

Alternativas de Biorremediación en Fuentes Hídricas Contaminadas por Hidrocarburos.

Jaigler Johanny González Plata

**Monografía Presentada como Requisito para optar al Título de
Especialista en Química Ambiental**

Director

Mabel Juliana Quintero Silva

M.Sc. Ciencias Básicas Biomédicas

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ciencias

Escuela de Química

Bucaramanga

2019

Agradecimientos

Agradezco a Dios por conducirme y brindarme esta valiosa experiencia en mi vida profesional, la cual me enriquece como ser humano. A mi madre Griselda Plata Rivera, por su amor y comprensión ante las decisiones que encaminan mi profesión. A mi novia Karen Díaz, por las veces que se sentó a mi lado a darme animo ante las difíciles situaciones. A todos y cada uno de mis compañeros de la especialización que me brindaron su apoyo incondicional en los momentos que lo necesite.

De igual forma, agradezco a mi directora de grado Mabel Juliana Quintero Silva por las orientaciones y sugerencias muy constructivas que contribuyeron al desarrollo de esta monografía. También quisiera agradecer a todas las personas que han sido importantes para el nacimiento de este documento y con las que he discutido el planteamiento, las ideas y la redacción. Por último, agradecer a los funcionarios y docentes adscritos al programa de Especialización en Química Ambiental de la Universidad Industrial de Santander.

Contenido

	Pág.
Introducción	12
1. Objetivos	15
1.1 Objetivo General	15
1.2 Objetivos Específicos.....	15
2. Marco Teórico.....	16
2.1 Biorremediación y Tipos de Biorremediación	16
2.1.1 Atenuación Natural.	17
2.1.2 Bioestimulación.	18
2.1.3 Biosparging.....	18
2.1.4 Bioaumentación.	19
2.2 Contaminación de Fuentes Hídricas por Hidrocarburos	20
2.2.1 Tipos de Hidrocarburos.....	21
2.3 Biorremediación en Aguas.....	22
2.3.1 Factores que Afectan la Biorremediación en Fuentes Hídricas.	24
2.4 Marco Legal	25
3. Metodología	28

3.1 Análisis Bibliométrico	28
3.2 Determinación Teórica de los Parámetros de Biodegradación de Hidrocarburos Utilizando Diferentes Técnicas de Biorremediación	29
3.3 Evaluación Teórica de una Estrategia Integral para la Biorremediación de Aguas Contaminadas con Hidrocarburos	29
4. Resultados	30
4.1 Análisis Bibliométrico	30
4.1.1 Biorremediación en agua.	30
4.1.2 Biorremediación en aguas contaminadas con hidrocarburos.	32
4.2 Determinación Teórica de los Parámetros de Biodegradación de Hidrocarburos Utilizando Diferentes Técnicas de Biorremediación	35
4.2.1 Bacterias.....	36
4.2.2 Hongos.	39
4.2.3 Otros Microorganismos.	40
4.3 Evaluación Teórica de una Estrategia Integral para la Biorremediación de Aguas Contaminadas con Hidrocarburos.....	43
4.3.1 Biorremediación en ambientes marinos.....	43
4.3.1.1 Caracterización de los microorganismos nativos de la zona contaminada.	43
4.3.1.2 Estrategias de biorremediación.	44
4.3.1.3 Factores ambientales.	46
4.3.2 Biorremediación en aguas subterráneas.....	46
4.3.2.1 Caracterización de los microorganismos nativos de la zona contaminada.	47

4.3.2.2 Estrategias de biorremediación	47
4.3.2.3 Factores ambientales que afectan el uso de biosparging	48
5. Conclusiones	49
Referencias Bibliográficas	50

Lista de Tablas

	Pág.
Tabla 1. Normas y principios ambientales contenidos en la Constitución Política de Colombia.	26
Tabla 2. Normas generales que sustentan la normatividad ambiental por contaminación con hidrocarburos en cuerpos de agua.....	27
Tabla 3. Conceptos relacionados con los artículos científicos de los últimos diez años (2008 - 2018).	29
Tabla 4. Ventajas y desventajas de las tecnologías de biorremediación in situ.....	35
Tabla 5. Parámetros de biodegradación de hidrocarburos utilizando diferentes técnicas de biorremediación.	41

Lista de Gráficas

	Pág.
Gráfica 1. Palabras clave: bioremediation AND water. Número de artículos publicados anualmente. Bases de datos Scopus y Web of science.	30
Gráfica 2. Palabras clave: bioremediation AND water. Número de artículos publicados anualmente. Base de datos Redalyc.	31
Gráfica 3. Palabras clave: bioremediation AND water AND hydrocarbons. Número de artículos publicados anualmente. Bases de datos Scopus y Web of science.	32
Gráfica 4. Palabras clave: bioremediation AND water AND hydrocarbons. Número de artículos publicados anualmente. Base de datos Redalyc.	33
Gráfica 5. Autores y número de publicaciones relacionadas con biorremediación en aguas contaminadas con hidrocarburos.	34

Resumen

Título: Alternativas de biorremediación en fuentes hídricas contaminadas por hidrocarburos.*

Autor: Gonzalez, Plata Jaigler Johanny.**

Palabras Claves: Biorremediación, Hidrocarburos, Fuentes hídricas.

Descripción

La contaminación por hidrocarburos representa un peligro significativo para las aguas superficiales y subterráneas. Los derrames de hidrocarburos han generado un fuerte impacto en el medio ambiente, produciendo un volumen significativo de contaminantes en la geósfera e hidrosfera de la tierra. Los hidrocarburos son contaminantes orgánicos de gran preocupación debido a su amplia distribución, persistencia, composición compleja y toxicidad.

Las técnicas de biorremediación *in situ* se encuentran entre las alternativas de remediación, disponibles ante esta problemática. Este proceso de descontaminación utiliza agentes o compuestos derivados de organismos vivos, para retornar un medio ambiente alterado a su condición natural. Existen varios métodos para la biodegradación de hidrocarburos, pero, en general, es posible usar tres procesos: la atenuación natural, la bioestimulación y la bioaumentación. Adicionalmente, el biosparging es una técnica *in situ* usada para reducir las concentraciones de los componentes del petróleo que se disuelven en el agua subterránea.

Este trabajo evaluó a partir de la literatura, la atenuación natural monitoreada, bioestimulación, bioaumentación y biosparging, como alternativas de biorremediación en aguas contaminadas con hidrocarburos. Por otro lado, tomando como punto de partida el análisis de la información consultada, se establece una estrategia integral de biorremediación en ambientes marinos y aguas subterráneas. Finalmente, las conclusiones plantean pautas a considerar para cada uno de los objetivos propuestos.

* Monografía

** Facultad de Ciencias, Escuela de Química, Especialización Química Ambiental, Directora: Mabel Juliana Quintero. M.Sc, Ciencias Básicas Biomédicas.

Abstract

Title: Bioremediation alternatives in water sources contaminated by hydrocarbons.*

Author: Gonzalez, Plata Jaigler Johanny**

Keywords: Bioremediation, Hydrocarbons, Water sources.

Description

Oil pollution represents a significant hazard for surface and groundwater. Oil spills have generated a strong impact on the environment, producing a significant volume of pollutants in the earth's geosphere and hydrosphere. Hydrocarbons are organic pollutants of great concern due to their wide distribution, persistence, complex composition and toxicity. An alternative solution to this problem is in situ bioremediation techniques.

In situ bioremediation techniques are among the remediation alternatives available to this problem. This decontamination process uses agents or compounds derived from living organisms, to return an altered environment to its natural condition. There are several methods for the biodegradation of hydrocarbons, but, in general, it is possible to use three processes: natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation. Additionally, biosparging is an in situ technique used to reduce concentrations of oil components that dissolve in groundwater.

This work evaluated from the literature, the monitored natural attenuation, biostimulation, bioaugmentation and biosparging, as bioremediation alternatives in water contaminated with hydrocarbons. On the other hand, taking as a starting point the analysis of consulted information, a comprehensive bioremediation strategy is established in marine environments and groundwater. Finally, the conclusions set out guidelines to consider for each of the proposed objectives.

*Monograph.

** Faculty of Sciences, School of Chemistry, Specialization in Environmental Chemistry, Director Mabel Juliana Quintero. M.Sc, Basic Biomedical Sciences.

Introducción

La contaminación por hidrocarburos en cuerpos de aguas representa un peligro significativo para los ecosistemas acuáticos y un riesgo para la salud humana. Los derrames de hidrocarburos han generado un fuerte impacto en el medio ambiente, produciendo un volumen significativo de contaminantes en la geósfera e hidrósfera de la tierra. Por ejemplo, en 2017, el volumen total de petróleo vertido por derrames en el medio ambiente fue de aproximadamente 7.000 toneladas (International, Owners, & Federation, 2018).

El agua subterránea se ha visto afectada por descargas accidentales de hidrocarburos que contienen especialmente benceno, tolueno, etilbenceno y xileno (Kao, Chen, Chen, Chien, & Chen, 2008). Por otro lado, la contaminación del medio marino se ha intensificado al mismo ritmo en que se desarrollan las actividades de uso del petróleo como recurso energético, con aumento de los transportes marítimos y de las actividades de perforación (Araujo et al., 2016a)

Entre los derrames accidentales a gran escala se pueden citar el derrame del Exxon Valdez en Alaska en 1989 y el derrame de BP Deepwater Horizon en el Golfo de México en 2010, catalogados como los dos peores desastres ambientales en la historia de los Estados Unidos que aún están afectando algunos de los ecosistemas marinos más productivos y vulnerables (Velasquez, 2017).

El impacto ambiental que se genera en Colombia debido a derrames de crudo incluye la contaminación de fuentes hídricas, fauna y flora deteriorada o cambios drásticos en el paisaje (Velasquez, 2017). Las acciones delictivas han provocado el derrame de miles de barriles de petróleo crudo y sus derivados, sobrepasando la cantidad derramada por el Exxon Valdez (La, Miranda, Restrepo, & Ecopetrol, 2004)

Los hidrocarburos son contaminantes orgánicos de gran preocupación debido a su amplia distribución, persistencia, composición compleja y toxicidad. Entre los más comunes se incluyen los alcanos alifáticos, ramificados y cicloalifáticos, así como hidrocarburos aromáticos monocíclicos y policíclicos (Fuentes, Méndez, Aguila, & Seeger, 2014) La mayoría de los crudos encontrados en derrames de petróleo contienen moléculas de hidrocarburos de cadena lineal que van desde un solo carbono hasta moléculas que contienen 35 carbonos, con estructuras hidrocarbonadas ramificadas y cíclicas asociadas (Mendelssohn et al., 2012).

Las alternativas de remediación disponibles incluyen tratamientos físicos, químicos y biológicos. En comparación con los métodos físicos y químicos, los tratamientos biológicos son de bajo costo, altos en eficiencia y evita la contaminación secundaria (Rodrigues, Kalks, Fernandes, & Tótola, 2015). Por lo tanto, el uso de organismos vivos en la remediación de sitios contaminados es una alternativa muy prometedora.

La biorremediación es una técnica ambiental usada para la restauración de ambientes contaminados. Este proceso de descontaminación utiliza agentes o compuestos derivados de organismos vivos, para retornar un medio ambiente alterado a su condición natural (Trujillo &

Ramírez, 2009). La remediación *in situ* puede ser natural (atenuación natural) o puede diseñarse (biorremediación mejorada/ modificada) alterando las condiciones fisicoquímicas del sitio a través de suministro de nutrientes y oxígeno (Logeshwaran, Megharaj, Chadalavada, Bowman, & Naidu, 2018).

Existen diversos microorganismos responsables de la biodegradación de varias cadenas de petróleo que se encuentran tanto en el suelo como en varias fuentes de agua. La mayoría de estos microorganismos son de naturaleza procariota y eucariota (Kachieng'A & Momba, 2017). La biodegradación de compuestos peligrosos por bacterias y hongos ha sido ampliamente estudiada y el éxito del proceso se debe, en parte, a la capacidad de los microorganismos para degradar mezclas de contaminantes complejos (González et al., 2011).

Teniendo en cuenta el impacto ambiental que causan los hidrocarburos del petróleo, hay una necesidad urgente de soluciones sostenibles para la remediación de fuentes hídricas.

1. Objetivos

1.1 Objetivo General

Evaluar alternativas de biorremediación aplicables sobre fuentes hídricas contaminadas por hidrocarburos a partir de un análisis bibliográfico.

1.2 Objetivos Específicos

Analizar diferentes alternativas de biorremediación en aguas contaminadas con hidrocarburos, implementando la metodología de vigilancia tecnológica.

Determinar teóricamente los parámetros de biodegradación de diferentes organismos biológicos utilizados en diferentes técnicas de biorremediación de aguas contaminadas con hidrocarburos.

Establecer a partir de la literatura una estrategia integral para la biorremediación de aguas contaminadas con hidrocarburos.

2. Marco Teórico

2.1 Biorremediación y Tipos de Biorremediación

La biorremediación consiste en el uso de agentes biológicos, particularmente microorganismos, que catabolizan moléculas específicas, destruyen contaminantes peligrosos o los transforman en otros menos perjudiciales (Fuentes et al., 2014). Esta técnica puede ser aplicada *in situ* cuando es aplicada en el lugar donde se encuentra la contaminación, o *ex situ*, cuando el contaminante es trasladado a una instalación para su tratamiento (Araujo et al., 2016a). En comparación con la biorremediación *ex situ*, la biorremediación *in situ* es menos costosa, no necesita la extracción de agua contaminada, ofrece una degradación completa de hidrocarburos del petróleo y no se generan residuos secundarios (Logeshwaran et al., 2018).

La biorremediación utiliza principalmente microorganismos como las bacterias y los hongos, para degradar los hidrocarburos en compuestos inorgánicos no tóxicos y más simples (Agarwal & Liu, 2015). El uso de microorganismos en la biodegradación de hidrocarburos es el principal proceso que actúa en la depuración de ambientes contaminados y en especial de fuentes de agua (Kachienga, Jitendra, & Momba, 2018). Existen varios métodos para la biodegradación de hidrocarburos, pero, en general, es posible usar tres procesos: en primer lugar, la atenuación natural donde la concentración de contaminantes es reducida aprovechando los recursos naturales. En segundo lugar, la bioestimulación, donde se adicionan nutrientes y un aceptor de electrones al sistema para mejorar su efectividad y acelerar la biodegradación (Gómez, Gaviria,

& Cardona, 2009). Finalmente, la bioaumentación o adición de microorganismos (autóctonos o foráneos), también aumenta el rendimiento del proceso de biodegradación (Cerqueira et al., 2011).

2.1.1 Atenuación Natural. La atenuación natural se basa en procesos naturales para disminuir o “atenuar” las concentraciones de contaminantes en suelo y agua subterránea. El sitio contaminado es supervisado para asegurarse que los contaminantes disminuyan lo suficientemente rápido y no se estén esparciendo. Todo el proceso se llama atenuación natural monitoreada o “ANM” (USEPA, 2012).

La atenuación natural involucra procesos naturales como la dispersión, disolución, evaporación, emulsificación y biodegradación. En general, la dispersión y la disolución están influenciadas por la estructura molecular del hidrocarburo y su polaridad. La evaporación promueve la eliminación inicial de alcanos mediante parámetros físicos ambientales como la temperatura, la velocidad del viento, la turbulencia del agua o las características de la superficie. Por otro lado, durante la biodegradación los microorganismos utilizan hidrocarburos del petróleo como fuente de carbono y energía (Logeshwaran et al., 2018).

La biodegradación puede realizarse en condiciones aeróbicas o en condiciones anaeróbicas. En procesos aeróbicos, La biotransformación de los contaminantes por lo regular siempre termina en la mineralización con la producción de H₂O y CO₂; mientras que en procesos anaeróbicos se obtiene CH₄ (Tirado Torres et al., 2015).

2.1.2 Bioestimulación. La bioestimulación induce la actividad natural de los microorganismos por medio de soluciones con nutrientes y oxígeno u otro aceptor de electrones (Gómez et al., 2009). La principal ventaja de la bioestimulación es que la biorremediación será realizada por microorganismos nativos que son adecuados para el entorno y están bien distribuidos espacialmente (Godleads, Tawari, Eruke, & Ehinomen, 2015).

Dentro de los nutrientes se encuentran principalmente nitrógeno y fósforo; el nitrógeno proporciona el elemento necesario para la producción de aminoácidos y enzimas, y la fuente de fósforo interviene en la formación de compuestos energéticos dentro de la célula que se utilizan en los procesos de reproducción y degradación (Helena, Cardona, Del, & Mercado, 2014).

2.1.3 Biosparging. El biosparging es un método *in situ* que combina el efecto de la ventilación con la utilización de los microorganismos autóctonos para degradar compuestos orgánicos presentes en el suelo y aguas subterráneas (Benavides López de Mesa; MSc et al., 2006). En biosparging, se inyecta aire (u oxígeno) y nutrientes (si es necesario) en la zona insaturada o saturada para aumentar la actividad biológica de los microorganismos presentes (EPA, 2016).

En un sistema de biorremediación *in situ*, el agua subterránea se oxigena mediante uno de los tres métodos siguientes: (i) la inyección directa de aire u oxígeno a través de un pozo de inyección; (ii) saturación del agua con aire u oxígeno antes de la reinyección; (iii) adición de peróxido de hidrógeno directamente en un pozo de inyección de agua o en agua reinyectada.

Cualquiera que sea el método de oxigenación que se use, es importante asegurarse de que el oxígeno se distribuya en toda el área de contaminación (EPA, 2016).

Las tecnologías de biorremediación aeróbicas abordan principalmente los hidrocarburos del petróleo y algunos compuestos oxigenados que se disuelven en el agua subterránea. La inyección de aire puede ser un medio relativamente eficiente para aumentar los niveles de oxígeno disuelto y promover la biodegradación aeróbica en el agua subterránea (EPA, 2016).

2.1.4 Bioaugmentación. La bioaugmentación se entiende como la adición de microorganismos endógenos o exógenos, con el fin de fomentar la degradación y disminuir el tiempo de reducción del contaminante (Ñústez, Paredes, & Cubillos, 2014). Los tratamientos exitosos de bioaugmentación dependen del uso de inóculos que consisten en cepas microbianas o consorcios microbianos que han sido bien adaptados al sitio contaminado (Godleads et al., 2015).

El uso de microorganismos autóctonos puede ser ventajoso porque están mejor adaptados al sitio, lo que puede aumentar eficiencia en la degradación del petróleo (Gouveia, Almeida, Almeida, Teixeira, & Mucha, 2018). Las diferentes especies microbianas tienen diferentes capacidades y preferencias enzimáticas para la degradación de los compuestos de aceite. Algunos microorganismos degradan los alcanos lineales, ramificados o cíclicos. Otros prefieren los aromáticos y otros degradan conjuntamente tanto los alcanos como los aromáticos (Godleads et al., 2015).

2.2 Contaminación de Fuentes Hídricas por Hidrocarburos

El aumento de la navegación en los ríos y la construcción de la infraestructura de almacenamiento de petróleo a lo largo de sus orillas ha aumentado el riesgo de derrames de estas sustancias en cuerpos de agua (Ibarra, Romero, Barajas & Kafarov, 2017). Los hidrocarburos del petróleo son contaminantes orgánicos de gran preocupación debido a su amplia persistencia, distribución, composición compleja y toxicidad (Gouveia et al., 2018).

Los hidrocarburos liberados en el medio ambiente acuático tienden a flotar en la superficie del agua formando una película delgada, mientras que las fracciones más pesadas tienden a acumularse en el sedimento del fondo del agua (Logeshwaran et al., 2018). En las fuentes hídricas, los hidrocarburos usualmente flotan debido a la diferencia de densidad que presentan con respecto al agua, bloqueando de esta manera la penetración de la luz y el intercambio de gases (Velasquez, 2017).

Una de las primeras comunidades biológicas que se afectan en el momento de un derrame, es el plancton que vive indefenso flotando a la deriva en la columna de agua. Asimismo, otro grupo afectado es el de los macroinvertebrados, cuya asociación permanente a las macrófitas flotantes o enraizadas promueve su afectación en el evento de un derrame (La et al., 2004).

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) pueden persistir en el agua por mucho tiempo, ya que son menos sensibles a la fotooxidación. La presencia de PAHs en ecosistemas acuáticos conduce a la bioacumulación de este xenobiótico en peces y especies acuáticas en

desarrollo. Además de la bioacumulación, vale la pena considerar la biomagnificación de los PAHs a través de la cadena alimenticia acuática (Behera et al., 2018).

Los PAHs pueden entrar a las aguas superficiales a través de las descargas de plantas industriales y de tratamiento de aguas residuales. Estos contaminantes pueden ser liberados a los suelos a partir de desechos peligrosos si éstos se escapan de los contenedores de almacenamiento. En el suelo los PAHs se unen a otras partículas y algunos pueden contaminar los acuíferos. La degradación de los PAHs en el suelo y en el agua puede llevar días o meses según la condición (Agudo, 2009).

2.2.1 Tipos de Hidrocarburos. El petróleo crudo representa una mezcla de una gran variedad de sustancias orgánicas, principalmente hidrocarburos, con algunas mezclas de compuestos que contienen oxígeno, nitrógeno, azufre y algunos componentes metálicos (Varjani & Upasani, 2017). Los hidrocarburos son una gran familia de compuestos formados por cadenas de carbono e hidrogeno, agrupados en alifáticos cuando poseen cadenas lineales o ramificadas y aromáticos cuando forman cadenas cíclicas o con anillos bencénicos (Araujo et al., 2016a).

Los compuestos aromáticos se encuentran entre los contaminantes más frecuentes y persistentes en el medio ambiente. Los hidrocarburos aromáticos se clasifican en: (i) monocíclicos, cuando su estructura contiene un solo anillo de benceno con la alternancia de enlaces simples y dobles entre los átomos de carbono (ii) policíclicos, cuando su estructura contiene entre dos o más anillos de benceno fusionados y / o moléculas pentacíclicas que están

dispuestas en diversas configuraciones estructurales (Loera-valenzuela, Pérez-flores, López-ortiz, & Balagurusamy, 2016).

Los hidrocarburos aromáticos monocíclicos incluye el benceno, tolueno. Etilbenceno y xileno (BTEX). Los BTEX son un grupo de compuestos orgánicos volátiles que se caracterizan por encontrarse en forma de vapor a temperatura ambiente y por ser insolubles en agua, pero muy solubles en otras sustancias (Lacasaña, González, Rodríguez, & Daponte, 2008).

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) tienen características físico-químicas muy diversas; algunos de ellos son semivolátiles, es decir, que están en forma gaseosa a temperatura ambiente, mientras que otros tienen un elevado punto de ebullición. En general son lipofílicos, es decir que tienden a unirse a sustancias grasas, y a disolverse en ellas (Agudo, 2009).

La liberación de PAHs en el ambiente ocurre principalmente por la combustión incompleta de compuestos orgánicos durante el curso de procesos industriales y de otras actividades humanas (Loera-valenzuela et al., 2016). Los PAHs son contaminantes de gran preocupación ambiental debido a su presencia en todos los componentes del medio ambiente, resistencia a la biodegradación, potencial de bioacumulación y actividad carcinógena (Haritash & Kaushik, 2009).

2.3 Biorremediación en Aguas

La biodegradación por parte de las comunidades microbianas endógenas, es el destino final de la mayoría de los hidrocarburos que ingresan al medio marino. Sin embargo, las tasas de

biodegradación son lentas y en consecuencia hay graves efectos tóxicos sobre la vida marina en el agua y la costa (Ron & Rosenberg, 2014). El objetivo de la biorremediación es superar los factores limitantes que retardan la degradación de los contaminantes.

La capacidad de biodegradar hidrocarburos por bacterias, hongos y otros microorganismos, ha sido ampliamente estudiada en ambientes marinos. La bioestimulación y bioaugmentación con una población nativa, ha demostrado ser una estrategia efectiva para la remediación del medio marino (Rodrigues et al., 2015). El uso de materiales de transporte es una estrategia complementaria para entregar a los microorganismos un nicho de protección a través de un sustrato específico y/ o nutrientes (Simons et al., 2013).

La atenuación natural monitoreada (ANM) es una estrategia de biorremediación que involucra procesos biológicos, químicos y físicos que se producen naturalmente en el agua subterránea (Naidu et al., 2012). Por otro lado, biosparging es un mecanismo eficaz para la eliminación de compuestos orgánicos volátiles (COVs) incluidos BTEX, en el agua subterránea (Kao et al., 2008).

La degradación microbiana en aguas subterráneas es comúnmente evaluada midiendo el agotamiento de contaminantes, así como la disminución de oxígeno (O_2), nitrato (NO_3^-), óxidos de hierro ($Fe(OH)_3$) y sulfato (SO_4^{2-}), ya que los microorganismos usan gradualmente estos compuestos como aceptores de electrones (Lv, Su, Wang, Dai, & Liu, 2018).

2.3.1 Factores que Afectan la Biorremediación en Fuentes Hídricas. La biorremediación de fuentes hídricas contaminadas con hidrocarburos está influenciada por diversos factores físicos, ambientales y biológicos. La biodegradación del petróleo crudo está determinada principalmente por características tales como la composición, disponibilidad, concentración, dispersión y volatilización (Logeshwaran et al., 2018).

La ramificación del grupo metilo aumenta la resistencia de los hidrocarburos al ataque microbiano. Por ejemplo, los cicloalcanos y los compuestos alicíclicos son particularmente más resistentes a la degradación microbiana que los alcanos. La baja solubilidad en agua y la alta capacidad de sorción de los PAHs, influyen en gran medida en la biodegradación (Varjani & Upasani, 2017).

Las condiciones ambientales como temperatura, pH, salinidad, disponibilidad de nutrientes y aceptores de electrones, afectan la tasa de crecimiento y el metabolismo microbiano (Varjani, 2017). El aumento de temperatura aumenta la solubilidad, mejora la difusión y la volatilización de los contaminantes (Aislabie, Saul, & Foght, 2006). Es necesario tener en cuenta que la variación del pH, además de afectar la actividad microbiana, también afecta la solubilización, adsorción y absorción de los contaminantes y de los iones (Esmeralda et al., 2008).

Existe una relación inversa entre la salinidad y la biodegradación de hidrocarburos del petróleo. Las concentraciones salinas de cloruro de sodio superiores al 2.4% (p/v), tienen un efecto inhibitorio para la degradación de fracciones aromáticas y polares (Barrios & Martín,

2010). No obstante, se conocen microorganismos capaces de oxidar hidrocarburos a una concentración salina del 30% (p/v) de NaCl (Martínez-Alonso & Gaju, 2005).

La disponibilidad de oxígeno es un factor limitante en la degradación de los hidrocarburos del petróleo, ya que el funcionamiento de los microorganismos es menos eficiente bajo condiciones anaeróbicas (Barrios & Martín, 2010). Por otro lado, la disponibilidad de nutrientes como el N y el P también limita la degradación microbiana de hidrocarburos (Martínez-Alonso & Gaju, 2005). De igual modo, la baja biodisponibilidad de los hidrocarburos debido a su escasa solubilidad en agua y su alta adherencia a las moléculas del suelo o sedimentos en ambientes acuáticos, limita la biodegradación del contaminante (Viva, Iustman, Laura, & Nancy, 2009).

2.4 Marco Legal

La normatividad ambiental internacional acogida por Colombia incluye el Protocolo de Louisiana 29 B (1969), el cual fue un convenio internacional sobre responsabilidad por daños causados por la contaminación de aguas del mar con hidrocarburos. Más tarde, en Lima (1981) se realiza el acuerdo sobre la cooperación regional para el combate de la contaminación del Pacífico por hidrocarburos y otras sustancias nocivas. Posteriormente, Colombia ha participado de convenios y acuerdos como el de Jamaica en 1982 y Cartagena en 1983, que buscan la preservación y conservación del medio ambiente.

Los protocolos de cooperación para combatir la contaminación y los derrames de hidrocarburos, fueron acogidos por Colombia entre los años 1980 y 1990. Por ejemplo, en

Cartagena (1983) se acordó la cooperación entre naciones para combatir derrames de hidrocarburos en la región del Gran Caribe. Más adelante, se realizan acuerdos sobre zonas protegidas en el medio marino y los humedales.

La Constitución Política de Colombia de 1991 ordena al Estado garantizar el desarrollo sostenible de los recursos ambientales y la conservación del medio ambiente, a través de los siguientes principios fundamentales que tienen una relación directa con la contaminación de hidrocarburos (Tabla 1):

Tabla 1.

Normas y principios ambientales contenidos en la Constitución Política de Colombia.

Art.	Tema	Contenido
8	Riquezas culturales y naturales de la Nación.	Establece la obligación del Estado y de las personas para con la conservación de las riquezas naturales y culturales de la Nación.
58	Función ecológica de la propiedad privada.	Establece que la propiedad es una función social que implica obligaciones y que, como tal, le es inherente una función ecológica.
79	Ambiente sano	Consagra el derecho de todas las personas residentes en el país de gozar de un ambiente sano.
80	Planificación del manejo y aprovechamiento de los recursos naturales.	Establece como deber del Estado la planificación del manejo y aprovechamiento de los recursos naturales, para garantizar su desarrollo sostenible, su conservación, restauración o sustitución.
95	Protección de los recursos culturales y naturales del país.	Establece como deber de las personas, la protección de los recursos culturales y naturales del país, y de velar por la conservación de un ambiente sano.
360	Explotación de los recursos naturales no renovables.	Establece las condiciones para la explotación de los recursos naturales no renovables, así como los derechos de las entidades territoriales sobre los mismos.
366	Saneamiento ambiental.	Establece como objetivo fundamental la solución de las necesidades insatisfechas de salud, de educación, de saneamiento ambiental y de agua potable.

Nota: Modificado de (Trujillo & Ramírez, 2009)

Las normas generales que existen en Colombia para efectos de la preservación y conservación de la calidad de las aguas, se encuentran resumidas en la Tabla 2.

Tabla 2.

Normas generales que sustentan la normatividad ambiental por contaminación con hidrocarburos en cuerpos de agua.

Norma	Objetivos de la norma
Decreto ley 2811 de 1974	Código nacional de recursos naturales y protección al medio ambiente.
Decreto 1449 de 1977	Disposiciones sobre conservación y protección de aguas, bosques, fauna terrestre y acuática.
Ley 9 de 1979	Normas generales para preservar, restaurar y mejorar las condiciones sanitarias del Ambiente.
Decreto 1874 de 1979	Protección y prevención de la contaminación del medio marino.
Ley 99 de 1993	Por medio de la cual se crea el Ministerio del Medio Ambiente, se reordena el sector público encargado de la gestión y conservación del medio ambiente y los recursos naturales renovables.
Resolución 930 de 1996	Reglamenta la recepción de desechos generados por los buques en los puertos, terminales, muelles y embarcaderos.

Nota: Modificado de Trujillo y Ramírez (2009)

3. Metodología

3.1 Análisis Bibliométrico

Numerosas publicaciones científicas se han realizado sobre biorremediación en aguas, teniendo en cuenta la diversidad de ecosistemas acuáticos y las alternativas biotecnológicas utilizadas en el tratamiento. Por consiguiente, se hizo una búsqueda preliminar de artículos relacionados, teniendo en cuenta los últimos diez años (2008 -2018). El objetivo de esta revisión bibliográfica fue seleccionar las palabras clave o “keywords” que más se relacionan con el tema de investigación. De igual manera, se seleccionaron las tecnologías de biorremediación usadas por los investigadores de dichos artículos y la aplicación en el medio ambiente. La información recopilada se organizó en la Tabla 3 de acuerdo a tres conceptos: palabras claves, tratamientos o tecnologías de biorremediación y aplicabilidad.

Las palabras clave de la tabla 3 se utilizaron con conector AND en las bases de datos Scopus, Web of science y Redalyc, con el propósito de realizar el análisis bibliométrico que permitió determinar el número de documentos publicados, autores destacados, áreas temáticas y países que más investigan sobre el tema de esta monografía.

Tabla 3.

Conceptos relacionados con los artículos científicos de los últimos diez años (2008 -2018).

Concept #1 Keywords.	Concept #2 Treatments Or Bioremediation Technologies.	Concept #3 Applicability.
Bioremediation. Water.		Water pollution.
Biodegradation.	Natural attenuation.	Groundwater treatment.
	Biosparging.	
Hydrocarbons.	Biostimulation	Aquatic ecosystem.
Oil spill.	Bioaugmentation.	Coastal ecosystems.
Water pollution.		

3.2 Determinación Teórica de los Parámetros de Biodegradación de Hidrocarburos Utilizando Diferentes Técnicas de Biorremediación

Profundizando en investigaciones científicas de autores destacados en el tema de biorremediación en aguas contaminadas con hidrocarburos, se analizaron los parámetros de biodegradación de hidrocarburos por organismos como las bacterias, los hongos, los protozoos y las algas. El objetivo de este análisis fue identificar y caracterizar organismos que tengan la mejor capacidad de convertir la mayoría de los hidrocarburos en compuestos menos tóxicos, teniendo en cuenta las técnicas de biorremediación utilizadas.

3.3 Evaluación Teórica de una Estrategia Integral para la Biorremediación de Aguas Contaminadas con Hidrocarburos

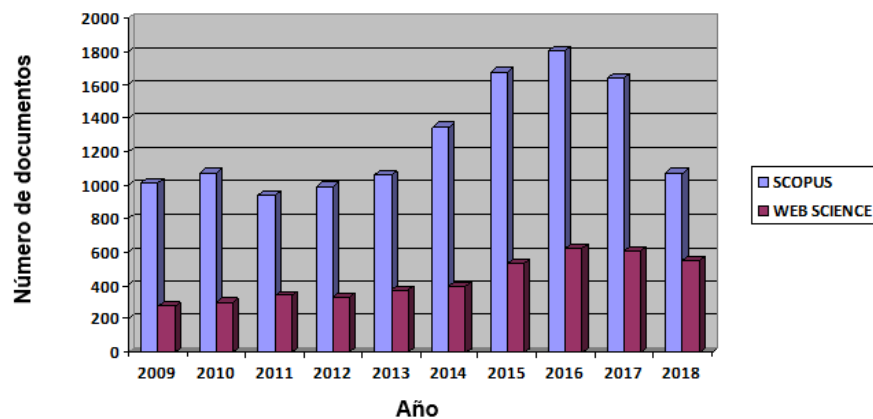
La información recopilada de investigaciones científicas con base a la capacidad de biodegradación de hidrocarburos y los factores de crecimiento, se sugirió una estrategia integral de biorremediación para dos escenarios propuestos.

4. Resultados

4.1 Análisis Bibliométrico

4.1.1 Biorremediación en agua. Una revisión bibliográfica preliminar en la base de datos Scopus, utilizando las palabras clave bioremediation AND water, demostró que desde 1970 a 1990 no hubo mucha investigación científica acerca del tema (61 documentos). Sin embargo, en el periodo comprendido entre 1991-2008 las publicaciones científicas muestran una tendencia en crecimiento (5812 documentos); reafirmado por el periodo comprendido entre 2009 al 2018 donde hubo el mayor número de publicaciones (12657 documentos).

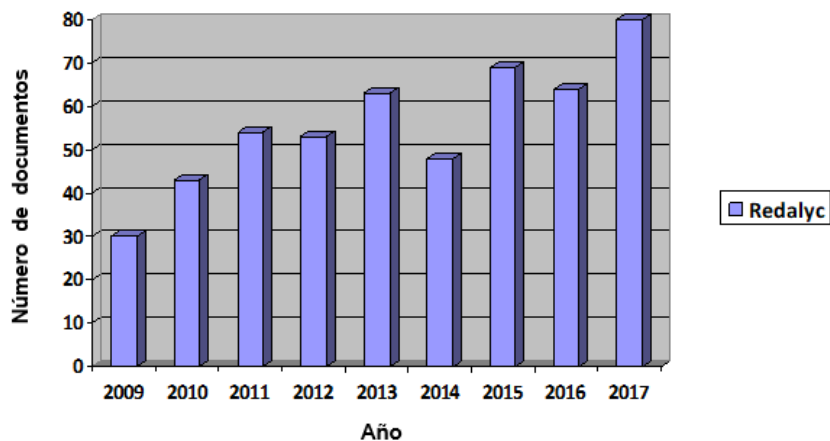
En la base de datos web of science se realizó una búsqueda similar. Los resultados muestran que durante los años 2009 al 2018 se publicaron 5726 documentos, los cuales en su mayoría son artículos y reviews. En la Gráfica 1 se resume el número de publicaciones encontradas en Scopus y Web of science durante los años 2009 al 2018.



Gráfica 1. Palabras clave: bioremediation AND water. Número de artículos publicados anualmente. Bases de datos Scopus y Web of science.

La gráfica 1 demuestra una gradual y creciente producción científica en cuanto al tema de biorremediación en aguas. En el año 2016 se encontraron 1806 publicaciones en Scopus y 621 publicaciones en Web of science, siendo este el año donde hubo la mayor cantidad de artículos y reviews sobre el tema. Posteriormente, los años 2017 y 2018 aunque no tuvieron mayor número de publicaciones que el 2016, si hacen parte de los tres años donde más se han hecho publicaciones.

En la red de revistas científicas de América Latina y el Caribe, se encontraron un total de 504 publicaciones registradas desde el año 2009 hasta el año 2017, como se puede evidenciar en la Gráfica 2.



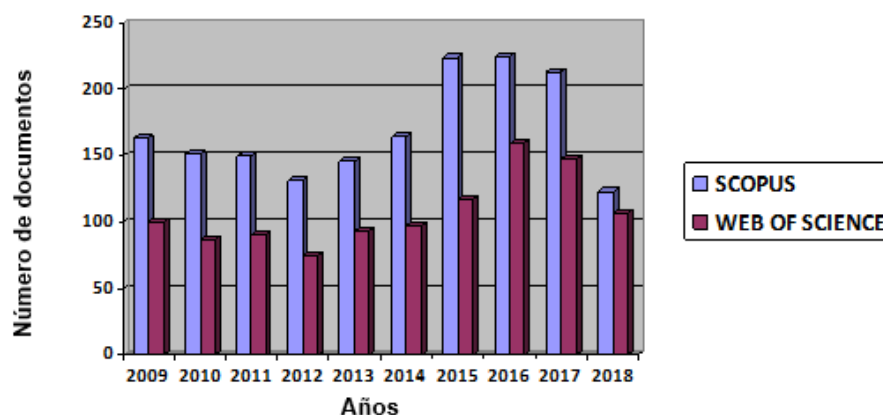
Gráfica 2. Palabras clave: bioremediation AND water. Número de artículos publicados anualmente. Base de datos Redalyc.

En general, los documentos encontrados en las bases de datos se relacionan con la remediación de aguas subterráneas contaminadas con metales pesados, biodegradación de plaguicidas en aguas superficiales y contaminación de agua con hidrocarburos. De manera que

fue necesario realizar una búsqueda más específica de artículos relacionados con biorremediación en aguas contaminadas con hidrocarburos, utilizando las palabras clave bioremediation, water e hydrocarbons con conector AND.

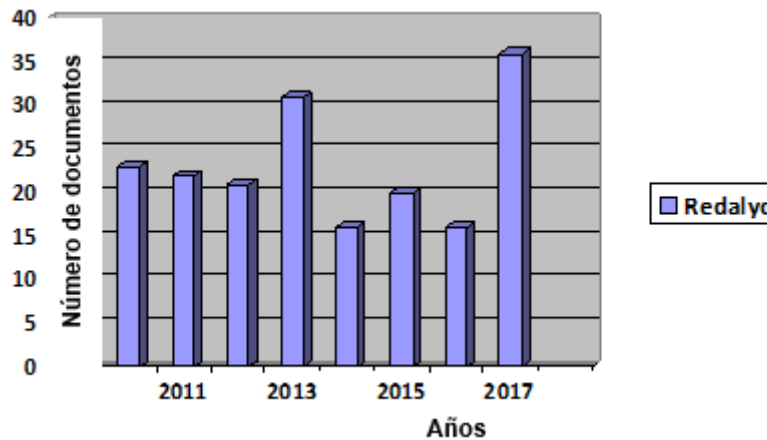
4.1.2 Biorremediación en aguas contaminadas con hidrocarburos. Al realizar la búsqueda bibliográfica utilizando las palabras clave bioremediation AND water AND hydrocarbons, se encontraron los siguientes resultados:

Entre los registros de la base de datos Scopus, se hallaron 2889 documentos desde el año 1971 hasta el año 2018. El periodo comprendido entre los años 2009 al 2018, fue donde hubo mayor interés de la comunidad científica en investigar sobre biorremediación en aguas contaminadas con hidrocarburos ya que se publicaron 1693 documentos (58.6%). Esta tendencia se ratifica con la base de datos web of science donde se publicaron 1499 documentos, de los cuales 1075 (63.5%) fueron divulgados desde el año 2009 hasta el año 2018. La Gráfica 3 resume el número de publicaciones encontradas en Scopus y Web of science durante los años 2009 al 2018.



Gráfica 3. Palabras clave: bioremediation AND water AND hydrocarbons. Número de artículos publicados anualmente. Bases de datos Scopus y Web of science.

La red de revistas científicas de América Latina y el Caribe muestra 264 documentos relacionados con biorremediación en aguas contaminadas con hidrocarburos. En la Gráfica 4 se evidencia los años que más publicaciones tuvieron, siendo el 2017 el más destacado.

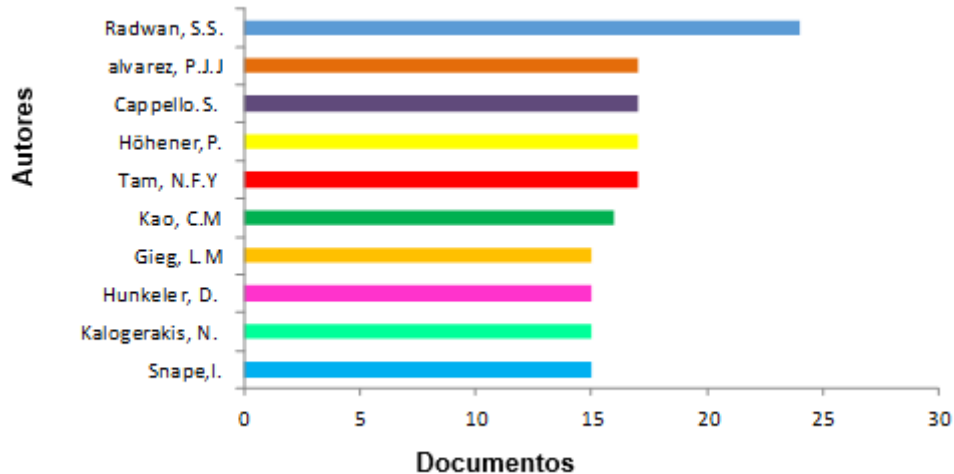


Gráfica 4. Palabras clave: bioremediation AND water AND hydrocarbons. Número de artículos publicados anualmente. Base de datos Redalyc.

Las publicaciones encontradas en las bases de datos Scopus, Web of science y Redalyc, están relacionadas con hidrocarburos aromáticos policíclicos, contaminantes BTEX y mecanismos de biorremediación en aguas contaminadas con hidrocarburos.

Entre los investigadores destacados se encuentra Samir Radwan, adscrito al departamento de biología de la Universidad de Kuwait, quien cuenta con un total de 24 publicaciones. Por otro lado, Simone Capello adscrito al Instituto para el Medio Marino Costero del Consejo Nacional de Investigación, en Italia, ha realizado 17 publicaciones relacionadas con la actividad de las bacterias en la biorremediación de ambientes costeros contaminados con hidrocarburos. Por su parte, Jimmy Kao ha publicado 16 documentos relacionados con la biorremediación de agua

subterránea contaminada con contaminantes BTEX. La Gráfica 5 muestra los autores destacados en biorremediación de aguas contaminadas con hidrocarburos.



Gráfica 5. Autores y número de publicaciones relacionadas con biorremediación en aguas contaminadas con hidrocarburos. Adaptado de: Scopus (2018)

Los países que lideran la investigación en cuanto a biorremediación en aguas contaminadas con hidrocarburos son: Estados Unidos quien cuenta con 339 documentos; en segundo lugar, China con 285 documentos; y, en tercer lugar, Canadá con 115 documentos. Entre los países suramericanos se encuentran Brasil con 64 publicaciones, Argentina con 18 publicaciones y Colombia con 8 publicaciones. Todos estos documentos han sido publicados en la base de datos Scopus entre los años 2009 al 2018, los cuales son artículos, reviews, documentos de procedimientos y capítulos de libros relacionados con las ciencias ambientales, bioquímica, genética y biología molecular.

La revisión bibliográfica realizada fue usada como soporte para la elaboración del presente trabajo. Los principales artículos fueron analizados para extraer los parámetros de biodegradación y proponer la estrategia integrada de biorremediación.

4.2 Determinación Teórica de los Parámetros de Biodegradación de Hidrocarburos Utilizando Diferentes Técnicas de Biorremediación

La descontaminación del agua empleando diferentes técnicas de biorremediación es una herramienta útil para evaluar el desarrollo de las tecnologías que pueden ser usadas en la recuperación de cuerpos de aguas superficiales o subterráneas. Las ventajas y desventajas de las estrategias de biorremediación *in situ*, se resumen en la Tabla 4. Este es un aspecto clave a tener en cuenta para la elección de una estrategia adecuada.

Tabla 4.

Ventajas y desventajas de las tecnologías de biorremediación in situ.

Estrategia de Biorremediación	Ventajas	Desventajas	Referencias
Atenuación Natural Monitoreada (ANM)	<ul style="list-style-type: none"> -Bajo impacto ambiental. - Bajo presupuesto. -La biodegradación es realizada por microorganismos nativos adaptados a la zona contaminada. -Aplicada a gran escala. 	<ul style="list-style-type: none"> - La verificación de su eficacia es difícil. - El tiempo de ejecución es largo. - La biota nativa tiene un crecimiento lento sino se estimula o aumenta. 	(Lv et al., 2018) (USEPA, 2012)
Biosparging	<ul style="list-style-type: none"> - En condiciones aeróbicas, las tasas de biodegradación son más altas. -Efectivo para la eliminación de COVs y BTEX. -Aumento del OD. -Disminución del pH --Aplicada a gran escala en aguas subterráneas. 	<ul style="list-style-type: none"> - Es necesario monitorear el sitio y tomar varias muestras para determinarla hidrogeología local y delinear la pluma. -Posible emisión de gases. - La temperatura es un factor importante en la capacidad del oxígeno para disolverse. 	(Kao et al., 2008) (EPA, 2016)
Bioestimulación	<ul style="list-style-type: none"> -Adicionar nutrientes es el principal factor que estimula la actividad 	<ul style="list-style-type: none"> - Las características del área afectada y de las condiciones 	(Garcia & Roldán, 2011)

Estrategia de Biorremediación	Ventajas	Desventajas	Referencias
	metabólica de los microorganismos. -Mejora la eficiencia en la eliminación de contaminantes.	climáticas del lugar, limitan la infiltración de los nutrientes.	(Kumari, Regar, & Manickam, 2018) (Simons et al., 2013)
Bioestimulación	-La aplicación de biosurfactante podría mejorar la biodisponibilidad del contaminante.	- Los nutrientes tienden a diluirse en aguas abiertas.	(Priya et al., 2015) (Rodrigues et al., 2015)
Bioaumentación	-Mejora las tasas de biodegradación a través de la adición de microorganismos nativos o exógenos. -Varios microorganismos han sido aislados para tratar contaminantes. - Proceso inmediato de degradación cuando se agrega la población microbiana al área afectada	-Las comunidades pueden disminuir por competencia del sustrato, nutrientes o predación. -Es necesario entender bien como es la formación de biopelículas en entornos naturales. - La mayoría de los casos exitosos de bioaumentación han tenido lugar en sistemas confinados como biorreactores.	(Poi, Shavsavari, Aburto-Medina, Mok, & Ball, 2018) (Rodrigues et al., 2015) (Priya et al., 2015) (Garcia & Roldán, 2011)

La tabla 4 evidencia los factores que favorecen y limitan la biodegradación de hidrocarburos, teniendo en cuenta la estrategia de biorremediación. De manera general, se observa que la limitación de una estrategia puede ser compensada con la ventaja de otra técnica. Sin embargo, es necesario conocer las características de cada sitio en particular, para establecer una o más alternativas de biorremediación.

Las diferentes técnicas de biorremediación *in situ* demuestran que la biodegradación, es un proceso llevado a cabo por microorganismos nativos o foráneos. El uso de uno u otros también se convierte en un parámetro importante para el proceso. Por esta razón, a continuación, se hace referencia a la degradación de hidrocarburos por parte de diferentes microorganismos, teniendo en cuenta las técnicas de biorremediación utilizadas.

4.2.1 Bacterias. Diversos estudios de biorremediación en ambientes acuáticos han demostrado que las bacterias participan activamente en la degradación de hidrocarburos. Hang et

al., (2018) identificaron la presencia de bacterias Gram-negativas como *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas protegens Pf-5* y *Arcobacter nitrofigilis* en el proceso de atenuación natural del agua subterránea de la provincia de Jilin, en el noreste de China. El sitio contaminado disminuyó la concentración de hidrocarburos totales del petróleo (TPH) en un 60% durante cuatro años.

Poi et al., (2018) bioaumentaron cepas bacterianas del género *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Brevibacillus*, *Bacillus* y *Pseudomonas*, dentro de un biorreactor aireado que contenía 18 m³ de agua subterránea, contaminada con altas concentraciones de hidrocarburos y fenoles. Los resultados del estudio de campo indicaron que la concentración inicial de TPH de 1563 mg L⁻¹ disminuyó a 89 mg L⁻¹ en 32 días (94%).

Kao et al., (2008) evaluaron el potencial de biodegradación de contaminantes BTEX por microorganismos nativos utilizando biosparging, en agua subterránea. Los resultados muestran que el 70% de contaminantes fue eliminado a través del sistema y revelan la presencia de comunidades microbianas nativas (*Candidatus magnetobacterium*, *Flavobacteriales bacterium*, y *Bacteroidetes bacterium*).

Priya et al., (2015) emplearon bioaumentación con dos cepas de *Bacillus* y una cepa de levadura perteneciente al género *Candida*. Este estudio fue realizado dentro de un biorreactor que contenía 4000 L de agua de mar con 1% (v / v) de petróleo crudo como única fuente de carbono. Los resultados indicaron una disminución en el aceite de hasta 96.78% en 28 días.

Kumari et al., (2018) utilizaron bioestimulación en *Stenotrophomonas maltophilia*, *Ochrobactrum anthropi*, *Pseudomonas mendocina*, *Microbacterium esteraromaticum* y *Pseudomonas aeruginosa*. El consorcio de estas bacterias mostró una alta tasa de biodegradación de naftaleno (89%), fluoreno (64%), fenantreno (81%) y benzo(b)fluoranteno (73%).

Simons et al., (2013) combinaron bioaumentación y bioestimulación en un consorcio de *Actinomycetales*, *Bacillus*, *Delftia*, *Planomicrobium alkanoclasticum* y *Pseudomonas*. Una estrategia complementaria para entregar a los microorganismos un nicho de protección, fue utilizar triturado de concha y alginato como materiales de transporte en agua de mar. Los resultados indicaron una remoción del 75% de los hidrocarburos después de 12 semanas.

Sheppard et al., (2014) aplicaron bioaumentación y bioestimulación en un consorcio de *Actinobacterias*, *bacilos* y *Gammaproteobacterias*. Complementariamente, se utilizaron materiales de transporte (triturado de concha seca) para desarrollar tecnologías de remediación sostenibles en el medio marino. La masa total de hidrocarburos de petróleo se redujo en $53.3(\pm 5.75)$ % dentro de 27 semanas.

Mailem et al. (2017) prepararon sistemas de microcosmos con muestras de agua hipersalina que contenía bacterias halófilas y arqueas. Las cepas individuales fueron bioestimuladas con sales catiónicas y productos naturales ricos en vitaminas. Las especies bacterianas *Dietzia kunjamensis*, *Marinobacter lacisalsi* y *Halomonas oxialensis* fueron consistentes en épocas de verano e invierno. Los resultados indicaron un porcentaje de remoción de 75% en seis meses.

4.2.2 Hongos. Araujo et al., (2016) evaluaron la capacidad para remover hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH) del agua, con catalizadores fúngicos del género *Aspergillus* de las especies *Aspergillus niger* y *Aspergillus flavus*, aislados de la Bahía de Amuay. Los catalizadores fúngicos presentaron porcentajes de remoción de 70 %-80 % entre uno y tres meses y 100 % al año. Como resultado de este trabajo se propuso el aislamiento e inmovilización de las enzimas hidrocarbonoclasticas para procesos de biorremediación a gran escala.

Simister et al., (2015) aislaron hongos del género *Fusarium*, *Scopulariopsis* y *Aspergillus* de las playas del Golfo de México, las cuales habían sido contaminadas en el derrame de petróleo de la Deepwater Horizon. Los hongos del filo *Ascomycota* fueron cultivados de agua marina con 1.5% de agarosa y petróleo crudo (0.5 g /L), para examinar su capacidad de degradar el aceite. Los resultados demostraron que los aislados fúngicos degradaron cantidades variables de petróleo (32-65%), preferiblemente hidrocarburos de cadenas cortas (<C₁₈; 90-99%) en comparación a los de cadenas largas (C₁₉-C₃₆; 7-87%). Asimismo, los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH) también fueron degradados por los aislados de hongos (42-84%), con una preferencia por PAHs de bajo peso molecular. En general, estos hallazgos contribuyen a la comprensión de la capacidad que tienen los hongos para degradar el petróleo en el medio marino costero.

Vieira et al., (2018) seleccionaron los hongos *Marasmiellus sp.*, *Tinctoporellus sp.* y *Peniophora sp.*, con el propósito de estudiar la degradación de hidrocarburos aromáticos policíclicos, especialmente pireno. Los resultados mostraron que *Marasmiellus sp.* alcanzo los niveles más altos de degradación de pireno (92.8% en 7 días). Después de 21 días, *Tinctoporellus*

sp. alcanzó casi el 50% de degradación y *Peniophora sp.* fue capaz de degradar el 30%. Estos resultados resaltan la relevancia de los hongos de origen marino en el campo de la biorremediación.

4.2.3 Otros Microorganismos. Kachieng'a & Momba (2017) llevaron a cabo la experimentación con el consorcio de *Aspidisca sp.*, *Trachelophyllum sp.* y *Peranema sp.*, usando tres procesos de biorremediación: atenuación natural, bioestimulación con la adición de glucosa y bioestimulación mediante la adición del surfactante Tween[®] 80. Después de 30 días, los resultados mostraron una mejora en las tasas de degradación utilizando el surfactante (90%) en comparación con los medios de cultivo suplementados con glucosa (45%) y el proceso de atenuación natural ($0 \leq 0.11$) para concentraciones de petróleo de 250 mg / L.

Llasera et al., (2018) diseñaron cuatro mini-biorreactores (1 abierto y 3 cerrados) que contenían alginato y dos especies de microalgas (*Selenastrum capricornutum*, *Scenedesmus acutus*) capaces de eliminar PAHs de alto peso molecular. Los biorreactores fueron diseñados para funcionar con dos ciclos de 6 horas cada uno; exceptuando el modelo 1 que funcionó de forma continua 15 horas. La muestra contenía 15 ml de agua contaminada ($266 \mu\text{g L}^{-1}$ de HAP) y 90 perlas de alginato. Los resultados indicaron que el modelo 1 tiene las mejores características y eliminación eficiente de BaA (92%) y BaP (87%).

Los parámetros de biodegradación de hidrocarburos en los estudios anteriormente descritos, se resumen en la Tabla 5.

Tabla 5.

Parámetros de biodegradación de hidrocarburos utilizando diferentes técnicas de biorremediación.

Especies microbianas encontradas o usadas	Estrategias de biorremediación	Contaminante	Porcentajes de remoción	Escalas	Referencias
Bacterias					
<i>Pseudomonas protegens Pf-5</i> y <i>Pseudomonas putida</i> .	Atenuación natural	TPH	60% en cuatro años	Estudio de campo: agua subterránea con nivel freático de 3.5 m.	(Lv et al., 2018)
Consortio de <i>Acinetobacter</i> , <i>Alcaligenes</i> , <i>Brevibacillus</i> , <i>Bacillus</i> y <i>Pseudomonas</i> .	Bioaumentación	TPH	94% en 32 días	Macrocosmos: 18,000 L de agua subterránea.	(Poi et al., 2018)
Consortio de <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> , <i>Ochrobactrum anthropi</i> , <i>Pseudomonas mendocina</i> , <i>Microbacterium esteraromaticum</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	Bioestimulación	PAHs	89% de naftaleno, 64% de fluoreno, 81% de fenantreno y 73% de benzo (b) fluoranteno en 45 días	Microcosmos: 50 mL de solución acuosa en Matracas Erlenmeyer de 250 ml.	(Kumari et al., 2018)
Consortio de halófilas (<i>Dietzia kunjamensis</i> , <i>Marinobacter lacisalsi</i> , <i>Halomonas oxialensis</i>) y arqueas (<i>Haloferax spp.</i> , <i>Halobacterium. spp.</i>)	Bioestimulación	Petróleo crudo	75% en seis meses.	Microcosmos: 1L de agua hipersalina con 1.5%, (p / v) de petróleo crudo ligero.	(Al-Mailem, Al-Deieg, Eliyas, & Radwan, 2017)
Co-cultivo de <i>Bacillus pumilus</i> y <i>Bacillus licheniformis</i> con la cepa de levadura <i>Candida viswanathii</i> .	Bioaumentación	Petróleo crudo	96.78 % en 28 días.	Macrocosmos: 4000 L de agua de mar con 1% (v / v) de petróleo crudo.	(Priya et al., 2015)
Consortio de <i>Arthrobacter sp.</i> , <i>Pseudomonas sp.</i> , <i>Pantoea agglomerans</i> y <i>Planomicrobium alkanoclasticum</i> .	Bioaumentación y Bioestimulación	Petróleo crudo	53% en 27 semanas.	Macrocosmos: 5000 L de agua de mar con 1% (p / v) de petróleo crudo.	(Sheppard et al., 2014)
Consortio de <i>Actinomycetales</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Delftia</i> , <i>Planomicrobium alkanoclasticum</i> y <i>Pseudomonas</i> .	Bioaumentación y Bioestimulación	Petróleo crudo	75% después de 12 semanas	Mesocosmos: 50 L de agua de mar junto con 500 g de lodo de petróleo crudo erosionado.	(Simons et al., 2013)
<i>Candida magnetobacterium</i> , <i>Flavobacteriales bacterium</i> , y <i>Bacteroidetes</i>	Biosparging	BTEX	70% en 10 meses	Estudio de campo: agua subterránea con nivel freático de	(Kao et al., 2008)

Especies microbianas encontradas o usadas	Estrategias de biorremediación	Contaminante	Porcentajes de remoción	Escalas	Referencias
<i>bacterium.</i>				2. m y velocidad de fluidez de 6.5 cm d ⁻¹	
Rhodococcus Rhodococcus TRN7.	Bioaugmentación y Bioestimulación	Petróleo crudo	50% en 31 días.	Microcosmos: matraces con 50 mL de agua de mar.	(Rodrigues et al., 2015)
Hongos					
<i>Aspergillus nigery</i> y <i>Aspergillus flavus.</i>	Bioestimulación	PAHs	70-80 % entre uno y tres meses y 100 % al año.	Microcosmos 50 mL de agua de la Bahía de Amuay con una solución de HCl.	(Araujo et al., 2016a)
<i>Fusarium, Scopulariopsis</i> y <i>Aspergillus</i>	Bioestimulación	Alcanos	32-65% en 6 semanas	Microcosmos 50 mL de agua de mar, 1.5% de agarosa y petróleo crudo (0.5 g /L).	(Simister et al., 2015)
<i>Fusarium, Scopulariopsis</i> y <i>Aspergillus</i>	Bioestimulación	PAHs	42-84% en 6 semanas	Microcosmos 50 mL de agua de mar, 1.5% de agarosa y petróleo crudo (0.5 g /L).	(Simister et al., 2015)
<i>Marasmiellus sp</i> <i>Tinctoporellus sp.</i>			92.8% en 7 días. 50% en 21 días.		
<i>Peniophora sp.</i>	Bioestimulación	PAHs	30% en 21 días	Microcosmos 50 mL de agua de mar con extracto de malta al 2% y 0.04 mg/ mL-1 de PAH.	(Vieira, Magrini, Bonugli-Santos, Rodrigues, & Sette, 2018)
Otros					
Consortio de protozoos <i>Aspidisca sp.</i> , <i>Trachelophyllum sp.</i> y <i>Peranema sp.</i>	Bioestimulación con glucosa Bioestimulación con surfactante Atenuación natural	Petróleo crudo Petróleo crudo Petróleo crudo	45% en 30 días. 90% en 30 días. 0 a ≤0.11 en 30 días.	Microcosmos 50 mL de agua contaminada con 250 mg / L de petróleo.	(Kachieng'a & Momba, 2017)
Cepas individuales de microalgas <i>Selenastrum capricornutum</i> , <i>Scenedesmus acutus</i>	Bioestimulación	benzo(a) antraceno y benzo(a) pireno	92% para BaA y 87% para BaP en 15 horas	Microcosmos: 15 ml de agua contaminada con una mezcla de HAP a 266 µg L-1	(García de Llasera, León Santiago, Loera Flores, Bernal Toris, & Covarrubias Herrera, 2018)

4.3 Evaluación Teórica de una Estrategia Integral para la Biorremediación de Aguas Contaminadas con Hidrocarburos.

En un derrame de petróleo, los métodos físicos de remediación tales como las barreras físicas, espumaderas y absorbentes, necesariamente deben desplegarse ya que estos métodos pueden eliminar rápidamente el aceite de la capa superficial del agua. Sin embargo, rara vez se logra la eliminación completa del contaminante por lo que es necesario aplicar un tratamiento biológico al ambiente, para acelerar la degradación de los contaminantes que no han sido eliminados por los métodos físicos o químicos (Sheppard et al., 2014). Teniendo en cuenta lo anterior, se plantean los tratamientos biológicos para la remediación de dos posibles escenarios: ambientes marinos y aguas subterráneas.

4.3.1 Biorremediación en ambientes marinos. El primer paso para diseñar un sistema de biorremediación consiste en realizar una completa investigación del medio. Esto incluye un estudio exhaustivo del tipo de contaminante, la concentración y los factores ambientales que influyen en la transformación biológica de los contaminantes. Llegado a este punto, se realiza la caracterización de microorganismos degradadores de hidrocarburos y la elección de las estrategias de biorremediación.

4.3.1.1 Caracterización de los microorganismos nativos de la zona contaminada. Las poblaciones bacterianas constituidas por géneros como *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Bacillus* y *Acinetobacter*, se han reportado frecuentemente en estudios de suelos y agua contaminada (Priya et al., 2015). Por otro lado, las especies de hongos del género *Aspergillus* se encuentran en la

naturaleza con una alta distribución, siendo capaces de degradar con facilidad PAHs (Araujo et al., 2016b).

Las bacterias hidrocarbonoclasticas son de particular interés, ya que utilizan hidrocarburos y productos de degradación de hidrocarburos casi exclusivamente como fuentes de energía y carbono (Ron & Rosenberg, 2014). Estas especies pueden degradar eficientemente una amplia gama de compuestos de hidrocarburos aromáticos alifáticos, aromáticos y polinucleares en compuestos más simples (Agarwal & Liu, 2015).

La selección de microorganismos apropiados es un factor clave en el éxito de la biorremediación. En el estudio de Rodrigues et al., (2015) se encontró que muchas especies en el mar tienen la capacidad de degradar el petróleo. Por esta razón, es recomendable caracterizar y utilizar microorganismos nativos de la zona contaminada.

4.3.1.2 Estrategias de biorremediación. La bioestimulación y bioaumentación, a menudo se utilizan de manera combinada para acelerar la biodegradación natural del petróleo. Por ejemplo, Rodrigues et al., (2015) combinaron la bioestimulación y bioaumentación con bacterias nativas de la isla Trindade ubicada en Brasil. Este estudio demostró que la combinación de estas dos técnicas con una población nativa, es una estrategia efectiva para la remediación de ambientes marinos. Más aún, cuando estos dos métodos se combinan con materiales de transporte resulta ser ventajoso ya que la superficie del material fomenta la formación natural de biopelículas, proporcionando a los microorganismos una gran tolerancia a los factores físicos, químicos y biológicos (Sheppard et al., 2014).

La bioaumentación a gran escala en ambientes marinos (Tabla 5) evidencian la formación de consorcios con bacterias hidrocarbonoclasticas, tales como *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Bacillus* y *Acinetobacter*. Las tasas de biodegradación son mejores en los consorcios que en cepas individuales; debido a su sinergia eficiente y actividades metabólicas coordinadas (Kumari et al., 2018). Priya et al., (2015) corrobora el hecho de que esta estrategia de co-cultivo aumenta la eficiencia de degradación, ya que las cepas individuales metabolizan solo un rango de hidrocarburos. Sin embargo, la bioaumentación ha demostrado ser efectiva cuando se usa junto con la bioestimulación.

La técnica de bioestimulación utilizando el biosurfactante de ramnolípidos y los macronutrientes N, P y K, han demostrado ser una estrategia prometedora en la estimulación de la comunidad microbiana nativa. Es una ventaja utilizar ramnolípidos porque una vez entran en contacto con el aceite pueden unirse, permanecer en la interfaz agua / aceite y no dispersarse en el medio. Por otro lado, la adición de KNO_3 y K_2HPO_4 funciona como fuentes de nitrógeno, fósforo y potasio (Rodrigues et al., 2015).

Diversos estudios de biorremediación en entornos marinos utilizan materiales de transporte, para proporcionar un nicho protector a los microorganismos ya sea físicamente y/o nutricionalmente a través de la provisión de un sustrato específico. El triturado de concha es un material de transporte sugerido en la biorremediación de entornos marinos. Simons et al., (2013) indican que el triturado de concha es el más efectivo cuando se considera la eliminación de hidrocarburos de cadena larga, ya que los consorcios bacterianos no están inmovilizados en el material de transporte, por lo que la exposición al contaminante no está limitada.

4.3.1.3 Factores ambientales. Los materiales de transporte son atractivos para su uso dentro de los entornos marinos, ya que contrarrestan el efecto de dilución de los sistemas de aguas abiertas al tiempo que ayudan a la degradación microbiana del petróleo. Sin embargo, los efectos de los factores ambientales de origen marino, como las corrientes marinas y las mareas, deben evaluarse en futuros estudios de campo (Simons et al., 2013).

La biorremediación llevada a cabo entre 20° C y 40° C muestra que este intervalo de temperatura es óptimo para la actividad microbiana. Además, para mantener una mejor capacidad degradante, por periodos de tiempo prolongados, el pH debe estar entre 6 y 8 evitando al máximo las fluctuaciones (Esmeralda et al., 2008). El análisis de las características del agua de mar incluye medir la temperatura, oxígeno disuelto, conductividad eléctrica, salinidad y pH (Sheppard et al., 2014).

4.3.2 Biorremediación en aguas subterráneas. La biorremediación *in situ* de aguas subterráneas es una tecnología que fomenta el crecimiento y la reproducción de microorganismos nativos para mejorar la biodegradación de componentes orgánicos en la zona saturada (EPA, 2016). La biorremediación se basa en monitorear la atenuación natural del sitio contaminado y aplicar biosparging si es necesario. Reconocer la aparición de la degradación microbiana y comprender su mecanismo es importante para evaluar la idoneidad de la atenuación natural monitoreada, lo que también proporciona una base para formular el proyecto de mejora en las condiciones necesarias (Lv et al., 2018).

4.3.2.1 Caracterización de los microorganismos nativos de la zona contaminada. Existen varios métodos disponibles para categorizar la comunidad microbiana; incluyendo, la DGGE que es una técnica de separación rápida y eficiente para secuencias de ADN. Por otro lado, la medición de isotopos estables de carbono y azufre permite la detección y cuantificación de diferentes mecanismos de biodegradación (Lv et al., 2018).

Los microorganismos en el agua subterránea usan gradualmente oxígeno (O_2), nitrato (NO_3^-), óxidos de hierro [por ejemplo, $Fe(OH)_3$] y sulfato (SO_4^{2-}) como aceptores de electrones, para descomponer hidrocarburos de petróleo en CO_2 y H_2O mediante biodegradación aeróbica. En procesos anaeróbicos ocurre metanogénesis, desnitrificación, reducción de hierro (III) y sulfato reducción. Cuando se producen las reacciones mencionadas anteriormente, los indicadores geoquímicos relevantes (p. Ej., NO_3^- , SO_4^{2-} , CH_4 , etc.) cambian, lo que puede demostrar las rutas metabólicas correspondientes de biodegradación (Lv et al., 2018).

4.3.2.2 Estrategias de biorremediación. Las tasas de biodegradación de la atenuación natural pueden ser limitadas por factores ambientales como oxígeno, nutrientes y aceptores de electrones. En este caso, la biorremediación de agua subterránea puede tratarse con biosparging, un mecanismo efectivo para estimular la biodegradación de contaminantes. Por ejemplo, las tasas de biodegradación de BTEX bajo condiciones aeróbicas son más altas que aquellas bajo condiciones anaeróbicas (Kao et al., 2008). De igual modo, se ha demostrado que el modo aeróbico es más efectivo para reducir los niveles de hidrocarburos alifáticos y aromáticos, presentes en la gasolina y el combustible diésel (EPA, 2016).

El producto libre recuperable debe retirarse del subsuelo antes de la operación del sistema de biorremediación. Cualquiera que sea el método de oxigenación que se use, es importante asegurarse que el oxígeno se distribuya en toda el área contaminada. Se necesitan aproximadamente de 3 a 3½ libras de oxígeno para degradar una libra de producto de petróleo (EPA, 2016).

4.3.2.3 Factores ambientales que afectan el uso de biosparging. La efectividad de biosparging dependerá principalmente de dos factores: (i) la permeabilidad del suelo que determina la velocidad a la que se puede suministrar oxígeno a los microorganismos (ii) la biodegradabilidad de las fracciones del petróleo (EPA, 2016). Por esta razón, primero se debe determinar el tipo de suelo presente y el producto petrolífero lazado en el sitio. La permeabilidad intrínseca del suelo determinar la efectividad del biosparging, porque controla la forma en que el oxígeno puede suministrarse a los microorganismos del subsuelo. La permeabilidad intrínseca de los suelos de zonas saturadas generalmente se determina en el campo mediante pruebas de bombas de acuíferos que miden la conductividad hidráulica. Generalmente, Una permeabilidad efectiva para biosparging se encuentra en 10^{-9} cm² (EPA, 2016)

Las concentraciones de hidrocarburos de petróleo en exceso de 50,000 ppm, o metales pesados en exceso de 2,500 ppm, se consideran inhibidores y / o tóxicos para las bacterias aeróbicas. Otros factores clave utilizados para evaluar la idoneidad del sitio que se quiere aplicar biosparging, son la temperatura y el pH. La biodegradación de hidrocarburos disminuye a temperaturas superiores a 45 ° C y el rango aceptable del pH debe estar entre 6 y 8 (EPA, 2016)

5. Conclusiones

Los documentos encontrados durante el análisis bibliométrico, se relacionan principalmente con la remediación de aguas subterráneas y entornos marinos, contaminados con hidrocarburos aromáticos y contaminantes BTEX. Entre las técnicas de biorremediación encontradas durante la revisión bibliográfica, se destacan la atenuación natural monitoreada, biosparging, bioestimulación y bioacumulación.

Las diferentes técnicas de biorremediación *in situ* demuestran que la biodegradación de hidrocarburos, es un proceso llevado a cabo especialmente por microorganismos nativos en condiciones aeróbicas. Diversos estudios de biorremediación en ambientes acuáticos han demostrado que las bacterias participan activamente en la degradación de hidrocarburos, predominando los géneros *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Bacillus* y *Acinetobacter*.

La combinación de la bioestimulación y bioaumentación con una población nativa de microorganismos, es una estrategia efectiva para la remediación de ambientes marinos. Cuando estos dos métodos se combinan con materiales de transporte resulta ser ventajoso, ya que la superficie del material fomenta la formación natural de biopelículas. En cuanto a las aguas subterráneas, la biorremediación puede ser abordada desde la atenuación natural monitoreada y el biosparging.

Referencias Bibliográficas

- Agarwal, A., & Liu, Y. (2015). Remediation technologies for oil-contaminated sediments. *Marine Pollution Bulletin*, 101(2), 483–490. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.09.010>
- Agudo, A. (Instituto C. de O. (2009). Los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP) Acercamiento a su problemática como riesgo laboral. *Secretaria de Salud y Medio Ambiente MCA-UGT*, 1–130. Retrieved from www.ugt.es/saludlaboral/Hidrocarburos.pdf
- Aislabie, J., Saul, D. J., & Foght, J. M. (2006). Bioremediation of hydrocarbon-contaminated polar soils. *Extremophiles*, 10(3), 171–179. <https://doi.org/10.1007/s00792-005-0498-4>
- Al-Mailem, D. M., Al-Deieg, M., Eliyas, M., & Radwan, S. S. (2017). Biostimulation of indigenous microorganisms for bioremediation of oily hypersaline microcosms from the Arabian Gulf Kuwaiti coasts. *Journal of Environmental Management*, 193, 576–583. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.02.054>
- Araujo, J., Yegres, C. F., Barreto, C. G., Antequera, A. A., Depool, B., & Rojas, Y. (2016a). Biocatalizadores fúngicos hidrocarbonoclásticos del genero *Aspergillus* para la descontaminación de agua con Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos (HPAs). *Fungal Hydrocarbonoclastic Biocatalysts of the Genere Aspergillus for Water Descontamination with Polycyclic Aromatic Hydrocarbons(PAHs).*, 28(2), 703–735. Retrieved from <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=a9h&AN=116961862&lang=es&site=ehost-live>
- Araujo, J., Yegres, F., Barreto, G., Antequera, A. A., Depool, B., & Rojas, Y. (2016b).

- Biocatalizadores fúngicos hidrocarbonoclasticos del genero *Aspergillus* para la descontaminación de agua con Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos (HPAs). *Revista Cubana de Química*, 28(2), 703–735. Retrieved from http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-54212016000200013
- Barrios, Y., & Martín, S. (2010). Biorremediación: una herramienta para el saneamiento de ecosistemas marinos...: EBSCOhost. Retrieved from <http://eds.b.ebscohost.com.ezproxy.unal.edu.co/ehost/pdfviewer/pdfviewer?sid=c4793a10-fe54-440f-beea-b90c2cf4fe44%40sessionmgr110&vid=1&hid=120>
- Behera, B. K., Das, A., Sarkar, D. J., Weerathunge, P., Parida, P. K., Das, B. K., ... Bansal, V. (2018). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in inland aquatic ecosystems: Perils and remedies through biosensors and bioremediation. *Environmental Pollution*, 241, 212–233. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.05.016>
- Benavides López de Mesa; MSc, J., Quintero, MSc, G., Guevara Vizcaíno, A. L., Jaimes Cáceres, D. C., Gutiérrez Riaño, S. M., & Miranda García, J. (2006). Bioremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo. *Nova*, 4(5), 82. <https://doi.org/10.22490/24629448.351>
- Cerqueira, V. S., Hollenbach, E. B., Maboni, F., Vainstein, M. H., Camargo, F. A. O., Peralba, M. do C. R., & Bento, F. M. (2011). Biodegradation potential of oily sludge by pure and mixed bacterial cultures. *Bioresource Technology*, 102(23), 11003–11010. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.09.074>
- EPA. (2016). For Underground Storage Tank Sites A Guide For Corrective Action Plan Reviewers. *How To Evaluate Alternative Cleanup Technologies For Underground Storage Tank Sites*, (November).

- Esmeralda, S., Romero, G., Carolina, D., Bustos, G., María, A., Marín, H., ... Vargas, M. (2008). Factores bióticos y abióticos que condicionan la degradación de pseudomonas, 6(9), 76–84. <https://doi.org/10.22490/24629448.398>
- Fuentes, S., Méndez, V., Aguila, P., & Seeger, M. (2014). Bioremediation of petroleum hydrocarbons: Catabolic genes, microbial communities, and applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(11), 4781–4794. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-5684-9>
- García de Llasera, M. P., León Santiago, M., Loera Flores, E. J., Bernal Toris, D. N., & Covarrubias Herrera, M. R. (2018). Mini-bioreactors with immobilized microalgae for the removal of benzo(a)anthracene and benzo(a)pyrene from water. *Ecological Engineering*, 121, 89–98. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2017.06.059>
- garcía, E., & Roldán, F. (2011). EVALUACIÓN DE LA BIOESTIMULACION (NUTRIENTES) EN SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS UTILIZANDO RESPIROMETRIA. *Acta Biológica Colombiana*, 16(1), 195–208. Retrieved from <https://revistas.unal.edu.co/index.php/actabiol/article/view/11308#.W-nNwO7Ynyw.mendeley>
- Godleads, A., Tawari, F., Eruke, O., & Ehinomen, I. (2015). Bioremediation, Biostimulation and Bioaugmentation: A Review. *International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation*, 3(1), 28–39. <https://doi.org/10.12691/ijebb-3-1-5>
- Gómez, W., Gaviria, J., & Cardona, S. (2009). Assessment of the biostimulation against bioaugmentation and natural attenuation on contaminated soil with diesel-gasoline mixing. *Evaluación de La Bioestimulación Frente a La Atenuación Natural y La Bioaumentación En Un Suelo Contaminado Con Una Mezcla de Gasolina -Diesel*, 76(160), 83–93.

Retrieved from <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-77958046867&partnerID=40&md5=d95207cc6c4be559ad8f4c9ab2ba8384>

- González, N., Simarro, R., Molina, M. C., Bautista, L. F., Delgado, L., & Villa, J. A. (2011). Effect of surfactants on PAH biodegradation by a bacterial consortium and on the dynamics of the bacterial community during the process. *Bioresource Technology*, *102*(20), 9438–9446. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.07.066>
- Gouveia, V., Almeida, C. M. R., Almeida, T., Teixeira, C., & Mucha, A. P. (2018). Indigenous microbial communities along the NW Portuguese Coast: Potential for hydrocarbons degradation and relation with sediment contamination. *Marine Pollution Bulletin*, *131*(April), 620–632. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.04.063>
- Haritash, A. K., & Kaushik, C. P. (2009). Biodegradation aspects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs): A review. *Journal of Hazardous Materials*, *169*(1–3), 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.03.137>
- Helena, P., Cardona, P., Del, G., & Mercado, C. (2014). Petróleo En Colombia Bioremediation Contaminated Soil Oil Spill in Colombia Petroleum.
- Ibarra, Diana., Romero, Ágata., Barajas, Crisóstomo., & Kafarov, V. (2017). Methodological proposal for evaluation of oil spills environmental vulnerability in rivers. *International Oil Spill Conference*, 1–13.
- International, T. H. E., Owners, T., & Federation, P. (2018). OIL TANKER SPILL STATISTICS 2017 Introduction to ITOPF, (January).
- Kachieng'a, L., & Momba, M. N. B. (2017). Kinetics of petroleum oil biodegradation by a consortium of three protozoan isolates (*Aspidisca* sp., *Trachelophyllum* sp. and *Peranema* sp.). *Biotechnology Reports*, *15*(July), 125–131. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2017.07.001>

- Kachieng'A, L., & Momba, M. N. B. (2017). Biodegradation of petroleum hydrocarbon functional groups in contaminated water using selected protozoan isolates. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 5(2), 1885–1891. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2017.03.022>
- Kachienga, L., Jitendra, K., & Momba, M. (2018). Metagenomic profiling for assessing microbial diversity and microbial adaptation to degradation of hydrocarbons in two South African petroleum-contaminated water aquifers /631/80 /631/326 /704/172 /13 /13/89 /82 /82/58 /82/75 /82/80 /82/83 /82/16 article. *Scientific Reports*, 8(1), 1–6. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-25961-0>
- Kao, C. M., Chen, C. Y., Chen, S. C., Chien, H. Y., & Chen, Y. L. (2008). Application of in situ biosparging to remediate a petroleum-hydrocarbon spill site: Field and microbial evaluation. *Chemosphere*, 70(8), 1492–1499. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.08.029>
- Kumari, S., Regar, R. K., & Manickam, N. (2018). Improved polycyclic aromatic hydrocarbon degradation in a crude oil by individual and a consortium of bacteria. *Bioresource Technology*, 254(November 2017), 174–179. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.01.075>
- La, P., Miranda, D., Restrepo, R., & Ecopetrol, S. A. (2004). Los Derrames De Petroleo En Ecosiste- Mas Tropicales - Impactos , Consecuencias Y.
- Lacasaña, Marina., González, Beatriz., Rodriguez, Miguel & Daponte, A. (2008). E v a l u a c i ó n d e l a e x p o s i c i ó n a B T E X e n l a p o b l a c i ó n d e l C a m p o d e G i b r a l t a r. *Escuela Andaluza de Salud Pública*.
- Loera-valenzuela, P. B., Pérez-flores, S., López-ortiz, C. E., & Balagurusamy, N. (2016). Biodegradación de compuestos aromáticos.
- Logeshwaran, P., Megharaj, M., Chadalavada, S., Bowman, M., & Naidu, R. (2018). Petroleum

- hydrocarbons (PH) in groundwater aquifers: An overview of environmental fate, toxicity, microbial degradation and risk-based remediation approaches. *Environmental Technology and Innovation*, 10, 175–193. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2018.02.001>
- Lv, H., Su, X., Wang, Y., Dai, Z., & Liu, M. (2018). Effectiveness and mechanism of natural attenuation at a petroleum-hydrocarbon contaminated site. *Chemosphere*, 206, 293–301. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.04.171>
- Martínez-Alonso, M., & Gaju, N. (2005). El papel de los tapetes microbianos en la biorrecuperación de zonas litorales sometidas a la contaminación por vertidos de petróleo. *Revista Ecosistemas*, 14(2), 79–91. <https://doi.org/10.7818/re.2014.14-2.00>
- Mendelsohn, I. A., Andersen, G. L., Baltz, D. M., Caffey, R. H., Carman, K. R., Fleeger, J. W., ... Rozas, L. P. (2012). Oil Impacts on Coastal Wetlands: Implications for the Mississippi River Delta Ecosystem after the Deepwater Horizon Oil Spill. *BioScience*, 62(6), 562–574. <https://doi.org/10.1525/bio.2012.62.6.7>
- Naidu, R., Nandy, S., Megharaj, M., Kumar, R. P., Chadalavada, S., Chen, Z., & Bowman, M. (2012). Monitored natural attenuation of a long-term petroleum hydrocarbon contaminated sites: A case study. *Biodegradation*, 23(6), 881–895. <https://doi.org/10.1007/s10532-012-9580-7>
- Ñústez, D. C., Paredes, D., & Cubillos, J. (2014). Bioremediation for degradation of total hydrocarbons present in the sediments of a fuel service station. *Rev. Téc. Ing. Univ. Zulia*. *Rev. Téc. Ing. Univ. Zulia*, 37(1), 20–28.
- Poi, G., Shahsavari, E., Aburto-Medina, A., Mok, P. C., & Ball, A. S. (2018). Large scale treatment of total petroleum-hydrocarbon contaminated groundwater using bioaugmentation. *Journal of Environmental Management*, 214, 157–163.

<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.02.079>

Priya, A., Mandal, A. K., Ball, A. S., Manefield, M., Lal, B., & Sarma, P. M. (2015). Mass culture strategy for bacterial yeast co-culture for degradation of petroleum hydrocarbons in marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, *100*(1), 191–199.

<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.08.050>

Rodrigues, E. M., Kalks, K. H. M., Fernandes, P. L., & Tótoła, M. R. (2015). Bioremediation strategies of hydrocarbons and microbial diversity in the Trindade Island shoreline - Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, *101*(2), 517–525.

<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.10.063>

Ron, E. Z., & Rosenberg, E. (2014). Enhanced bioremediation of oil spills in the sea. *Current Opinion in Biotechnology*, *27*, 191–194. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2014.02.004>

Sheppard, P. J., Simons, K. L., Adetutu, E. M., Kadali, K. K., Juhasz, A. L., Manefield, M., ... Ball, A. S. (2014). The application of a carrier-based bioremediation strategy for marine oil spills. *Marine Pollution Bulletin*, *84*(1–2), 339–346.

<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.03.044>

Simister, R. L., Poutasse, C. M., Thurston, A. M., Reeve, J. L., Baker, M. C., & White, H. K. (2015). Degradation of oil by fungi isolated from Gulf of Mexico beaches. *Marine Pollution Bulletin*, *100*(1), 327–333. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.08.029>

Simons, K. L., Sheppard, P. J., Adetutu, E. M., Kadali, K., Juhasz, A. L., Manefield, M., ... Ball, A. S. (2013). Carrier mounted bacterial consortium facilitates oil remediation in the marine environment. *Bioresource Technology*, *134*, 107–116.

<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.01.152>

Tirado Torres, D., Romo Gómez, C., Marmolejo Santillána, Y., Palacios Romero, A., Acevedo

- Sandoval, O., & Hernández Flores, M. de la L. (2015). Participación de Consorcios Microbianos en la Biodegradación de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos. *Ecología y Medio Ambiente La Labor Investigadora e Innovadora En México*, 149–172.
- Trujillo, M. A., & Ramírez, J. F. (2009). Biorremediación en suelos contaminados con hidrocarburos en Colombia Bioremediation in soil contaminated with hydrocarbons in Colombia. *Enzyme and Microbial Technology*, IX(3), 37,39. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2009.06.001>
- USEPA. (2012). A Citizen ' s Guide to Monitored Natural Attenuation What Is Monitored Natural.
- Varjani, S. J. (2017). Microbial degradation of petroleum hydrocarbons. *Bioresource Technology*, 223, 277–286. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.10.037>
- Varjani, S. J., & Upasani, V. N. (2017). A new look on factors affecting microbial degradation of petroleum hydrocarbon pollutants. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 120, 71–83. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.02.006>
- Velasquez, J. A. (2017). C ontaminación de suelos y aguas por hidrocarburos en Colombia . Análisis de la fitorremediación como estrategia biotecnológica de recuperación Contamination of soil and water by hydrocarbons in Colombia . Analysis of phytoremediation as a biotechnology s. *Revista de Investigación y Ambiental*, 8(1), 151–168. <https://doi.org/10.22490/21456453.1846>
- Vieira, G. A. L., Magrini, M. J., Bonugli-Santos, R. C., Rodrigues, M. V. N., & Sette, L. D. (2018). Polycyclic aromatic hydrocarbons degradation by marine-derived basidiomycetes: optimization of the degradation process. *Brazilian Journal of Microbiology*, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2018.04.007>

Viva, Q., Iustman, R., Laura, J., & Nancy, I. (2009). Disponible en:
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86320633002>.