



# Seguimiento químico del proceso de auto-bio-recuperación de entornos contaminados por vertidos de petróleo y/o derivados (\*)

HÉCTOR ARGÜELLES

Departamento de Química, Física y Química Analítica.  
Facultad de Química. Universidad de Oviedo

## SUMARIO

*En el presente estudio se ha llevado a cabo la optimización de los métodos de análisis necesarios para el control rutinario de nutrientes (nitrógeno, fósforo) y contaminantes (PAHs), así como de otros parámetros físico-químicos (pH, temperatura, conductividad, etc.) en entornos contaminados por vertidos de petróleo. Se hace especial hincapié en el proceso de la toma de muestras, conservación de las mismas, tratamientos previos y análisis final. Los resultados obtenidos indican la necesidad de ampliar los estudios a largo plazo con objeto de disponer de una base de datos, de enorme importancia con vistas a diseñar las estrategias más adecuadas de bioestimulación y/o bioadición del entorno cuando se den situaciones como la padecida en las costas del norte peninsular por los vertidos del buque «Prestige».*

**Palabras clave:** Biorrecuperación, nutrientes, PAH, bioadición, bioestimulación, análisis químico.

## INTRODUCCIÓN

Los derrames de vertidos de petróleo, combustibles, gasolinas y otros compuestos poco solubles o insolubles en agua es una noticia que desafortunadamente es frecuente en la época en que vivimos. Así, en 1989 el petrolero «Exxon Valdez» derramó en Alaska 37.000 toneladas de petróleo; los problemas generados por los vertidos durante la Guerra del Golfo en 1991, debidos a la baja dispersión del aceite como resultado de la estrecha conexión con el océano Índico; el derrame del «Nakhodka» en 1997, de 6.200 kl de gasóleo en aguas japonesas, y en estos últimos meses el del buque «Prestige», que continúa liberando petróleo en la costa de Galicia, son ejemplos recientes de este tipo de desastres ecológicos.

(\*) Este artículo es el resumen del trabajo presentado a la Fundación MAPFRE como resultado final de la investigación desarrollada durante el año 2003 a raíz de la beca concedida por la Fundación Mapfre en la Convocatoria 2002/2003.

Las estrategias más adecuadas para la limpieza y recogida de vertidos de este tipo dependen de varios factores, tales como: tipo de derrame, características del lugar y, ocasionalmente, consideraciones de tipo político. Existen varias tecnologías y estrategias para el control de derrames en medios marinos y acuáticos. Los más utilizados/adecuados para zonas costeras y mar son:

### Métodos físicos

La recuperación física de la gran masa de material es la opción primaria. El impacto ambiental de este método es mínimo si se lleva a cabo de forma adecuada.

### Métodos químicos

Su efectividad no está totalmente contrastada y supone la introducción de otros materiales que tienen a su vez un reconocido efecto medioambiental. Entre estos métodos están el empleo de detergentes, de agentes solidificantes y de sustancias formadoras de películas superficiales que impiden que el vertido se adhiera a las rocas.

### Métodos naturales

En esta opción no se introduce ninguna modificación (o, al menos, mínima) en el medio y puede llevarse a cabo por: evaporación (de los componentes más volátiles), fotooxidación (gracias a la acción del oxígeno y la luz solar determinados compuestos complejos pueden degradarse) y biorrecuperación. La biorrecuperación es una vía especialmente interesante, pues varios tipos de microorganismos son capaces de oxidar los hidrocarburos presentes en el petróleo, en particular los componentes no volátiles. Entre estos microorganismos están: *achromobacter*, *acinetobacter*, *alcligenes*, *bacillus*, *cornyobacterium*, *flavobacterium*, *psudimonas*, *vibrio*, *aspergiullus*, *candida*, *cladosporium*, *penicilliu*, *rhodotrolula*, *sporobolomyces*, *trichoderma*.

Aunque los métodos convencionales, tales como los físicos, son la primera opción de trabajo para eliminar masas grandes, no es posible recuperar más de un 10-15 por ciento del vertido total. Por ello, entre los procesos naturales, la biorrecuperación es una de las vías más prometedoras que se están considerando para la recuperación de entornos petrolados. Es una tecnología «verde», no intrusi-



El derrame del buque *Prestige*, en la costa de Galicia, es un ejemplo de este tipo de desastres ecológicos.

va ni disruptiva. La biorrecuperación se puede definir como el conjunto de acciones encaminadas a favorecer la aceleración del proceso de biodegradación natural de los contaminantes presentes en un entorno. El éxito del proceso depende de nuestra capacidad para establecer y mantener las condiciones que favorezcan la velocidad del proceso de biodegradación. En este sentido se pueden considerar dos vías:

– **Bioadición.** Mediante la cual se incorporan bacterias que degradan hidrocarburos para suplementar la población bacteriana ya existente.

– **Bioestimulación.** Mediante la cual se estimula el crecimiento de la población bacteriana por adición de nutrientes u otros cosustratos que limiten su crecimiento y/o por alteración de las condiciones (aporte de oxígeno por plantas, por ejemplo).

Con objeto de demostrar que está teniendo lugar la biorrecuperación de un entorno es preciso comprobar que tanto la población microbiana como la química de ese entorno se están modificando de forma adecuada. Las condiciones ambientales, en particular la concentración de nutrientes y de algunos componentes del vertido, son algunos de los factores que deben ser evaluados continuamente. En este trabajo hemos abordado el seguimiento de diversos nutrientes, de hidrocarburos aromáticos y de parámetros físico-químicos en una zona de la costa asturiana afectada por llegadas del fuel vertido por el buque *Prestige*. Se establecieron las correspondientes metodologías analíticas, tanto para muestras de agua como de arena y se

diseñó un patrón de muestreo analítico. Los análisis se llevaron a cabo a partir del mes de septiembre de 2003, ya que desde ese momento sólo debería permanecer el vertido residual y empieza a ser evaluable la biorrecuperación.

## DESARROLLO DE LA METODOLOGÍA ANALÍTICA

### Análisis de nutrientes

Dado que el aporte de carbono a los microorganismos presentes en el entorno es elevado en un problema como es el derrame de fuel, los nutrientes (nitrógeno y fósforo) son los limitantes de la efectividad de los microorganismos para continuar el proceso de biorrecuperación. Por ello, la concentración de los mismos es crítica para desarrollar las estrategias más adecuadas para su mantenimiento gracias a la adición de un compuesto adecuado (p.e. un fertilizante de liberación lenta). Entre los nutrientes que se controlaron están: nitratos, nitritos y fósforo.

Para realizar el seguimiento de los parámetros químicos que toman parte en el proceso de biorrecuperación es preciso contar con métodos de análisis rápidos, robustos, fiables y con suficiente sensibilidad y selectividad. Los métodos de análisis seleccionados fueron:

### Nitritos

Los nitritos se determinaron usando el «Método de Griess», el cual se basa en la reacción entre la sulfanilami-

da y el nitrito para dar un diazocompuesto, que posteriormente reacciona con una amina aromática, el cloruro de N-[1-naftil]etilendiamonio, con lo que se forma un compuesto coloreado que presenta un máximo de absorción a 540 nm. La automatización de este método consistió en acoplarlo a un sistema de análisis por inyección en flujo (sistema FIA), ajustando los parámetros necesarios para obtener la máxima sensibilidad posible, tales como: velocidad de la bomba propulsora, flujo de reactivos, longitud del bucle de reacción, volumen del bucle de inyección, paso óptico óptimo de la celdilla de flujo y longitud de onda de máxima absorción (ligeramente variable según el equipo). En la figura 1 se muestra un esquema básico de un sistema FIA. En la figura 2 se muestra el sistema FIA utilizado en este estudio. Este tipo de sistemas ofrece señales transientes en forma de picos de intensidad de señal, de los que un ejemplo se muestra en la figura 3. El método de análisis optimizado presenta unas excelentes características analíticas para la determinación de nitritos en aguas.

TABLA 1.

Compuesto	Rango lineal (ppb)
Antraceno	5-150
Dibenzotiofeno	50-500
Fluoranteno	10-500
Naftaleno	5-500
Pireno	1-300

### Nitratos

Los nitratos son analizables también por el «Método de Griess», previa reducción a nitritos. Esto puede lograrse mediante el empleo de una columna de cadmio cuperizado (Cd/Cu) a través de la cual se hace pasar la muestra de modo que los nitratos se reducen a nitritos y se determinan junto con éstos. La diferencia de concentración que haya con respecto al análisis directo de los nitritos corresponderá a la de nitratos. Las características analíticas son las mismas que para los nitritos al determinarse por el mismo método. Las características analíticas del método son las mismas que para los nitritos al tratarse del mismo método.

### Fosfatos

Los fosfatos se determinaron mediante el «Método del ácido ascórbico».

FIGURA 1. Componentes básicos de un sistema de análisis por inyección en flujo.

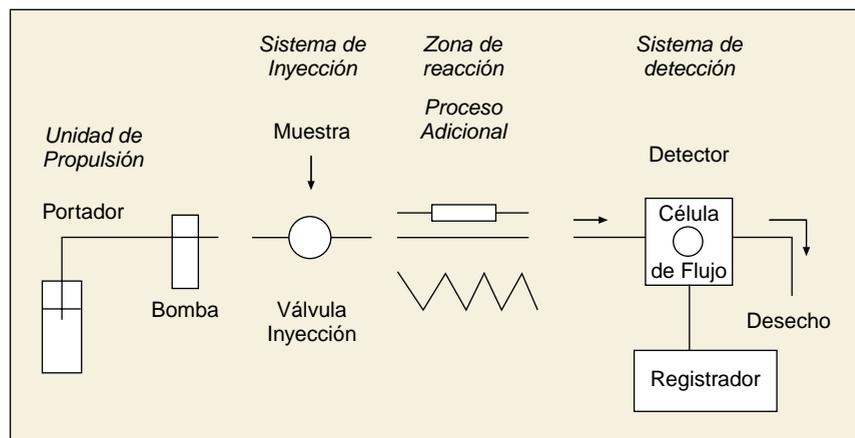


FIGURA 2. La Fase A contiene los reactivos para el desarrollo de color en medio ácido, y la Fase B, cloruro amónico para regular la acidez tras la mezcla con la Fase A y AEDT, que actúa como agente enmascarante.

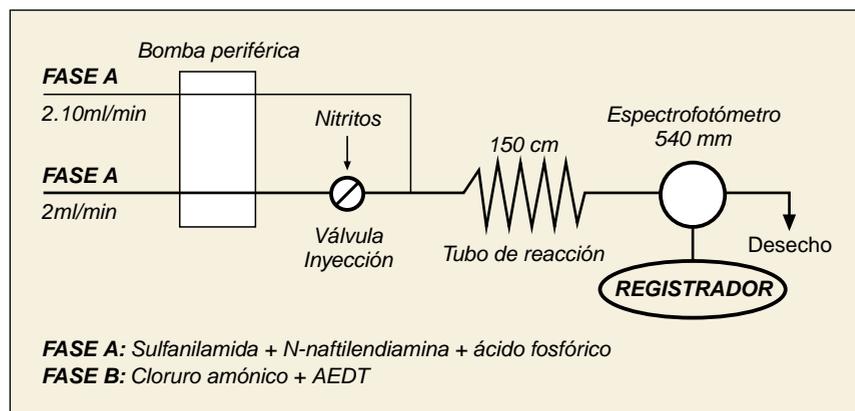
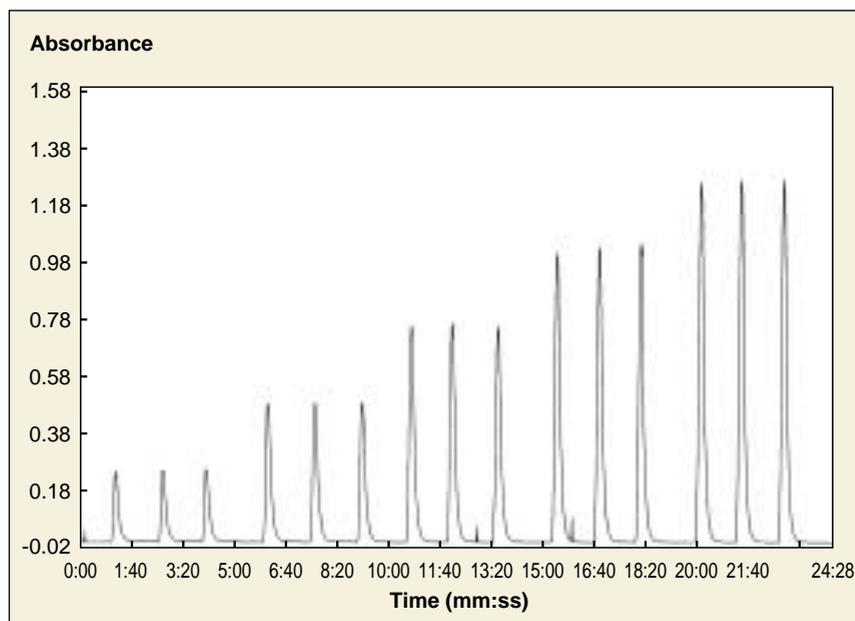


FIGURA 3. Diagrama correspondiente a un calibrado de nitritos, cada punto por triplicado.

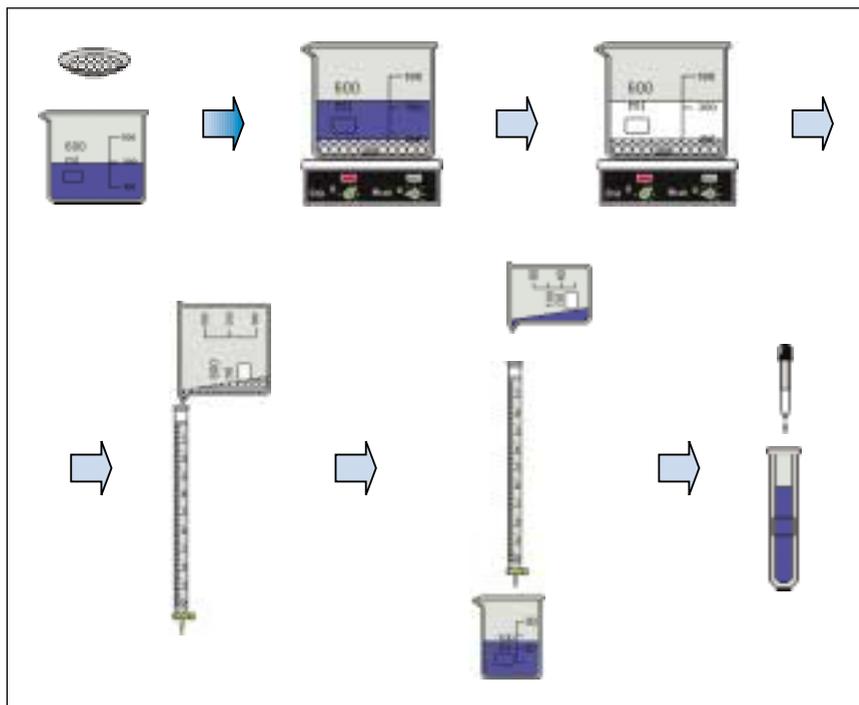


co» el cual se basa en la reacción del fosfato con el molibdato en medio ácido con formación del ácido fosfomolibdico y la posterior reducción de éste con el ácido ascórbico a azul de molibdeno. El espectro de absorción del azul de molibdeno presenta una banda de máxima absorción entre 820 y 825 nm. Dado que la adaptación de este método de análisis a un sistema por inyección en flujo deterioraba la sensibilidad del mismo, se consideró conveniente emplear el sistema en discontinuo para analizar las muestras medioambientales. Este método de análisis tiene unas excelentes características analíticas (1), adecuadas para las muestras de interés

**FIGURA 4. Izquierda, equipo FIA empleado. Derecha, detalle del espectrofotómetro del equipo.**



**FIGURA 5. Proceso de preparación, empaquetamiento y limpieza de la columna reductora de Cd/Cu.**



**TABLA 2. Evolución de los niveles de nitritos en suelo y agua de mar.**

N.º muestreo	NITRITOS	
	Nivel	
	Suelo (ppb)	Agua (ppb)
1	123 ± 18	<15
2	176 ± 4	<15
3	179 ± 6	<15
4	136 ± 3	17,9 ± 0,7
5	114 ± 3	22 ± 1
6	125 ± 7	20 ± 1

**FIGURA 6. Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 900 UV/VIS/NIR empleado en el análisis de los fosfatos.**



### Análisis químico de hidrocarburos policíclicos (PAHs)

Es un hecho bien conocido que los hidrocarburos aromáticos son agentes xenobióticos tóxicos para muchos microorganismos debido a que se di-

suelven en las membranas celulares. No obstante, a muy bajos niveles de concentración son fácilmente biodegradables en condiciones aeróbicas. Las técnicas más comunes para llevar a cabo el análisis de estos compuestos son cromatográficas, bien de gases (GC), bien de líquidos (HPLC); sin embargo, están limitadas, además de por su alto coste, por la labilidad térmica de algunos PAHs (CG) y por la necesidad habitual de una derivatización previa de los analitos (HPLC). Esto hace que estas técnicas no sean del todo adecuadas para el análisis rutinario, como sería el que se pretende llevar a cabo. En este proyecto

se realizó el seguimiento de los siguientes PAHs: naftaleno, fluorante-no, dibenzotiofeno, antraceno y pireno, así como el nivel de PAHs totales. El seguimiento de estos compuestos se llevó a cabo por técnicas fluorescentes y selectivas. Trabajos recientes (2) han demostrado que puede llevarse a cabo la resolución y cuantificación de mezclas más o menos complejas de PAHs mediante métodos fluorimétricos sincrónicos, que se basan en la medida de la intensidad, tanto de la mezcla (muestra) como de disoluciones patrón de los compuestos a determinar en las condiciones óptimas de medida de cada uno de ellos, obteniendo así un sistema de  $n$  ecuaciones con  $n$  incógnitas que permite encontrar los coeficientes que, multi-

(1) R. MORO, M. L. ALV.-BARTOLOMÉ, M. T. FERNÁNDEZ y A. VARGAS, *Alimentaria*, 252 (abril 94) 53.

(2) Digambara PATRA y A. K. MISHRA, *Talanta*, 55 (2001), 143-153.

plificados por la concentración de la disolución patrón, dan como resultado la concentración del compuesto en la mezcla (muestra). Este método tiene como ventaja su sencillez y bajo coste, no necesitar de tratamientos previos de la muestra (separación previa de los componentes) y la disminución del número de medidas a realizar. No obstante, con el fin de asegurar que los valores obtenidos mediante este método sean fiables, se determinan también los hidrocarburos totales mediante una extracción líquido-líquido con diclorometano y posterior medida de la fluorescencia del extracto recompuesto en hexano, usando como patrón el criseno, presente en todos los crudos en una proporción constante. Este método se basa en el descrito por Keizer y Gordon en *J. Fish. Res. Bd. Canada*, **30**: 1039, 1973, y es el recomendado en «Timothy R. Parsons, Yoshiaki Maita, Capol M. Lalli: *A Manual of Chemical and Biological Methods for Seawater Analysis*. Pergamon Press (1984)». Las características analíticas de estos métodos se muestran en las Tablas 3 y 4.

**TABLA 3. Evolución de los niveles de nitratos en suelo y agua de mar.**

N.º muestreo	NITRATOS	
	Nivel	
	Suelo (ppb)	Agua (ppb)
1	365 ± 66	61,46 ± 0
2	0 ± 29	37,7 ± 0,9
3	133 ± 59	212 ± 3
4	791 ± 29	204 ± 1
5	133 ± 27	128 ± 3
6	116 ± 23	170 ± 2

### O<sub>2</sub>

El oxígeno disuelto disponible es fundamental para una rápida recuperación del medio, ya que la biodegradación de los hidrocarburos es un proceso aeróbico. Este nutriente se determina *in situ* mediante el empleo de un sistema comercial, el electrodo selectivo de oxígeno o electrodo de Clark, el cual se calibra en el momento de la medida. El mismo equipo tie-

**TABLA 4. Evolución de los niveles de fosfatos en suelo y agua de mar.**

N.º muestreo	FOSFATOS	
	Nivel	
	Suelo (ppb)	Agua (ppb)
1	131 ± 12	24 ± 3
2	164 ± 32	17 ± 2
3	160 ± 15	53 ± 3
4	135 ± 25	29 ± 2
5	113 ± 13	30 ± 2
6	131 ± 31	24 ± 2

metro en aguas se lleva a cabo en el laboratorio utilizando un electrodo de vidrio calibrado entre pH 7 y pH 9.

### Conductividad

La salinidad se mide indirectamente, bien por conductividad o por densidad. Para medidas en campo lo más adecuado es la medida por conductividad. Este parámetro también se determina *in situ* utilizando un conductímetro portátil. Con el valor de la conductividad y la temperatura del agua (valor que también ofrece el conductímetro) se determina la salinidad del agua.

**FIGURA 7. Fluorímetro Perkin Elmer LS-50B empleado en el análisis de los PAHs.**



### Seguimiento de las condiciones generales del entorno

Dentro de los parámetros que es preciso evaluar en el seguimiento del proceso de biorrecuperación están el oxígeno disuelto, el pH, la salinidad y la temperatura.

ne en cuenta la corrección de la salinidad y de la temperatura.

### pH

El pH también es importante, ya que un pH bajo puede inhibir o minimizar de forma importante el proceso de biodegradación. La medida de este pará-

### MUESTREO

Puesto que los análisis de los diferentes nutrientes y PAHs va a llevarse a cabo en el laboratorio, es preciso hacer una recogida adecuada de muestra (sedimentos, arena, aguas) en recipientes especiales y a baja temperatura. La toma de muestras tanto de suelo como de agua, se hizo de acuerdo a las normas de la EPA (US Environmental Protection Agency), que establecen lo siguiente:

#### PAHs

Para 1 l de muestra, 0,5 ml 20 por ciento Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>, conservados a 4 °C y a pH<2 en botella de cristal cobalto. Conservar máximo siete días antes de la extracción y cuarenta días tras la extracción, a 4 °C y en la oscuridad (EPA 550.1).

#### Nitratos

Recipientes de plástico o vidrio, conservados a 4 °C un máximo de veintiocho días (EPA 300.0).

#### Nitritos

Recipientes de plástico o vidrio, conservados a 4 °C un máximo de cuarenta y ocho horas (EPA 300.0).

**FIGURA 8.** Arriba, esquema de la toma de muestras; abajo, izquierda, zona de la playa de Rodiles, muestreada y abajo, derecha, marcaje y toma real de muestras de suelo.



### Fosfatos

Recipientes de vidrio, conservados a 4 °C un máximo de cuarenta y ocho horas, filtrar inmediatamente (EPA 300.0).

Con objeto de poder hacer una sola toma de muestra de agua se eligió el recipiente de vidrio, pues es el adecuado para los fosfatos según esta normativa y está permitido para el resto. Las muestras de suelo no sufrieron ningún tratamiento químico para su conservación, excepto que se conservaron también a 4 °C. Para no romper esa cadena de frío, las muestras fueron transportadas desde el momento de su toma en una nevera portátil hasta su llegada al laboratorio, donde se conservaron en nevera.

Dado que los puntos contaminados son muy heterogéneos, un muestreo representativo es difícil de llevar a cabo. En este trabajo se llevó a cabo un muestreo estratificado, dividiendo la zona de muestreo en un número de sectores o cuadrantes iguales y tomando muestras independientes en cada sector, de acuerdo a la regla de proporcionalidad (más muestras en zonas más contaminadas). Las muestras independientes recogidas se reúnen en una única muestra, lo que tiene la ventaja de una mayor exactitud (un gran número de toma de muestras por muestra). En el muestreo también es importante la profundidad. Dado que un crudo raramente penetra más de 3 cm en sedimentos, la toma de

muestra se hizo con una profundidad de 5 cm como medida de seguridad.

El lugar seleccionado para la toma de muestras fue la Playa de Rodiles, en Villaviciosa Asturias, lugar donde se tenía evidencia de la llegada de fuel por visitas previas a la playa, por la presencia casi continuada de operarios de recogida de restos de chapote y por noticias parecidas en los periódicos locales (3), (4) y (5). El muestreo estratificado se llevó a cabo controlando 5 m<sup>2</sup> de playa, con el plan de muestreo que a continuación se esquematiza.

La frecuencia de muestreo fue de 1-2 muestras a la semana.

## ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS

### Tratamientos previos

Las muestras de agua no se someten a ningún tratamiento previo, excepto un filtrado con un filtro de PVDF de 0,45 micras para eliminar materia en suspensión. Por su parte, las muestras de suelo requieren un tratamiento previo de extracción sólido-líquido. En la bibliografía consultada aparece una gran cantidad de disolventes para extraer los analitos deseados de la muestra. De todos estos métodos se ensayaron dos de los más generales, dada la necesidad de extraer varios analitos a la vez. Estos métodos fueron:

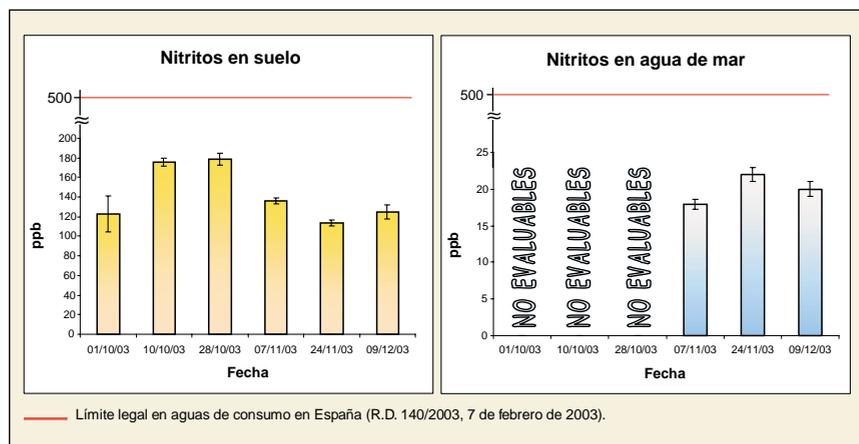
- *Extractante ácido acético 2,5% v/v.* 25 g de suelo por 50 mL de solución extractante, agitación durante 1 hora. Este método tuvo que ser desechado pues el ácido acético interfería el análisis de los fosfatos mediante el método propuesto del Azul de Molibdeno.

- *Extractante agua Mili-Q (agua destilada y desionizada).* 25 g de suelo por 50 mL de agua, agitación durante 1 hora. Según la bibliografía consultada, mediante este método se extrae el fósforo disponible para las plantas y, en nuestro caso, resultó ser el más adecuado.

### Resultados de los análisis

Los resultados de los análisis de las muestras se recogen en las Tablas 5 a

**FIGURA 9.** Evolución de los niveles de nitritos en suelo y agua de mar.



11 y se han representado gráficamente en las figuras 11 a 19. Es importante señalar que las concentraciones encontradas de nitritos por debajo del L.C. (límite de cuantificación) de 15 ppb no se muestran en las correspon-

(3) *La Voz de Asturias*: «Enormes manchas anegan el puerto pesquero de Tazones», noticia del 07/12/2002.

(4) *La Voz de Asturias*: «La presencia de fuel en el litoral cantábrico supera a la de Galicia», noticia del 03/07/2003.

(5) *La Voz de Asturias*: «Peligra la bandera azul del arenal de Rodiles», noticia del 16/04/2003.

dientes tablas de datos por no ser analíticamente significativas.

## DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

Como puede observarse en las Tablas 5 a 7 y en las figuras 11 a 13, en las muestras de agua los nitritos y los fosfatos parecen tener una evolución en el tiempo similar, así como los nitratos, si bien sería necesario prolongar estos estudios en trabajos posteriores para determinar si estas variaciones se deben a la biorrecuperación o a ciclos naturales, y si es así poder determinar si se está produciendo una variación en estos ciclos, o no, y a qué es debida.

FIGURA 10. Evolución de los niveles de nitratos en suelo y agua de mar.

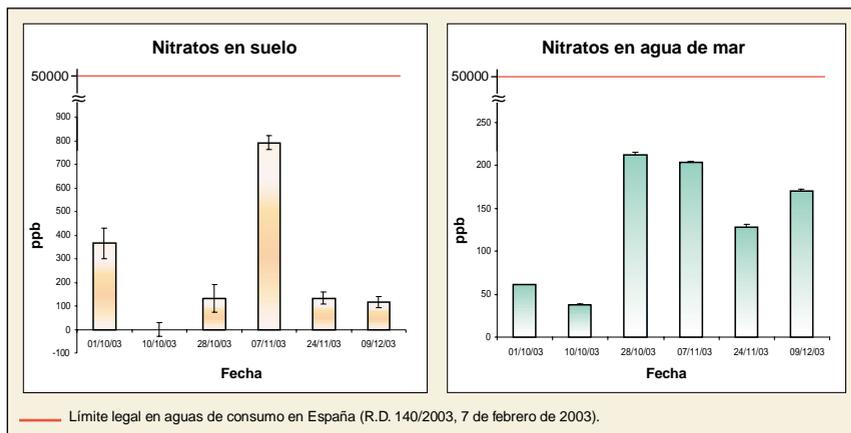


TABLA 5. Evolución de los niveles de los distintos PAHs en Suelo y Agua de mar.

N.º muestreo	NIVEL				
	Suelo (ppb)				
	Antraceno	Dibenzotiofeno	Fluoranteno	Naftaleno	Pireno
1	18,6 ± 0,4	362 ± 66	16 ± 3	13 ± 2	2,1 ± 0,4
2	3,1 ± 0,8	579 ± 130	12 ± 3	115 ± 26	35 ± 8
3	13 ± 6	58 ± 7	70 ± 12	79 ± 17	1,2 ± 0,6
4	7 ± 2	709 ± 50	55 ± 2	39 ± 16	2,5 ± 0,3
5	23 ± 6	482 ± 15	12 ± 9	85 ± 14	2,70 ± 0,07
6	5 ± 2	368 ± 120	78 ± 30	98 ± 18	1,3 ± 0,8
Agua (ppb)					
1	20 ± 8	139 ± 20	1,6 ± 0,5	20 ± 2	0,46 ± 0,09
2	35 ± 21	272 ± 59	23 ± 11	15 ± 2	17 ± 3
3	6 ± 2	145 ± 17	2,6 ± 0,8	15 ± 9	0,7 ± 0,3
4	11 ± 2	372 ± 27	39 ± 1	56 ± 6	0,2 ± 0,1
5	9 ± 3	190 ± 23	6 ± 5	28 ± 16	1,8 ± 0,2
6	7 ± 3	315 ± 54	13 ± 6	130 ± 11	1,1 ± 0,3

TABLA 6. Evolución de los niveles de hidrocarburos totales en agua de mar (expresados como equivalentes de Criseno).

Fecha	Hidrocarburos totales en agua expresadas como Criseno	
	Nivel	Desv. Est.
01/10/03	—	± —
10/10/03	0,4	± 0,2
28/10/03	0,39	± 0,06
07/11/03	1,1	± 0,6
24/11/03	0,3	± 0,2
09/12/03	0,14	± 0,04

TABLA 7. Evolución de los niveles de oxígeno en agua de mar.

OXÍGENO		
Fecha	Nº muestreo	Nivel (mg/L)
01/10/03	1	7,87
10/10/03	2	10,88
28/10/03	3	8,41
07/11/03	4	9,66
24/11/03	5	8,31
09/12/03	6	9,13

TABLA 8. Evolución de temperaturas: ambiental y del agua de mar.

Fecha	Temperatura Ambiental (°C)	Temperatura Agua (°C)
01/10/03	25,3	17,3
10/10/03	23,2	17
28/10/03	14,1	13,3
07/11/03	21,6	14,9
24/11/03	13,5	14
09/12/03	18,4	13,6

TABLA 9.

Fecha	Salinidad (g/l)	pH
01/10/03	—	—
10/10/03	—	—
28/10/03	—	—
07/11/03	—	—
24/11/03	33,1	7,69
09/12/03	33,3	8,06

TABLA 10. Evolución de la humedad: ambiental y del suelo.

Fecha	Humedad amb. (%)	Humedad suelo*
01/10/03	47	94,4 ± 0,5
10/10/03	47	47 ± 5
28/10/03	77	138 ± 2
07/11/03	51	68,8 ± 0,5
24/11/03	66	122 ± 3
09/12/03	48	175 ± 2

En cuanto a los nitratos en suelo, parece que su evolución no sigue el mismo patrón que los otros nutrientes; como en el caso anterior, sería muy interesante poder prolongar estos estudios para determinar los ciclos naturales y la variación en los mismos. Es

conveniente mencionar que, hasta ahora, los niveles de nitratos, nitritos y fosfatos nunca han sobrepasado los niveles legales según el Real Decreto 140/2003, del 7 de febrero de 2003, que regula los niveles de contaminantes en aguas de consumo humano ( $\text{NO}_3^-$ : 50 mg/l ó ppm,  $\text{NO}_2^-$ : 0,5 mg/l ó ppm y  $\text{PO}_4^{3-}$ : 10 mg/l o ppm) y están dentro de lo que se considera normal en entornos marinos.

**TABLA 11. Niveles máximos permitidos en agua potable ( $\mu\text{g/l}$ )**

Drinking water Regulations (EC)	MAC(2) ( $\mu\text{g/l}$ )
PAHs, total 6 compuestos (1)	0,20
Benzo [a] pyrene	0,01

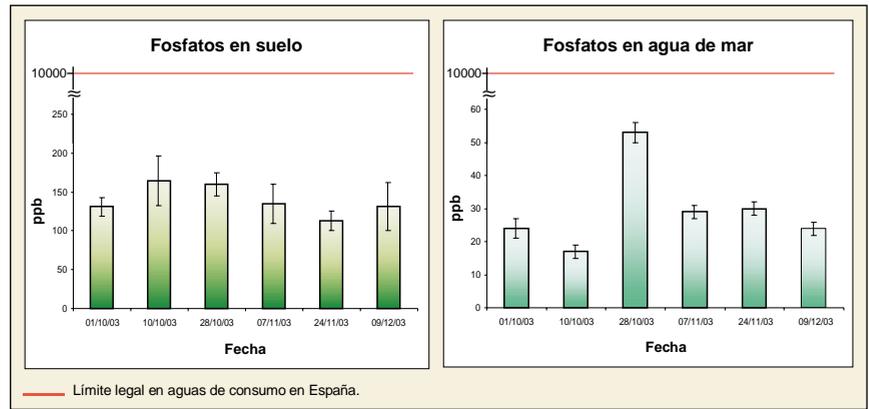
(1). Comp: fluoranteno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, benzo(ghi)perileno e indeno(1,2,3-cd)pireno.

(2). MAC: Concentración máxima admisible.

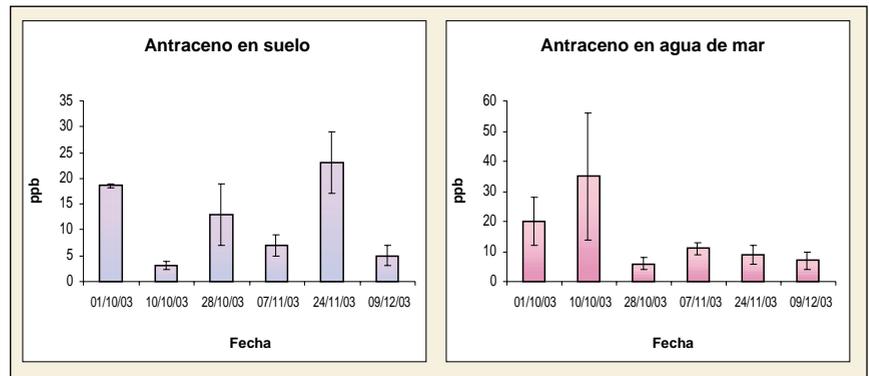
El nivel de fosfatos encontrado en el agua se encuentra por encima del rango habitual en muestras de agua fresca (referencia bibliográfica 9, pág. 343, Tabla 5.10), si bien hay que tener en cuenta que estos niveles dependen en gran medida de la zona que se trate y que a lo largo del año en el mar se producen dos afloraciones fitoplanctónicas que coinciden con la primavera y el otoño y que, por tanto, hacen disminuir los niveles de fosfato presentes en el medio, aumentando éstos en invierno y en verano (tanto en agua como en suelo). El nivel encontrado en suelo está dentro del rango habitual en ese tipo de extractos, según la citada referencia.

*La biorrecuperación es una de las vías más prometedoras que se están considerando para la recuperación de entornos petrolados. Es una tecnología verde, no intrusiva ni disruptiva.*

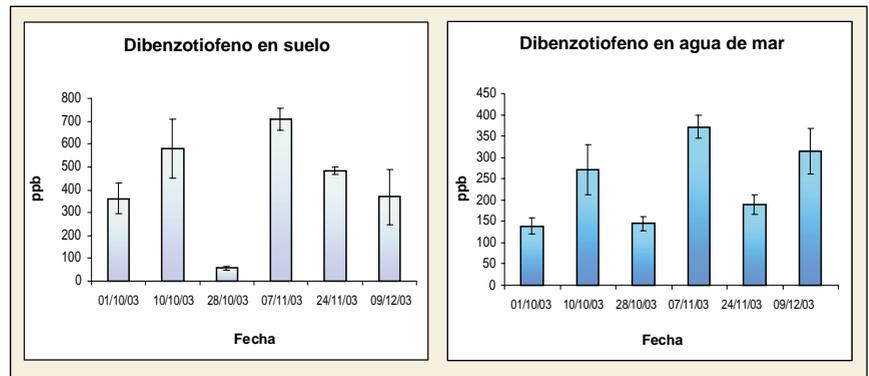
**FIGURA 11. Evolución de los niveles de fosfatos en suelo y agua de mar.**



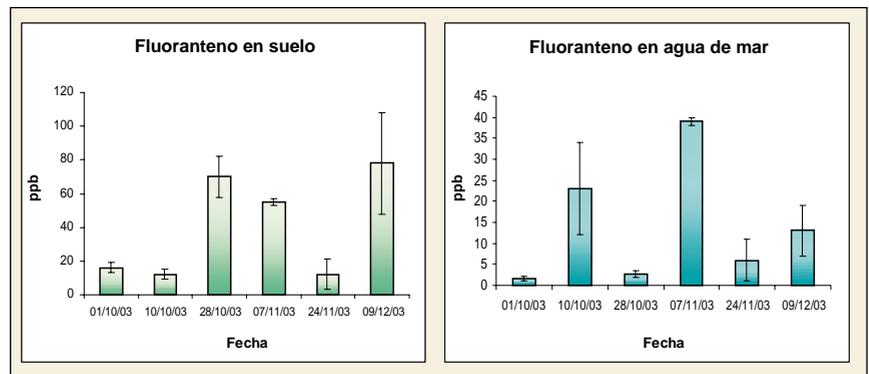
**FIGURA 12. Evolución de los niveles de antraceno en suelo y agua de mar.**



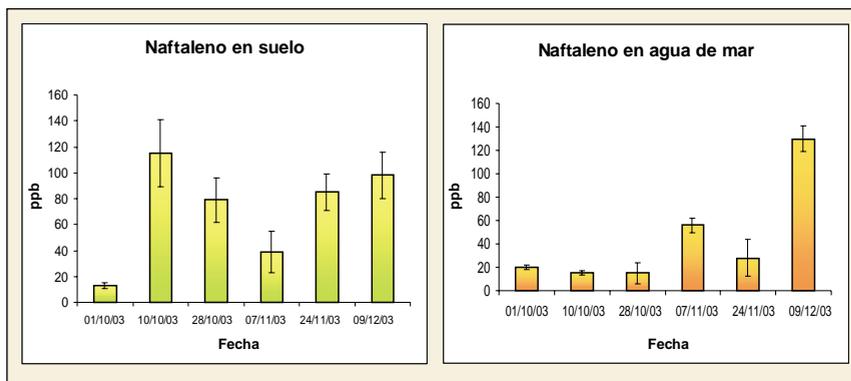
**FIGURA 13. Evolución de los niveles de dibenzotiofeno en suelo y agua de mar.**



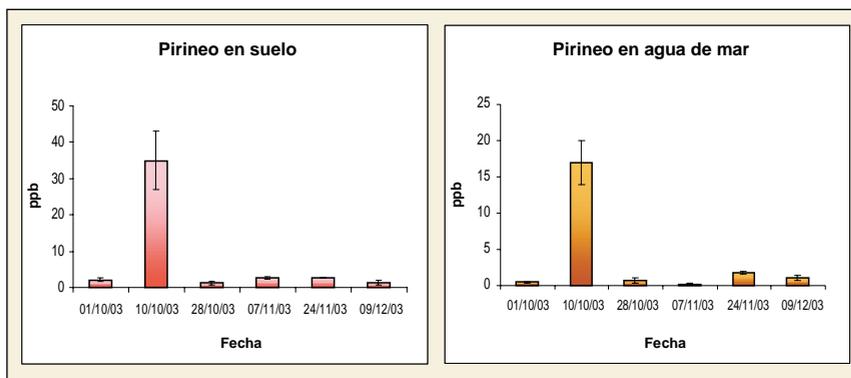
**FIGURA 14. Evolución de los niveles de fluoranteno en suelo y agua de mar.**



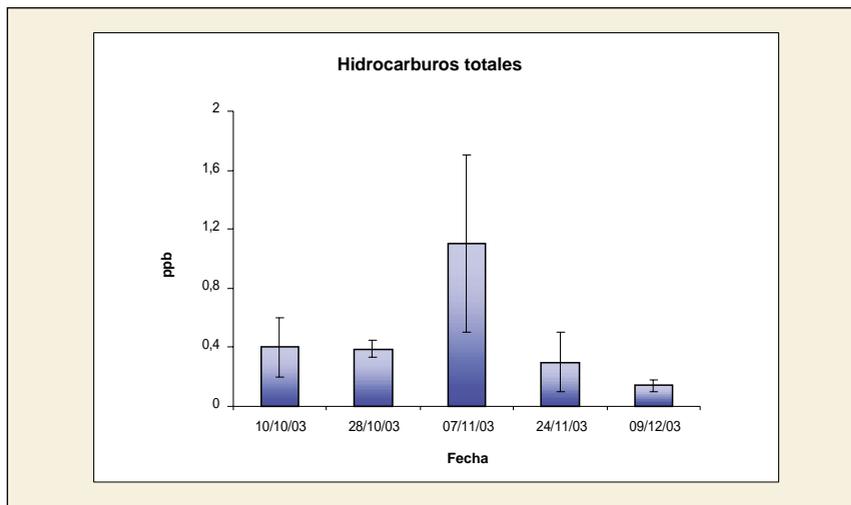
**FIGURA 15. Evolución de los niveles de naftaleno en suelo y agua de mar.**



**FIGURA 16. Evolución de los niveles de pireno en suelo y agua de mar.**



**FIGURA 17. Evolución de los niveles de hidrocarburos totales en agua de mar (expresados en equivalentes de criseno).**



En cuanto a los hidrocarburos, podemos decir que el método basado en la fluorescencia sincrónica parece estar ofreciendo datos que se contradicen con el método de los hidrocarburos totales, aun cuando las cantidades encontradas de cada hidrocarburo se transforman en criseno para poder hacer la comparación. Con objeto

de arrojar luz sobre este hecho, se realizaron estudios de fluorescencia convencional y sincrónica de los PAHs seleccionados, y los resultados preliminares parecen indicar que existe algún tipo de interacción entre los estados excitados de los compuestos (transferencia de energía, transferencia electrónica, etc.) que modifica la respuesta

analítica por fluorescencia sincrónica. La dilucidación de estos hechos se encuentra en vías de estudio.

Considerando los datos obtenidos por el método de los hidrocarburos totales, cabe destacar que los valores anormalmente altos en tomas puntuales pueden ser debidos a vertidos procedentes no sólo del «Prestige», sino de otros buques que circulen por la zona o a escapes/vertidos debidos a embarcaciones de recreo. Este hecho se comenta en el Informe 24 del Instituto Español de Oceanografía (Ministerio de Ciencia y Tecnología), cuyos resultados fueron expuestos en comunicación oral (ORAL-2) en el VIII ISAMEF/SEQA 2003, organizado por la Universidad de La Coruña del 21 al 24 de octubre de 2003. En esta comunicación se comenta que la costa asturiana quedó poco afectada en comparación con las costas gallegas, como así hemos constatado con nuestros resultados de hidrocarburos totales, mucho menores que los que se indican en el citado informe. Se señaló también que, tras identificar el origen del fuel por CG, el encontrado en las costas de Gijón (donde había un ligero aumento con respecto a las zonas cercanas) no provenía, del «Prestige» sino que en su mayor parte estaba originado por otras causas, probablemente a la elevada actividad portuaria de la zona.

*Para realizar el seguimiento de los parámetros químicos que toman parte en el proceso de biorrecuperación es preciso contar con métodos de análisis rápidos, robustos, fiables y con suficiente sensibilidad y selectividad.*

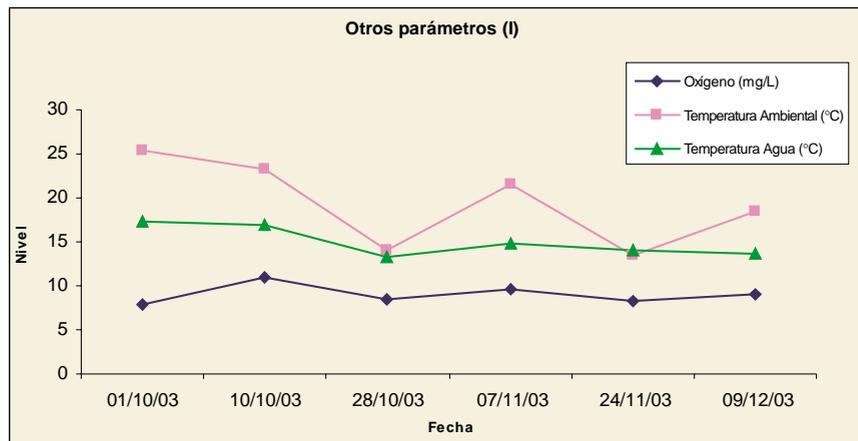
Considerando los datos obtenidos por el método de los hidrocarburos totales, la legislación no nos permite comparar, pues establece como límite máximo en la misma fuente 0,10 µg/l o ppb de PAHs (suma de benzo(b) fluoranteno, benzo(ghi)perileno, benzo(k)fluoranteno e Indeno(1,2,3-cd)pireno. Dentro de la legislación europea aparecen niveles máximos para la suma total de fluoranteno, benzo(b) fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, benzo(ghi)perileno e indeno(1,2,3-cd)pireno, y de manera individual los niveles de benzo(a)pireno, considerado el más tóxico y que aparece como contaminante cancerígeno de tipo A en la lista de contaminantes prioritarios de la EPA.

La evolución que muestra el oxígeno es la que podría esperarse en un principio, dado que la toma de muestra se hizo a nivel superficial (un m de profundidad) y sus niveles están dentro de la normalidad. El pH y la salinidad muestran también valores normales para este tipo de entorno (aguas marinas superficiales).

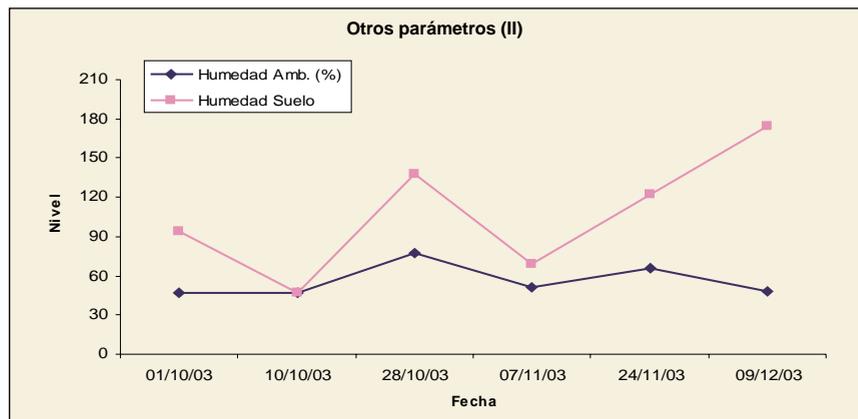
## CONCLUSIÓN

Como resultado del trabajo desarrollado en este estudio, se puede concluir que se han optimizado los métodos de análisis rutinario, necesarios para el control analítico de los nutrientes limitantes más importantes involucrados en el proceso de biorrecuperación de entornos contaminados por

**FIGURA 18. Evolución de los niveles de oxígeno, temperatura ambiental y temperatura del agua.**



**FIGURA 19. Evolución de los niveles de humedad: ambiental y del suelo.**



*El buque petrolero Exxon Valdez derrama en Alaska 37.000 toneladas de petróleo.*

vertidos de petróleo y/o derivados. Estos métodos permiten hacer un seguimiento continuado, rutinario, rápido y fiable de la capacidad de recuperación de costas contaminadas. Por otra parte, los estudios encaminados a la optimización de un método de análisis rápido y sencillo de PAHs en muestras de aguas, arena o sedimentos por fluorescencia sincrónica demostraron que existe una importante interacción mutua entre los compuestos en estudio, lo que interfiere seriamente la medida analítica. La naturaleza de esta interacción y los mecanismos para corregirla están en vías de estudio. Finalmente, hay que señalar que los datos presentados hasta la fecha son limitados en número y puntos de muestreo, y sería sumamente interesante continuar el seguimiento de los mismos durante un período de tiempo considerablemente más largo, lo que nos permitiría disponer de una información más profunda sobre el comportamiento de auto-recuperación de nuestros litorales ante un problema de contaminación por vertidos de fuel.



Las estrategias más adecuadas para la limpieza y recogida de vertidos de este tipo dependen de varios factores, tales como el tipo de derrame, las características del lugar y, ocasionalmente, consideraciones de tipo político.

## BIBLIOGRAFÍA

- LEE K., *et al.*: «Bioaugmentation and biostimulation: a paradox between laboratory and field results», *Proceedings of International Oil Spill conference*. American Petroleum Institute. Washington DC. 1997.
- RISER-ROBERTS, E.: *Remediation of Petroleum Contaminated Soils: Biological, Physical and Chemical Processes*. Lewis Publishers/CRC Press. Boca Raton. FL. (1998).
- LEE K., *et al.*: «Effectiveness of bioremediation in reducing toxicity in oiled intertidal sediments», *Microbial Processes for Bioremediation*. Battelle Press. Columbus OH (1995).
- NERALLA S., *et al.* Microbial inoculants and fertilization for bioremediation of oil in wetlands. *Bioaugmentation for site remediation*. Battelle Press. Columbus (1995).
- RAMSTAD, S.: Bioremediation of oil-contaminated shorelines: effects of different nitrogen sources. *Applied Bioremediation of Petroleum Hydrocarbons*. Battelle Press. Columbus, (1995).
- R. PARSONS TIMOTHY, MAITA YOSHIKI, M. LALLI CAPOL.: *A Manual of Chemical and Biological Methods for Seawater Analysis*. Pergamon Press (1984).
- HAUSER BARBARA, A: *Drinking Water Chemistry, A Laboratory Manual*. Lewis Publishers/CRC Press Company. Boca Raton, Florida (2001).
- COBERTERA LAGUNA EUGENIO: *Edafología Aplicada*. Ediciones Cátedra S.A., 1983.
- RADOJEVIĆ MIROSLAV and N. BASHKIN VLADIMIR. *Practical Environmental Analysis*. Ed. The Royal Society of Chemistry, 1999.
- ANDRADES RODRÍGUEZ MARISOL: *Prácticas de edafología y climatología*. Ed. Universidad de La Rioja, Servicio de Publicaciones, 1996.
- PATRA DIGAMBARA, MISHRA A. K.: *Talanta* 55 (2001) 143-153.
- MORO R., ALV.-BARTOLOMÉ M. L., FERNÁNDEZ M. T., VARGAS A.: *Alimentaria* 252 (abril 94) 53.
- AMANDA J. LYDDY-MEANNEY, PETER S. ELLIS, PAUL J. WORSFOLD, EDWARD C. V. BUTLER, IAN D. MCKELVIE, *Talanta* 58 (2002) 1043-1053.
- ANDERSON L.: *Anal. Chim. Acta* 110 (1979) 123-128.
- VALCÁRCCEL M., LUQUE DE CASTRO M. D.: *Análisis por inyección en flujo*. Univ. de Córdoba/Monte de Piedad y Caja de Ahorros de Córdoba, Córdoba 1984.
- . *Automatic methods of Analysis*. Elsevier, 1988. pp.158-160, 162-163, 166-171.
- GINÉ M. F., BERGAMIN H., ZAGATTO E. A. G., REIS B. F.: *Anal. Chim. Acta* 114 (1980) 191-197.

## OTRAS FUENTES

VIII International Symposium on Analytical Methodology in the Environmental Field XIII Reunión de la Sociedad Española de Química Analítica (VIII ISAMEF/SEQA 2003) Universidad de La Coruña, octubre 21-24, 2003.

Instituto Español de Oceanografía, Ministerio de Ciencia y Tecnología. *El vertido del Prestige. Situación un año después del accidente (Informe nº 24)*. <http://www.ieo.es> ([http://www.ieo.es/Prestige/pdfs/Informe\\_IEO\\_24.pdf](http://www.ieo.es/Prestige/pdfs/Informe_IEO_24.pdf)).

Als Environmental: *Als Environmental Sampling Guide*. [www.alsenviro.com](http://www.alsenviro.com)

UMPQUA Research Company. *Summary of Sample Containers, Preservation Methods and Holding Times*. [www.urc.cc](http://www.urc.cc) ó <http://chemlab.cc> (<http://chemlab.cc/sample.pdf>).

Universidad de Santiago de Compostela. Dpto. de Ingeniería Química-Ins. Investigaciones Tecnológicas. *Biorremediación*. <http://www.usc.es/uscmn/investigacion/do> cumento/Prestige/Biorremediacion/F3n.pdf. <http://danival.org> ([http://danival.org/mar/\\_madre\\_mar.html](http://danival.org/mar/_madre_mar.html))

*La prolongación de estos estudios permitiría determinar si las variaciones en el contenido de nutrientes se deben a la biorrecuperación o a ciclos naturales.*