)	2	Shellfis 10 (high) 45 (ave
M/V <i>Kure</i> , California 1997	4,537	Oyster, crab: 49 days	1:1,000,000	70	9.5	Shellfish: 7.5 (average) 50 (high)	2	Shellfis 5 (high) 34 (ave
T/V <i>Julie N</i> , Maine, 1996	180,000	Shellfish: 15 days	1:100,000	70	7.3	Lobster: 13.6	10, 30	Lobster (for 30-
T/B <i>North Cape</i> , Rhode Island, 1996	828,000	Finfish and bivalves: 73 days Lobsters: 75–155 days	1:1,000,000	70	7.3	30	5	Lobster
T/V <i>Braer</i> , Shetland Islands, 1993	25,000,000	Finfish: 2 months Farmed salmon: 2 years Lobster: > 6 years						Reach levels
T/V <i>Exxon Valdez</i> , Alaska, 1989	11,000,000	Herring/salmon: entire season Bivalves: advisories in four subsistence harvest areas	1:1,000,000	70	7.3	Salmon: 89 Other finfish: 52 Crustaceans: 21 Bivalves: 2	10, 70	Salmon Finfish: Crustac Bivalve (for 70

Fuente. GOHLKE, Julia M, *et.al.* A review of seafood safety after the Deepwater Horizon blowout. *En: Environmental health perspectives*. Agosto, 2011. vol, 119, no. 8, p. 1065.

4.2 CASO DE ESTUDIO EN SUELO CONTAMINADO

Este caso de estudio se basa en el proceso de biodegradación y aislamiento de bacterias investigado por Castillo Rojas¹¹⁹, que se realizó en una refinera que contaba con una capacidad de 250.000 barriles de crudo del que se derivaban gasolina, turbo A1, diésel, kerosene, asfaltos y varios solventes a nivel industrial. En la cual había una filtración en la parte inferior de los tanques de almacenamiento que contaminaron la superficie del suelo donde se encontraban instalados por falta de cumplimiento de las normas ambientales en donde es obligatorio contar con las barras de aislamiento necesarios para evitar estos derrames como se observa en la figura 33.

¹¹⁹CASTILLO ROJAS, Paul Alfonso. Aplicación de la técnica de Landfarming para la remediación de suelos contaminados con hidrocarburos. Tesis para optar el título de ingeniero civil. Piura, Perú. Universidad de Piura, Facultad de ingeniería. Marzo, 2009. 55- 69 p.

Figura 33. Estado de suelos por contaminación de hidrocarburos en refinería de Perú.



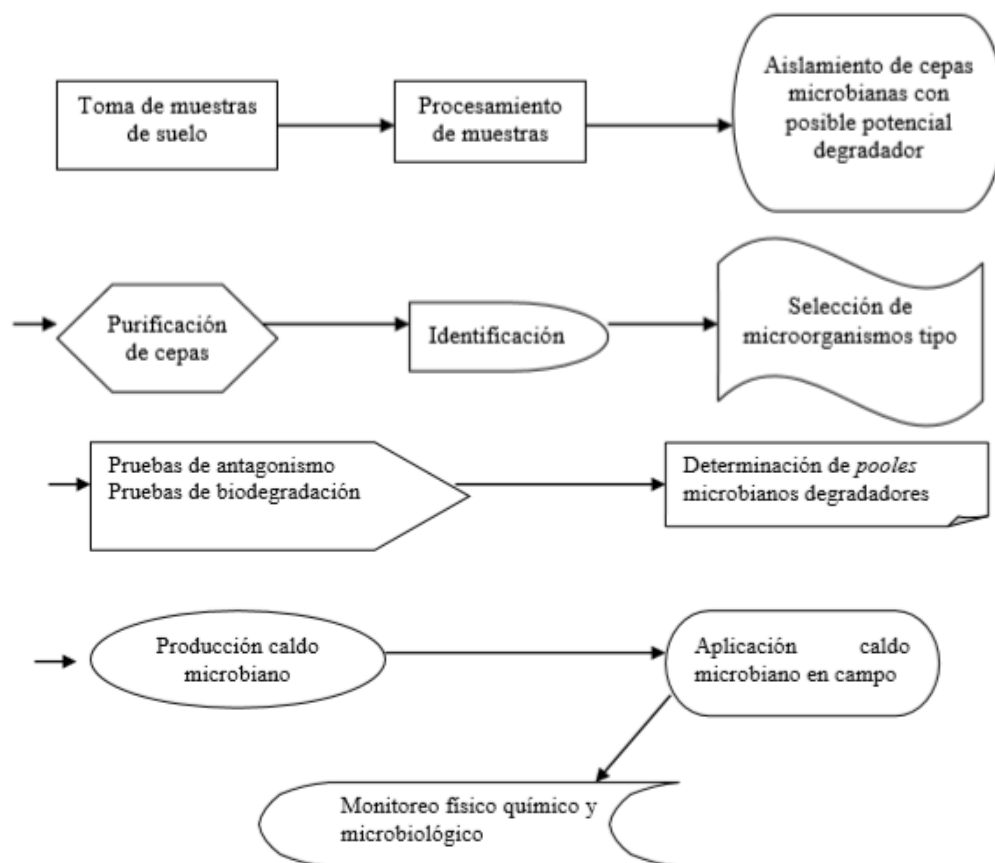
Fuente. CASTILLO ROJAS, Paul Alfonso. Aplicación de la técnica de Landfarming para la remediación de suelos contaminados con hidrocarburos. Tesis para optar el título de ingeniero civil. Piura, Perú. Universidad de Piura, Facultad de ingeniería. Marzo, 2009, p.56.

Para llevar a cabo el proceso de limpieza del diésel inicialmente se implementaron dos técnicas a nivel de ingeniería (derramamientos para impermeabilizar la zona, barras de contención y filtros) y a nivel de biotecnologías (biodegradación por técnica Landfarming), con el fin de lograr una disminución de los contaminantes a menos del 2%, en este caso por el fácil acceso se pudo aplicar la técnica exsitu e insitu, en un periodo de excavación del suelo contaminado que llevo alrededor de 5 meses. El primer paso, fue la construcción de la zona para Landfarming exsitu que lleva menos tiempo y lograr adelantar el tratamiento con filtros naturales teniendo en cuenta los límites de las zonas afectadas y del tanque que estaba generando la filtración del cual se logró obtener un volumen total de suelo contaminado de 3.869,87 m³. Adicionalmente, se construyeron dos pozos exclusivos para recolectar el crudo que se pudiera recuperar durante el tratamiento y un pozo para acumulación de aguas lluvia.

Mientras Castillo Rojas¹²⁰ realizaba los últimos detalles de la construcción de la zona Landfarming, se inició el proceso científico en laboratorio como se muestra en la figura 34.

¹²⁰ Ibid., p. 55-69.

Figura 34. Proceso de preparación de cepas bacterianas para biodegradación del suelo contaminado en refinería de Perú.



Fuente. CASTILLO ROJAS, Paul Alfonso. Aplicación de la técnica de Landfarming para la remediación de suelos contaminados con hidrocarburos. Tesis para optar el título de ingeniero civil. Piura, Perú. Universidad de Piura, Facultad de ingeniería. Marzo, 2009, p.62- 63.

En cuanto al aislamiento y preparación de los microorganismos se realizó el cultivo adecuado con caldo de enriquecimiento de nutrientes en diferentes probetas ya que el suelo era bajo en materia orgánica (baja fertilidad) y poder analizar cuál fue el que mejor comportamiento demostró después de un tiempo de incubación obligatorio, para posteriormente ser visualizadas con microscopio donde se pudieron observar diferentes colores, formas y tamaños que indicaron 53 cepas bacterianas de las cuales solo 46 lograron la adaptación completa si ningún tipo de inconvenientes, lo cual fue un resultado optimista, pero varias cepas generaron ácido sulfúrico con la presencia de algunos químicos, es decir, indicaba comportamiento fermentador y no de oxidación, dando paso a su eliminación y quedando solo 6 cepas. Luego, se analizó exhaustivamente la identificación de cada una de esas cepas dando como resultado dos tipos de bacterias (Gram positivas y Gram negativas) como se muestra en la tabla 10, en donde se puede evidenciar la aparición de tres clases de Pseudomonas.

Tabla 10. Identificación de las cepas bacterianas aisladas en la refinería.

BACTERIAS GRAM POSITIVAS		BACTERIAS GRAM NEGATIVAS	
<i>Micrococcus spp</i>	35 %	<i>Pseudomonas spp</i>	29 %
		Predominio <i>P. aeruginosa</i>	4,5 %
		<i>Pseudomonas</i> grupo fluorescente	
<i>Bacillus spp</i>	24.5%	<i>Enterobacter spp</i>	4,5 %
<i>Staphylococcus spp</i>	7 %		

Fuente. CASTILLO ROJAS, Paul Alfonso. Aplicación de la técnica de Landfarming para la remediación de suelos contaminados con hidrocarburos. Tesis para optar el título de ingeniero civil. Piura, Perú. Universidad de Piura, Facultad de ingeniería. Marzo, 2009, p. 64.

Luego se pusieron en contactos de otro caldo de enriquecimiento, para lograr la unificación de las bacterias nativas con algunas comerciales que ayudaran a agilizar el proceso de biodegradación y recuperación del suelo, enseguida fueron expuestos en la zona contaminada y preparada por las excavaciones anteriormente mencionadas, peor aun así se seguía la aplicación del caldo en la tierra a tratar con mangueras.

Los nutrientes colocados en el método landfarming de esta zona fueron nitrógeno y fosforo para generar un equilibrio con lo carbonos presentes de las cadenas de hidrocarburos adquiriendo un incremento en las tasas de biodegradación, pero siempre teniendo en cuenta las concentraciones que acepten los suelos de la zona. En este caso como el suelo tenía una fertilidad tan baja, se empearon trabajos manuales y mecánicos para mover la tierra y brindarle mejor cantidad de oxígeno, una mayor porosidad y mejor esparcimiento de los hidrocarburos para aun buen tratamiento.

Cada tres semanas se hacía registro de la concentración de hidrocarburos totales, para determinar si el tratamiento estaba funcionando o no, seleccionando sitios al azar en los que se extraían seis u ocho muestras por cada punto y obtener una muestra representativa.

El tratamiento como tal, se le atribuyo principalmente a las capacidades de las *Pseudomonas* que lograron degradar los compuestos más tóxicos y complejos como los metales pesados presentes en la zona (como lo indica la tabla 11), lo cual disminuyo el tiempo predispuesto del tratamiento y se logró finalizar a los 144 días (casi 5 meses) con resultados exitosos, como se puede ver en la tabla 17, donde se registraron los niveles de concentración de cada componente a descomponer, en la que se puede ver que se llegó a valor deseado de concentración de TPH < 2% solo por acción de las bacterias, el buen resultado del proceso se dio gracias a que las adaptaciones en laboratorio y lo procesos manuales fueron sumamente vitales para estabilizar el crecimiento, mantenimiento y reproducción de las bacterias en el ambiente contaminado.

Tabla 11. Niveles de concentración registrado de todos los componentes implícitos en la biodegradación del suelo por Landfarming.

Elemento (ppm)	Día 1	Día 22	Día 57	Día 84	Día 101	Día 124	Día 144
Plomo	140	170	64	89	10	11	56
Cadmio	0,36	0,23	0,36	0,47	1,06	0,91	0,65
Bario	42	24	30	29	8	10	25
Cromo	16	15	13	15	10,4	10,3	10
Mercurio	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

Fuente. CASTILLO ROJAS, Paul Alfonso. Aplicación de la técnica de Landfarming para la remediación de suelos contaminados con hidrocarburos. Tesis para optar el título de ingeniero civil. Piura, Perú. Universidad de Piura, Facultad de ingeniería. Marzo, 2009, p. 69.

Tabla 12. Registro de la disminución de las concentraciones de los contaminantes hasta los límites permisibles en Perú.

PARÁMETRO EVALUADO	DÍA DE TRATAMIENTO						
	1	22	57	84	101	124	144
pH	7,03	6,52	7,78	7,49	6,55	6,79	6,16
Cloruros (ppm)	3.689	4.192	7.018	7.954	10.452	7.119	12.456
Nitrógeno (ppm)	773	674	614	1.273	971	1343	104
Potasio (ppm)	916	172	2.173	2.554	1.787	1.944	1.892
Fosforo (ppm)	30	90	92	127	319	297	85,9
Humedad (%)	6,03	9,20	9,63	10,31	10,17	9,18	6,98
Materia orgánica (%)	12,57	6,90	8,27	6,47	5,83	6,43	5,22
TPH (%)	8,49	4,56	4,62	3,49	2,20	1,75	1,10
Recuento total microbiano (ufc/g)	1x10 ⁶	1x10 ⁴	9x10 ⁴	1x10 ⁴	9x10 ⁵	2x10 ⁶	3x10 ⁶
Recuento población degradadora (ufc/g)	2x10 ⁴	2x10 ²	2x10 ²	3x10 ²	7x10 ⁵	9x10 ⁵	1x10 ⁶

Fuente. CASTILLO ROJAS, Paul Alfonso. Aplicación de la técnica de Landfarming para la remediación de suelos contaminados con hidrocarburos. Tesis para optar el título de ingeniero civil. Piura, Perú. Universidad de Piura, Facultad de ingeniería. Marzo, 2009, p. 69.

Este caso de biodegradación duro poco tiempo debido a que la concentración de los hidrocarburos totales presentes era de 4,62%, lo cual daba paso a una buena descomposición del hidrocarburo, ya que si hubieran sido mayores al 8 % disminuiría evidentemente la acción bacteriana y hubiera podido tardar incluso hasta años el tratamiento. Por lo cual la técnica de Landfarming, alcanzo un 50 % de efectividad, resaltando el papel que llevaron a cabo las Pseudomonas por ayudar a mantener los niveles de nitrógeno normales.

Por supuesto nunca se alcanza una degradación total de los hidrocarburos ya que dentro de este proceso interactúan componentes mucho más tóxicos que el petróleo, por lo cual siempre se procura que este tipo de biotecnologías den como resultado límites de concentración permisibles que sean aptos para la vida de los ecosistemas afectados y de las personas.

5. CONCLUSIONES

- En el momento es que se presenta un derrame de petróleo se generan cambios drásticos en las características del ecosistema afectado, lo cual genera un activación inmediata de las poblaciones microbianas degradadoras nativas. Pero cuando se trata de suelos infértiles, es necesario aplicar bacterias comerciales lo cual lleva un proceso mucho más largo y el resultado no será tan exitoso, ya que dependerán de constantes controles, estimulaciones e ingreso de nuevas bacterias cada cierto tiempo.
- La gravedad de los impactos que causa la presencia de petróleo en un ecosistema, no solo ambientales si no también económicos y sociales. Esto genera grandes deudas y pérdidas tanto para la compañía encargada de la operación como para la sociedad que hace uso de algún tipo de recurso natural de la zona para sostenibilidad económica.
- El proceso de biodegradación es una de las biotecnología con más beneficio a nivel ambiental y económico debido a por su trabajo conjunto con los recursos que la naturaleza le brinda, para no hacer uso de sustancias químicas que puedan generar un daño mayor del ya ocasionado, además de que los costos son mucho más bajos en comparación de los métodos artificiales.
- El comportamiento de las Pseudomonas y de todos los microorganismos que interactúan para llevar acabo la degradación de los hidrocarburos dependen de las características físico químicas que presenta la zona que se quiere tratar, por esta razón, su efectividad puede verse afectada de un 20% a un 30%, generando que prácticamente el tratamiento sea un fracaso si no se recolecta la información real.
- Científicamente las Pseudomonas hacen parte de uno de los grupos bacterianos más eficaces a la hora de degradar compuestos tóxicos por su gran capacidad metabólica, especialmente petróleos pesados que tengan presencia de metales pesados y ambientes marinos donde hay escasez de oxígeno disuelto, alta salinidad y altos contenidos de sulfuro. Adicionalmente, si se estimulan con inyección de nutrientes y oxígeno actuaran con mayor energía y realizaran una mejor digestión de la cadena de hidrocarburos a romper como se mostró durante el desarrollo del documento, en donde la técnica de landfarming (suelos y sedimentos) tiene un resultado del 43% sin técnicas de estimulación y 50% con técnicas de estimulación, e igualmente los tapetes microbianos (agua) muestran una efectividad del 62% sin técnicas de estimulación y un 70% con técnicas de estimulación, lo cual demuestra que los procesos de biodegradación son más exitosos en ambientes acuosos que en suelos o sedimentos, lo que demuestra que la tasa de crecimiento de las Pseudomonas y la tasa de degradación es

directamente proporcional, es decir si se estimulan las tasas de crecimiento en un 7 a 10% la tasa de degradación aumentara igualmente un 10%.

- En los filtros de selección de microorganismos en los dos casos de estudio (Perú y Estados Unidos), se observó la aparición del grupo Gram negativo Pseudomonas, lo cual benefició la continuación del proceso por su fácil adaptación en laboratorio y en contacto con el ambiente, sin embargo se vio que si el tiempo de acción para iniciar el tratamiento y sellar el punto donde emerge el petróleo no se realiza dentro de los plazos pactados por las autoridades ambientales, los impactos pueden extenderse hasta las zonas costeras y alcanzar grandes extensiones por consecuencia de las corrientes marinas como se pudo ver en el caso del Golfo de México en Estados Unidos, es decir las zonas afectadas incrementaron en más de un 80% en m² de lo que se tenía planea tratar en un comienzo.

6. RECOMENDACIONES

Mediante el desarrollo del documento se encontró que falta mayor investigación biotecnologías en Colombia para poder implementar este tipo de biotecnologías en el país, teniendo en cuenta la cantidad de petróleo derramado como consecuencia de los actos terroristas que afectan la red de distribución de crudo y gas en todo el país, esto ayudaría a que los impactos ambientales generados disminuyeran en un porcentaje considerable además de que los gastos generados para implementar procesos químicos disminuiría casi en un 50% al usar técnicas biológicas. Por lo cual, sería ideal que la Universidad América, enfocara investigación hacia este tipo de proyectos teniendo en cuenta que se tiene la ayuda de ingenieros químicos y petroleros que pueden generar excelentes investigaciones y lograr aplicarlos en Colombia.

Estas investigaciones podrían enfocarse en la complementación de la información recopilada en este documento, con el objetivo de adquirir mayor conocimiento en las áreas que a los profesionales de la universidad les compete, ya que en la actualidad el planeta está gravemente afectado por las malas prácticas ambientales que implementan la industria en todos los países. Esto ayudaría a crear conciencia y que la ingeniería lograra unificar conceptos técnicos con ambientales, puesto que como se logró ver durante el desarrollo de la monografía, la naturaleza ofrece infinidad de herramientas para solucionar los impactos que en este caso han generado los derrames de petróleo a nivel ambiental, social y económico por décadas.

BIBLIOGRAFÍA

ABURTO, Jorge; ROJAS AVELIZAPA, N y QUINTERO RAMÍREZ, Rodolfo. La biotecnología actual y su impacto en la industria de la refinación del petróleo. En: Biotecnología aplicada. 2003. No. 20, p. 57 -65.

ADAMS.S, Randy H; DOMÍNGUEZ.R, Verónica I y GARCÍA. H, Leonardo. Potencial de la biorremediación de suelo y agua impactados por petróleo en el trópico mexicano. En: Terra. Marzo- junio, 1999. Vol. 17 no. 2, p. 159-174.

ADAMS, R; ZAVALA CRUZ, J y MORALES GÁRCIA, F. Concentración residual de hidrocarburos en el suelo trópico, afectación a la fertilidad y su recuperación. En: interciencia. 2008. no. 33, p. 483- 489. Citado por: VELÁSQUEZ AGRARIA, Johana Andrea. Contaminación de suelos y cuerpos de agua por hidrocarburos en Colombia, fitorremediación como estrategia biotecnología de recuperación. Trabajo de grado para especialización en biotecnología agraria. Yopal, Casanare.: Universidad nacional abierta y a distancia, 2016. p. 16

AGRAZ HERNÁNDEZ, Claudia, *et al.* Golfo de México, contaminación e impacto ambiental: diagnóstico y tendencias. 2 ed. México. 2005. 682 p. ISBN 968- 5722-37- 4

ALANÍS GARCÍA, Ernesto y GUERRERO LEGARRETA, Isabel. Pseudomonas en biotecnología. En: Biotecnología. 2004. vol. 9, no. 1, p. 26 – 37.

AMNISTÍA INTERNACIONAL. Nigeria: petróleo, contaminación y pobreza en el Delta del Níger. Londre.: Amnesty international, 2009. 55 p.

ARBOLEDA JACOME, Viviana Gabriela y BRAVO BASANTES, Verónica Mercedes. Biorremediación del suelo contaminado con hidrocarburos de la central hidroeléctrica del campamento Secoya mediante landfarming. Trabajo de grado Ingeniería en biotecnología ambiental. Riohamba, Ecuador: Escuela superior politécnica de Chimborazo, facultad de ciencias. Escuela de ciencias químicas. 2008. 111 p

AVELLANEDA CUSARÍA, Alfonso. Petróleo, seguridad ambiental y exploración petrolera marina en Colombia. En: Iconos, revista de ciencias sociales. Enero, 2005. vol. 9, no. 21,p. 11-17. (eLibro)

BARRY KING. R, M. LONG. Gilbert y K.SHELDIN. John. Practical environmental bioremediation, the field guide. Florida.: Lewis publishers, 1998. 181 p.

BRAVO, Elizabeth. Los impactos de la explotación petrolera en ecosistemas tropicales y la biodiversidad. En: Acción ecológica, Informe ejecutivo. Mayo, 2007. 61 p.

CASTILLO ROJAS, Paul Alfonso. Aplicación de la técnica de Landfarming para la remediación de suelos contaminados con hidrocarburos. Tesis para optar el título de ingeniero civil. Piura, Perú. Universidad de Piura, Facultad de ingeniería. Marzo, 2009. 89 p.

CASTRO, Daniela. Biorremediación de agua contaminada por diésel y petróleo empleando un micro bioma y sustancias húmicas. Trabajo de grado para obtener el título de ingeniero químico industrial. México, México D.F.: Instituto politécnico nacional: Escuela superior de ingeniería química e industriales extractivas. 2015. 113 p.

CLIFTON, Adam. Oil spills: environment issues, prevention and ecological impacts. Hauppauge, New Yor.: 2014. 226 p. ISBN 978- 63321- 548- 1 (eBook).

CUELLAR OROZCO, Gloria; PINEDA FLORES, Gabriel y SALGADO BRITO, Rosa. Optimización de la degradación de la para.na p-1 por Pseudomonas aeruginosa mgp-1. En: Ciencia y tecnología, Universidad Simón Bolívar. Diciembre- Enero, 2009. vo. 11, no. 6, p. 96- 105.

DAE- GON HA y O'TOOLE. c-di-GMP and its effects on biofilm formation and dispersion: a Pseudomonas Aeruginosa Review. En: Microbial bifilms. 2 ed. Washington D.C: GHANNOUM, Mahmoud; PARSEK, Matthew; WHITELEY, Marvin y MUKHERJEE, Pranab K, 2015.p. 301.

DELGADO. R, Gian Carlo. Petróleo, medio ambiente, cambio climático y seguridad: Macondo, otra advertencia más. En: Nómadas, revista crítica de ciencias sociales y jurídicas. Febrero, 2011. Vol. 30, p. 1-16

DI TORO, D.M; McGRATH, J.A. y STUBBLEFIELD, W.A. Predicting the toxicity of neat and weathered crude oil: toxic potencial and the toxicity of saturated mixtures. En: Environmental toxicology and chemistry . 2007. vol. 26, no. 1, p. 24 – 36 citado por BRAVO, Elizabeth. Los impactos de la explotación petrolera en ecosistemas tropicales y la biodiversidad. En: Acción ecológica, Informe ejecutivo. Mayo, 2007. p. 4.

ECHEVERRI, L. Población, ecología y ambiente. Navarra: Universidad de Navarra. 2008. Citado por: CASTRO, Daniela. Biorremediación de agua contaminada por diésel y petróleo empleando un micro bioma y sustancias húmicas. Trabajo de grado

para obtener el título de ingeniero químico industrial. México, México D.F.: Instituto politécnico nacional: Escuela superior de ingeniería química e industriales extractivas. 2015. 113 p.

ECHEVERRI JARAMILLO, Gustavo Eugenio; MANJARREZ PABA, Ganiveth y CABRERA OSPINO, Melody. Aislamiento de bacterias potencialmente degradadoras de petróleo en hábitats de ecosistemas costeros en la Bahía de Cartagena, Colombia. En: Ciencia Biomédica. Enero- junio, 2010. Vol. 8, no. 13, p. 76- 86.

ESCALANTE GUZMÁN. Biodegradación de crudo de petróleo en terrarios. Trabajo de grado magister en biotecnología. Lima, Perú.: Universidad nacional mayor de San Marcos. Facultad de farmacia y bioquímica, 2002. 58 p.

EWEIS, J, *et al.* Principios de biorrecuperación, 1999. Citado por LOYA DEL ANGEL, Daniela Itzel. Tecnologías para la restauración de suelos contaminados por hidrocarburos. Trabajo de grado especialista en gestión e impacto ambiental. México, Veracruz.: Universidad Veracruzana. Facultad de ciencias biológicas y agropecuarias. 2013. p. 18

FARRINGTON, Jhon W. Oil pollution in the marine environmental II: fates and effects of oil spills. En: Environment magazine. Julio- Agosto, 2014, vol. 56 no. 4, p. 16-32.

FERNÁNDEZ, CELESTE, *et.al.* Biodegradación de asfalteno y resinas por microorganismos presentes en suelo contaminado con hidrocarburo. En: Revista de la facultad de ingeniería U.C.V. abril, 2008. Vol. 23, no. 4, p. 7-15

FISHER, Charles R, *et al.* Coral communities as indicators of ecosystem level impacts of Deepwater Horizon spill. En: Bioscience. Septiembre, 2014. vol. 64, no. 9. p. 796- 807

GOHLKE, Julia M, *et.al.* A review of seafood safety after the Deepwater Horizon blowout. En: Environmental health perspectives. Agosto, 2011. vol, 119, no. 8, p. 1062- 1069.

I. Almaghrabi, O. Chaalal, M.R. Islam, SPE, UAE University, Al- Ain, United Arab Emirates. Thermophilic Bacteria in UAE Environment Can Enhance Biodegradation and Mitigate Wellbore Problems. En: Abu Dhabi International Petroleum Exhibition (8: 11-14, octubre: Abu Dabhi, U.A.E.) SPE 49545. Abu Dhabi: Society of petroleum engineers, 1998. P. 778-788.

JURELEVICIUS, Diogo y SELDIN, Lucy. Bacteria and their genes coding for enzymes involves in bioremediation of petroleum hydrocarbons. En: Bioremediation:

biotechnology, engineering and environmental management. New York: MASON, Alexander C, 2012. p. 134-135.

J.F. Cuthbertson, Celitta consultants. Enhanced anaerobic biodegradation of petroleum hydrocarbons in groundwater. En: The SPE Americans E&P health, safety, security and environmental conference. (1: 21-23, marzo: Houston, Texas, USA). SPE 141014. Houston:Society of petroleum engineers, 2011, p.1-7.

L.B, Ellis; C.D, Hershberg; E.M, Bryan; L.P, Wackett. The university of Minnesota biocatalysis/ biodegradation database: emphasizing enzymes. En: Nucleic acids research. 2001, Vo. 29 no. 1, p. 340- 343., citado por ALANIS GARCÍA, Ernesto y GUERRERO LEGARRETA, Isabel. Pseudomonas en biotecnología. En: Biotecnología. Universidad autónoma metropolitana Iztapalapa, México. Vol. 9 no. 1, p. 26

LÓPEZ, Nestor Alí y LOZADA DÁVILA, José Rafael. Uso de la biorremediación para el saneamiento de sustratos contaminados por petróleo en el oriente de Venezuela. En: Ecodiseño y sostenibilidad. Enero- diciembre, 2011. Vol. 3, no. 1, p 227- 236.

LORS, Christine y MAMINDY- PAJANDY, Yannick. Bioremediation of heavy metals in sediments. En: VELÁZQUEZ FERNÁNDEZ, Jesús Bernardino y MUÑIZ HERNÁNDEZ. Bioremediation: processes, challenges and future prospects. New York, 2014 p. 3- 18. ISBN: 978-1-62948-515-7 (Ebook).

LOYA DEL ANGEL, Daniela Itzel. Tecnologías para la restauración de suelos contaminados por hidrocarburos. Trabajo de grado especialista en gestión e impacto ambiental. México, Veracruz.: Universidad Veracruzana. Facultad de ciencias biológicas y agropecuarias. 2013. 102 p.

LU, Zhenmei, *et.al*. Microbial gene functions enriched in the Deepwater Horizon deepsea oil plume. En: The ISME journal, 2012. vol, 6, p. 451- 460

MARTINEZ, Alonso y N. Gaju. El papel de los tapetes microbianos en la biorrecuperación de zonas litorales sometidas a la contaminación por vertidos de petróleo. En: Ecosistemas. Mayo, 2005. Vol. 14, No. 2. p. 79- 91.

MONTERO, Gisela. Toxicity and pollution facto: a proposal to evaluate the gaseous refinery emissions. En: Industrial pollutions including oil spills. New York: Harry Newbury y William De Lorne, 2009. 338 p. ISBN 978-1-60456-917-9.

MORA, A., *et al*. Biodegradación oxigénica de BTX en matrices acuosas: evaluación de parámetros operacionales. En: CT&F – Ciencia, Tecnología y Futuro. Diciembre, 1998. Vol. 1, no. 4, p. 75- 84.

NACIONES UNIDAS. Biotecnología y desarrollo. Informe de las Naciones Unidas. Santiago de Chile: BISANG, Roberto; CAMPI, Mercedes y CESA, Verónica; 2009. LC/W.234

NEY,R. Fate and transport of organic chemicals in the environment. 1990, Estados Unidos. Citado por LOYA DEL ANGEL, Daniela Itzel. Tecnologías para la restauración de suelos contaminados por hidrocarburos. Trabajo de grado especialista en gestión e impacto ambiental. México, Veracruz.: Universidad Veracruzana. Facultad de ciencias biológicas y agropecuarias. 2013. p. 8

ORDINIOHA, Best y BRISIBE, Seiyefa. The human health implications of crude oil spills in the Niger delta, Nigeria: An interpretation of published studies. En: Nigerian medical journal. Enero- febrero, 2013. vol. 54, no. 1, p. 10-16.

ORDOÑEZ GÁLVEZ, Juan Julio. Cartilla técnica: aguas subterránea- acuíferos. Lima, Perú.: Zaniel I. Novoa Goicochea, 2011. 44 p. ISBN 978- 9972- 602- 78- 8

OROZCO CUELLAR, Gloria; PINEDA FLORES, Gabriel y SALGADO BRITO, Rosa. Optimización de degradación de la para.na 1 por Pseudomonas aeruginosa mgp-1. En: Ciencia y tecnología. Diciembre, 2009. Vol. 11, no.6. p. 96-105.

PARIS DE FERRER, Magdalena. Fundamentos de ingeniería de yacimientos. Maracaibo, Venezuela. 2009. 588 p. ISBN 978-980-12-3048-9.

PERES, Lauren C, *et al*. The deepwater horizon oil spill and physical health among adult women in southern Louisiana: the women and their children's health (watch) study. En: Environmental health perspectives. Agosto, 2016. vol. 124, no. 8. p. 1208-1213.

P,Galstoff. Oil pollution in Coastal Waters proceedings of the North American wildlife conference. 1936., Citado por FARRINGTON, Jhon W. Oil pollution in the marine environment II: fates and effects of oil spills. En: Environment magazine. Julio- Agosto, 2014, vol. 56 no. 4., p. 16-32.

RIVERA CRUZ, María del Carmen, *et al*. Adaptación y selección de microorganismos autóctonos en medios de cultivos enriquecidos con petróleo crudo. En: Terra latinoamericana. Octubre - diciembre, 2002. Vol. 20, No. 4. P. 423 – 434.

R.G. Bland, D.K. Clapper, N.M. Fleming, C.A. Hood, Milpark Drilling Fluids. Biodegradation and drilling fluid chemicals. En: SPE/IADC Drilling conference (1: 23-25, Febrero: Amsterdam). SPE/IADC 25754. Amsterdam: IADC members y SPE members, 1993. p. 727- 736.

R.J. Oswald, SPE, Hoechst AG y M. Hille. Biodegradation on the seafloor- Science or speculation?. En: SPE international symposium on oilfield chemistry (1: 18-21, febrero: Houston, Texas). SPE 37262. Houston: Society of petroleum engineers Inc, 1997. p. 517- 522.

RODRÍGUEZ GALLEGO, José Luis y SANCHÉZ MARTIN, Jesús. Aspectos tecnológicos y aplicación al vertido del Prestige, Biorremediación. En: Universidad de Oviedo. 2003. p. 17

SAN SEBASTIÁN, Miguel. Informe Yana Curi: Impacto de la actividad petrolera en la salud de las poblaciones rurales de la amazonia ecuatoriana. Medicus mundi: Icara editorial., 2000. 110 p. ISBN 8474265045

SCHMIDT- ETKIN, Dagmar. Spill occurrences: a world overview. En: FINGAS, MERVIN F. Oil spill science and technology. USA, Fingas Mervin, 2011. 1149 p.

SEOÁNEZ CALVO, Mariano. Manual de contaminación marina y restauración del litoral. Contaminación, accidentes y catástrofes, agresiones a las costas y soluciones. España.: Mundi- prensa, 2000. 566 p. ISBN 84- 7114- 914- 1. (eLibro)

SHIGENAKA, Gary. Effects of oil in the environment. En: FINGAS, MERVIN F. Oil spill science and technology: prevention, response and cleanup. Estados Unidos.: FINGAS, Mervin. 2011. p. 984- 1024

SILOS RODRÍGUEZ, José María. Manual de lucha contra la contaminación por hidrocarburos. España.: Servicio de publicaciones de la universidad de Cádiz, 2008. 342 p. ISBN 978- 84- 9828- 156- 9.

SULBARÁN MORA, Miguel, *et.al.* Caracterización de biosurfactantes producidos por *Pseudomonas* fluorescentes aisladas de emulsiones de petróleo pesado. En: Ciencia. Abril- Junio, 2005. vol. 13, no. 2, p. 228- 239.

TRUJILLO TORO, María Alejandra y RAMÍREZ QUIRAMA, Juan Fernando. Biorremediación en suelos contaminados con hidrocarburos en Colombia. En: Revista de investigación agraria y ambiental. Julio- Diciembre, 2012. vol. 3, no. 2. p 37- 62.

URWELLEN, Robert H. Oil spill cost and impacts. New York: Nova science publishers, Inc, 2009. 45 p. ISBN 978-1-61470-470-6

VELÁSQUEZ AGRARIA, Johana Andrea. Contaminación de suelos y cuerpos de agua por hidrocarburos en Colombia, fitorremediación como estrategia biotecnología de recuperación. Trabajo de grado para especialización en biotecnología agraria. Yopal, Casanare.: Universidad nacional abierta y a distancia, 2016. 51 p.

VERGARA, Ignacio y PIZARRO, Francisco. Manual. Control de derrames de petróleo. 1 ed. Santiago, Chile: Naciones Unidas para el medio ambiente (PNUMA), Organización consultiva marítima intergubernamental (IMCO-OCMI) y la comisión permanente del Pacífico Sur (CPPS). Noviembre, 1981. 592 p.

VILLAMAR, Zirahuén. ¿Cuál fue la visión oficial estadounidense del daño ambiental producido por el derrame de crudo del pozo Macondo?. En: Norteamericana. Enero-junio, 2011. vol. 6, no. 1, p. 205- 218

ZOBELL, C.E. Action of microorganisms in hydrocarbons. 1946. Vol. 10. p. 1-4., citado por RODRÍGUEZ GALLEGO, José Luis y SANCHÉZ MARTIN, Jesús. Aspectos tecnológicos y aplicación al vertido del Prestige, Biorremediación. En: Universidad de Oviedo. 2003. p. 17