

EL VESSAMENT DEL *PRESTIGE*: LA BIODEGRADACIÓ MICROBIANA D'HIDROCARBURS

Quan tot just han passat tres anys de la marea negra produïda pel petrolier *Erika* a la costa francesa, i onze de la produïda per l'*Agean Sea* a A Coruña, hem de tornar a parlar d'una altra marea negra a la costa gallega, la del petrolier *Prestige*. Malauradament, en aquest cas, com ja es va predir des d'un principi, el vessament ha afectat no només la costa gallega sinó també la càntabra, la basca i la francesa.

Un vessament de petroli en el mar és un succés dinàmic, que s'inicia en el moment de l'accident i que finalitza amb la restauració final del medi. Dins d'aquesta dinàmica temporal, que pot situar-se en un horitzó de 5 a 10 anys, s'ha de fer front a diverses implicacions socials, jurídiques, ecològiques i econòmiques, per a la gestió de les quals és necessari un acurat coneixement, entre d'altres, de la naturalesa del producte vessat, de la seva evolució en el medi i de l'impacte que té sobre els recursos marins. Tots aquests aspectes estan interrelacionats i cal abordar-los de manera integrada. Per avaluar la gravetat d'aquest tipus de catàstrofes marines se n'han de determinar els efectes a curt, mig i llarg termini, i d'això se n'han d'ocupar diferents especialistes.

Ara bé, malgrat que amb el temps anirem tenint molta més informació, si ens atenem a algunes de les característiques que es van poder conèixer gairebé des del principi, podem atrevir-nos a dir que la marea negra del *Prestige* pot considerar-se com

Escrit per:

Anna Maria Solanas Cánovas

Dept. Microbiologia
Universitat de Barcelona

una de les pitjors de la història. El nombre de quilòmetres de costa afectats (quasi 3.000) i el fet que Galícia és la principal regió pesquera d'Europa en són les principals causes. Un altre fet a tenir en compte és que es tracta d'una zona afectada de manera recurrent. Si tenim en compte els 12 vessaments més importants produïts els últims 33 anys, el 33%, és a dir 4 de cada 12, s'han produït a la costa gallega (Taula 1).

Per últim, un altre paràmetre és el tipus de producte vessat. La càrrega del *Prestige* era un fuel que anomenem fuel núm. 2 en la nomenclatura francesa o Bunker núm. 6 en la nomenclatura americana. I per què aquest producte és pitjor que si s'hagués vessat un cru de petroli d'Aràbia o un cru de petroli dels que s'extreuen a Tarragona com el cru de petroli Casablanca? Ho veurem més endavant.

Vaixell	Any	Lloc	Càrrega (Tm)
<i>Polycomander</i>	1970	Vigo	32.000
<i>Urquiola</i>	1976	A Coruña	100.000
<i>Amoco Cadiz</i>	1978	Bretanya, França	223.000*
<i>Andros Patria</i>	1978	Vizcaya	50.000
<i>Tanio</i>	1980	Bretanya, França	16.000
<i>Cavo Cambanos</i>	1981	Tarragona	20.000
<i>Exxon Valdez</i>	1989	Alaska	37.000
<i>Sea Spirit</i>	1990	West Gibraltar	12.200*
<i>Haven</i>	1991	Gènova, Itàlia	144.000
<i>Agean Sea</i>	1992	A Coruña	15.000*
<i>Erika</i>	1999	Bretanya, França	12.000*
<i>Prestige</i>	2002	Galícia	76.000*

*Càrrega aproximada vessada

Taula 1. Vessaments més importants succeïts en els últims 33 anys

Tal com he dit en començar aquest article, només des d'una integració dels estudis que portin a terme els diferents especialistes (ecòlegs, zoòlegs, botànics, microbiòlegs, químics, toxicòlegs, epidemiòlegs, etc.) podrem tenir una visió de conjunt dels efectes del Prestige, i per tant com a microbiòloga explicaré una petita parcel·la del complex món de les mares negres.

Al cap de pocs dies de produir-se el desastre del *Prestige* vaig escoltar a la televisió un "percebeiro" que va dir: "entre el mar y nosotros lo vamos a limpiar". La saviesa adquirida al costat del mar li permetia saber el que jo, com a científica que ha treballat en el camp de la contaminació des de fa més de 25 anys, coneixia des del moment que es va produir el vessament. Ara bé, el meu coneixement científic em feia preveure que, en aquest cas, el mar tindria moltes dificultats.

Per què el mar neteja les seves aigües i la costa? A continuació veurem quins són els processos responsables. Quan un producte com el fuel del *Prestige* arriba al mar, comencen a actuar sobre ell un seguit de processos físics, químics i biològics (Figura 1). Una part del producte s'evapora, una altra es dissol, una altra es dispersa, una altra s'emulsiona, una altra sedimenta, una altra es pot oxidar per l'acció de la llum solar (fotooxidació) i una altra és degradada per microorganismes. El resultat de tots aquests processos governarà el que anomenem el seu destí ambiental, o dit d'una altra manera, el com es repartirà entre els quatre compartiments ambientals: l'atmosfera, la columna d'aigua, el sediment i els organismes. Ara bé, analitzem aquests processos que acabem d'esmentar i veurem que són molt diferents.

D'una banda tenim l'evaporació, la dissolució, la dispersió, l'emulsió i la

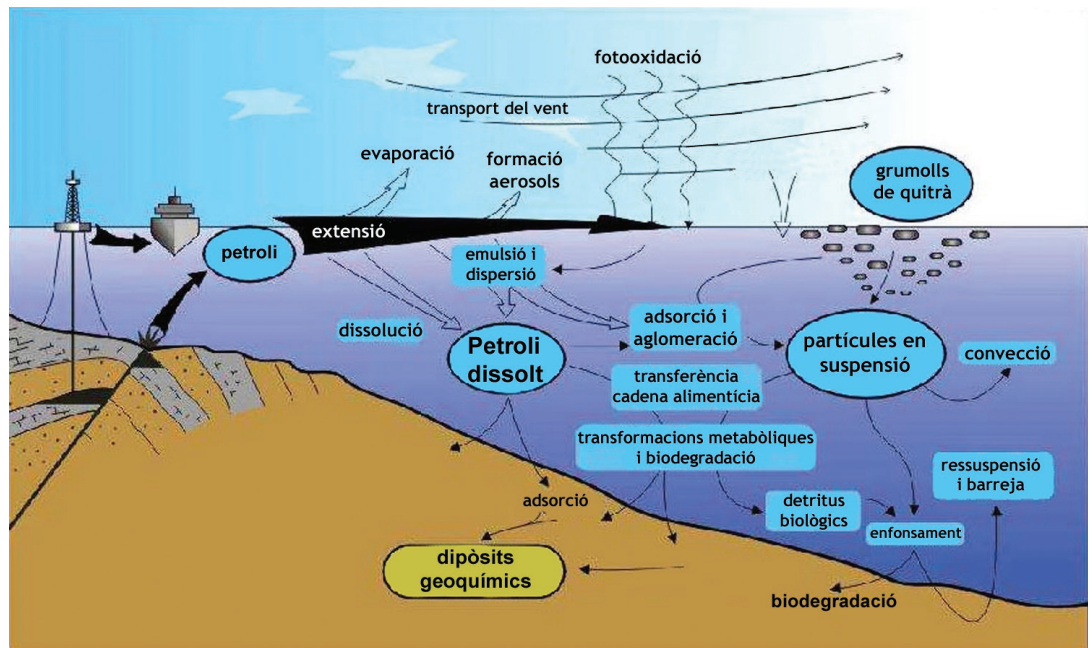


Figura 1. Destí ambiental d'una marea negra

sedimentació, que només suposen el canvi d'estat físic o el trasllat del problema d'un compartiment (columna d'aigua) a un altre (atmosfera, sediment). En canvi la fotooxidació i la biodegradació microbiana suposen la transformació química dels compostos que formen part del fuel, que de manera majoritària són els hidrocarburs, en productes innocus com ara l'anhidrid carbònic i l'aigua. Des d'un punt de vista ambiental, només aquests dos últims processos són els processos que permeten la vertadera eliminació del problema. Analitzem-los.

La fotooxidació suposa l'oxidació dels hidrocarburs per l'acció de la llum solar. Aquesta transformació pot produir-se de manera directa (fotòlisi directa) o a través de la formació de radicals molt reactius com l'oxigen en estat singlet, radicals hidroxil o l'aigua oxigenada (fotòlisi indirecta). La transformació suposa la formació de productes d'oxidació intermèdia i en alguns casos la mineralització o transformació en anhidrid carbònic i aigua. Ara bé, aquestes transformacions només tindran lloc a les zones irradiades.

Sens dubte, el principal procés d'eliminació dels hidrocarburs és la biodegradació microbiana. De fet, si no fos per aquest procés, els nostres mars estarien plens d'hidrocarburs, donades

les elevades quantitats que s'hi vessen de manera continuada. A títol d'exemple, segons un estudi de la Universitat Politècnica de Catalunya, les costes catalanes reben entre 15.000 i 20.000 tones de crus de petroli procedents de petits vessaments intencionats o accidentals.

La biodegradació microbiana suposa la transformació dels hidrocarburs en productes més oxidats, des de petites transformacions que suposen transformar-los en alcohols, cetones o àcids, fins a la completa mineralització que suposa la seva conversió en anhidrid carbònic i aigua. Aquesta última transformació és la més desitjada perquè suposa la transformació en productes totalment innocus.

Ens sorprèn que els microorganismes puguin alimentar-se d'hidrocarburs? La seva estructura química sembla molt llunyana de la dels compostos que solen usar els organismes superiors com a aliment, com per exemple els sucres o les proteïnes, i a més a més es tracta de compostos insolubles en aigua. La resposta és molt simple. Es tracta de recordar que els microorganismes són els primers organismes que varen aparèixer a la terra, fa més de tres mil cinc-cents milions d'anys, i per tant han pogut estar presents en els processos anomenats diagenètics i catagenètics que s'han

produït durant milions d'anys i que han suposat la formació dels hidrocarburs del petroli a partir de compostos presents a la matèria viva com alcaloides, pigments, hormones, etc. (Figura 2). Per tant, no és d'estranyar que siguin els organismes amb la major inventiva bioquímica del planeta. Així mateix, han pogut desenvolupar diferents estratègies per alimentar-se de compostos insolubles. Una d'aquestes és la síntesi de tensioactius que permeten la solubilització dels compostos insolubles com el petroli (Figura 3).

Els microorganismes transformen els hidrocarburs com a resultat de dos tipus de transformacions metabòliques. Una d'aquestes suposa l'ús de l'hidrocarburi com a substrat de creixement. El microorganisme usarà una part de l'esquelet carbonat per formar nous materials cel·lulars, és a dir per formar nous individus, i l'altra part la convertirà en anhidrid carbònic i aigua obtenint energia. Malgrat s'han descrit microorganismes que porten a terme respiracions anaeròbiques dels hidrocarburs, el metabolisme majoritari i més eficient és una respiració aeròbica on l'oxigen actua com a acceptor final d'electrons. A més a més, si pensem que els hidrocarburs, a diferència de la glucosa, només estan formats per carboni i hidrogen, es necessitarà introduir

oxigen per oxidar-los. En aquest cas l'oxigen actuarà com a substrat. Aquest procés enzimàtic el porten a terme les oxigenases, enzims que actuen usant l'oxigen com a substrat. Però hi ha un altre procés metabòlic implicat en la transformació dels hidrocarburs que és el cometabolisme. Aquest procés es produeix quan un microorganisme és incapaç d'usar un compost com a substrat per al seu creixement, però és capaç de transformar-lo en un altre compost. El resultat sol ser la formació d'un producte d'oxidació intermèdia, que s'acumula. En el cas dels hidrocarburs solen ser alcohols, cetones, àcids carboxílics etc. Cal remarcar que aquests productes poden ser més bioacumulables i també

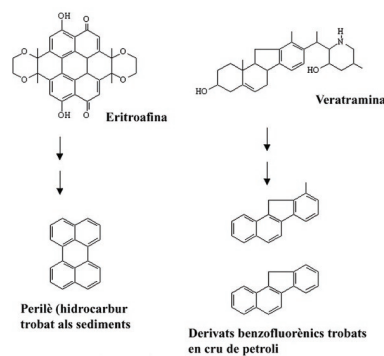


Figura 2. Formació d'hidrocarburs a partir dels pigments eritroafina i veratramina al llarg dels processos de diagènesi i catagènesi.

poden ser més tòxics.

Ara bé, tenim la sort que en el medi natural es troben infinitat de microorganismes que en molts casos porten a terme transformacions metabòliques que es complementen. Un microorganisme pot oxidar un hidrocarburi fins al seu alcohol o la seva cetona com a resultat d'un fenomen de cometabolisme, i un altre pot acabar-lo d'oxidar fins a anhidrid carbònic i aigua. En el nostre laboratori vàrem poder exemplificar aquesta col·laboració microbiana amb dues soques bacterianes, la F101 d'*Arthrobacter* sp. que creix amb fluorè, un hidrocarburi aromàtic policíclic que forma part de tots els productes petrolífers, i la soca MC2 de *Pseudomonas mendocina* (Figura 4). La soca F101 és capaç d'usar el fluorè com a substrat de creixement mineralitzant-lo fins a anhidrid carbònic i aigua. Però una petita part del fluorè el transforma en fluorenona, la seva cetona, que és incapaç de continuar oxidant, per la qual cosa s'acumula i acaba aturant el creixement perquè li resulta tòxic. La soca MC2 va ser aïllada per la seva capacitat d'usar la fluorenona com a substrat de creixement, però no pot usar el fluorè. El co-cultiu d'ambdues soques permet portar a terme la mineralització de grans quantitats de fluorè i eliminar l'efecte tòxic de la fluorenona.



Figura 3. Emulsió del petroli ocasionat per la producció de biosurfactants pels microorganismes (en el matrass de l'esquerra hi ha un cru de petroli d'Àrabia i aigua de mar, en el matrass de la dreta, el mateix que a l'anterior i una soca bacteriana de *Pseudomonas* sp.)

Ara bé, de seguida se'n planteja una pregunta cabdal. Els microorganismes poden degradar tots els hidrocarburs que es poden trobar en un petroli o fuel? La resposta evidentment és negativa. Un cru de petroli, i per tant qualsevol producte que se'n derivi com ara un fuel, està format per quatre fraccions químiques: la fracció alifàtica, la fracció aromàtica, les resines i els asfaltens. En aquest sentit, existeixen diferents crus de petroli en funció de les proporcions d'aquestes quatre fraccions. Els resultats dels estudis que s'han portat a terme al laboratori amb soques microbianes permeten establir unes generalitzacions pel que fa a les preferències dels microorganismes per a cadascuna d'aquestes fraccions i per a les diferents famílies de compostos que es troben en cadascuna de les fraccions.

La fracció alifàtica és més biodegradable que la fracció aromàtica, i les fraccions de les resines i els asfaltens, a part de constituir unes fraccions molt poc estudiades, són molt menys biodegradables. El fuel del *Prestige* conté un 23% de fracció alifàtica, un 53% de fracció aromàtica i un 24% de resines i asfaltens. En canvi, el cru de petroli Casablanca de Tarragona conté un 57% de la fracció alifàtica, un 26% de la fracció aromàtica i un 17% de resines i asfaltens. Aquesta composició és semblant a la que presentava el cru de petroli que contenia el petrolier *Exxon Valdez*, que va produir una marea negra a Alaska l'any 1989.

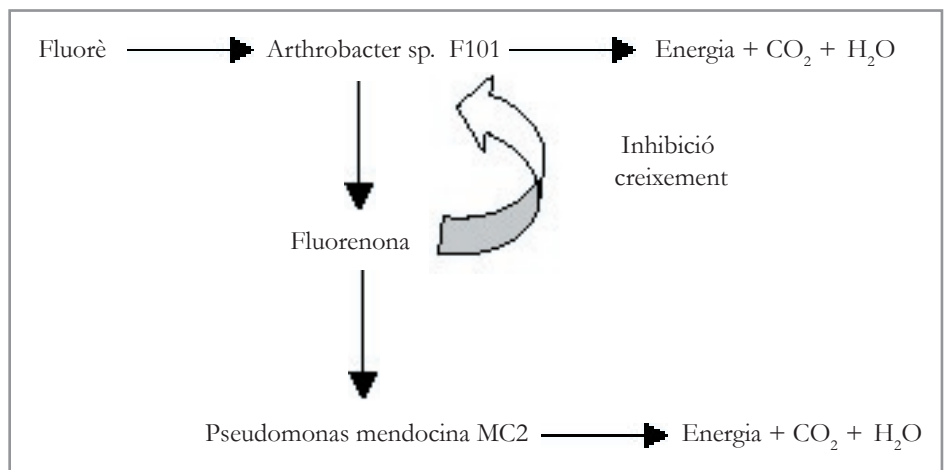


Figura 4. Col·laboració metabòlica entre dues soques bacterianes degradant fluorè

A la figura 5 es poden observar uns resultats que hem obtingut al nostre laboratori referents al diferent grau de biodegradació del fuel del *Prestige* i del cru Casablanca assolit per un consorci microbià de la nostra col·lecció. Un consorci microbià és un cultiu mixt de microorganismes que podem obtenir al laboratori mitjançant estratègies basades en una pressió selectiva, a partir de mostres contaminades de forma crònica on ja existeixen de manera natural poblacions amb la capacitat de degradar hidrocarburs. Per tant, després d'aquestes constatacions ja podem entendre que el tipus de producte vessat és una característica fonamental i un dels principals condicionants del destí d'una marea negra. Malauradament, el producte del *Prestige* és un producte pesat menys biodegradable que altres crus de petroli i per tant l'abast de la seva biodegradació i el temps que li caldrà estar relacionats amb aquesta composició. Si tornem a recordar la frase del percebeiro, "entre el mar y nosotros lo vamos a limpiar" desgraciadament hem de recomanar que en la mesura del possible es retiri la màxima quantitat possible del producte vessat.

Ara bé, aquesta neteja que poden portar a terme el mar o les sorres, i que com hem vist està condicionada pel tipus de producte vessat, està també influenciada per altres factors. La temperatura, com a qualsevol transformació enzimàtica, afectarà la velocitat de reacció. És evident que els vessaments produïts durant la guerra del Golf varen desaparèixer molt més ràpidament que el producte

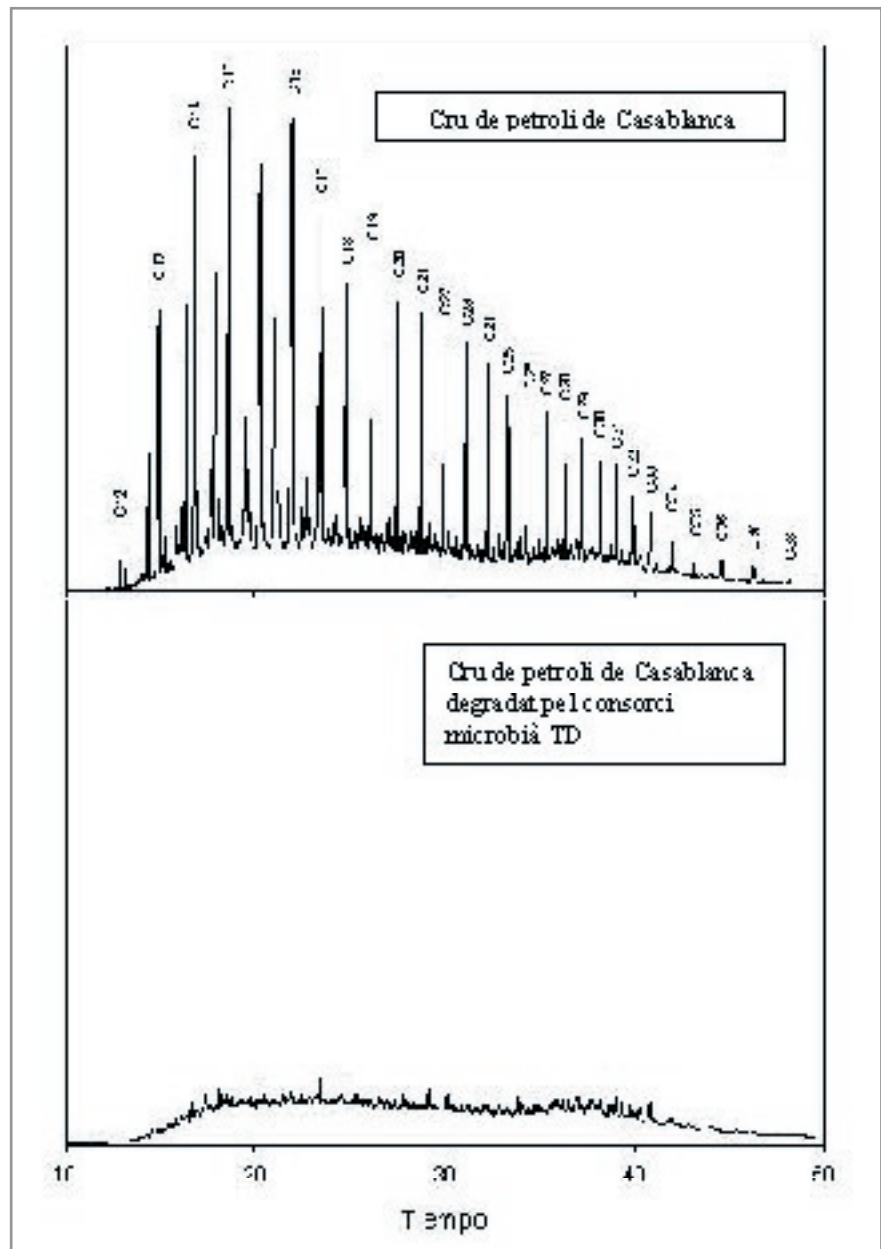


Figura 5.1. Biodegradació del cru de Casablanca pel consorci microbià TD.

a Alaska, entre d'altres motius, per la temperatura. En el cas del *Prestige*, la biodegradació del fuel es produirà en major proporció durant els mesos d'estiu. En segon lloc, si tenim en compte el que hem dit en relació al metabolisme dels hidrocarburs, la presència d'oxigen serà un punt crític. Llocs on la disponibilitat d'oxigen estigui limitada com ara els fons marins o les capes profundes de les platges poden suposar que la biodegradació sigui pràcticament inexistència i per tant en aquests llocs el fuel sigui molt persistent.

Un altre factor important és la presència de nutrients. A què ens referim quan parlem de nutrients? Com hem dit abans, els microorganismes usen els hidrocarburs per créixer i per tant per produir noves cèl·lules. Ara bé, els hidrocarburs només tenen carbó i hidrogen i les cèl·lules dels microorganismes estan formades per aquests elements i d'altres, entre els quals destaquen, per les seves proporcions, el nitrogen i el fòsfor, ja que formen part de moltes macromolècules de les cèl·lules. Aquests elements són els nutrients. En el cas d'una marea negra, l'abocament de carbó i hidrogen sol ser tan gran que

les petites quantitats de nitrogen i fòsfor presents al mar i les sorres solen ser insuficients. En aquest cas, encara que els microorganismes presents estiguin capacitats per degradar els hidrocarburs es produirà una limitació per la no-disponibilitat de nutrients.

Una vegada hem vist els condicionants més importants de la biodegradació microbiana d'hidrocarburs, podem predir amb un cert grau de certesa la biodegradabilitat i la persistència del fuel del *Prestige* als diferents llocs on encara està present, i si pot ser accelerada?. La resposta és afirmativa i constitueix la base de la biotecnologia anomenada bioremediació. Existeixen diferents estratègies. Una estratègia està basada en l'estimulació de les poblacions microbianes ja existents (bioestimulació) i l'altra està basada en la sembra de microorganismes obtinguts al laboratori (bioaugment). En el cas d'una marea negra, l'estratègia més adequada és la bioestimulació. Les experiències de bioaugment dutes a terme fins a l'actualitat no s'han mostrat eficients.

I com podem estimular els microorganismes que ja existeixen al mar o a la

costa, ja sigui a les sorres o a les roques? Si fem un repàs als diferents paràmetres, temperatura, oxigen i nutrients, que condicionen la biodegradació microbiana d'hidrocarburs, podem deduir que serà a través d'un augment de la disponibilitat d'oxigen, sempre que sigui possible, i de l'addició de nutrients, nitrogen i fòsfor, la manera més plausible d'estimular aquests microorganismes, ja que un augment de la temperatura és impracticable.

Cal remarcar que quan es parla de fer aquestes actuacions, ens referim a la zona costanera i no a mar obert. De fet, en l'actualitat disposem de moltes experiències descrites en la literatura científica que ens permeten actuar amb molta més seguretat. Entre aquestes destaca el projecte de bioremediació portat a terme en el vessament del *Exxon Valdez* a Alaska. En aquella catàstrofe es va mostrar molt eficaç l'ús de nutrients oleofílics. Aquests productes, a diferència dels nutrients hidròfils, es situen en la interfase hidrocarburi-aigua afavorint un millor aprofitament per part dels microorganismes.

En el cas del *Prestige*, en aquelles zones que el vessament no s'hagi pogut eliminar d'una manera física, aquesta és l'actuació que hem proposat i de la qual, en el moment d'escriure aquest article, encara estem pendents d'obtenir els permisos necessaris. No obstant, únicament accelerarem el procés natural que com hem vist, donada la composició del fuel, suposarà una biodegradació parcial. Per tant, els científics ens sentim molt impotents davant d'aquestes catàstrofes. Ara bé, malgrat aquesta impotència, el que sí que ens toca és convertir-nos en els relators fidedignes del que ha succeït i del que haurà suposat aquest succés. En aquest sentit, són molts els grups de científics de diferents disciplines que estem estudiant els efectes d'aquesta catàstrofe en l'àmbit ecològic, econòmic i social des que es va produir el vessament del *Prestige*. Aquesta ha de ser la nostra aportació, i esperem que pugui servir als governs implicats perquè regulin les mesures necessàries i no es torni a produir una catàstrofe d'aquesta magnitud.

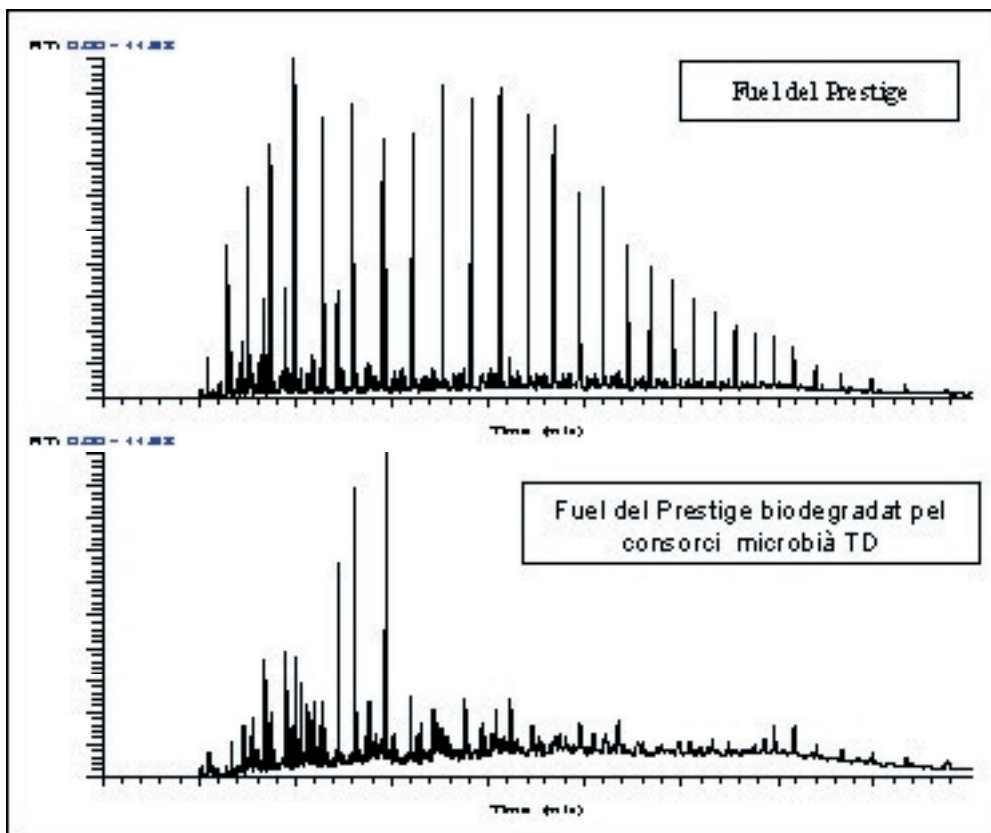


Figura 5.2. Biodegradació del fuel del Prestige pel consorci microbià TD.