



CAPÍTULO

BIORREMEDIACIÓN DE HIDROCARBUROS SATURADOS Y AROMÁTICOS POLICÍCLICOS



Chiriví

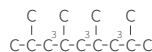
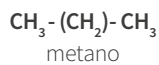
2.1 PROBLEMÁTICA AMBIENTAL DE LOS HIDROCARBUROS Y COMPUESTOS FENÓLICOS EN COLOMBIA

El petróleo o crudo es una mezcla de hidrocarburos, entre otros compuestos, que es inflamable, oleoso y se obtiene de reservas depositadas naturalmente en el interior de la Tierra. Actualmente, el petróleo se considera como una fuente no renovable de energía, pero aun así es el principal regente económico en el mundo. Los hidrocarburos son compuestos constituidos solamente por hidrógeno y carbono, los cuales representan una composición variable en el petróleo (50-98%). Estas diferencias, al igual que la proporción de alcanos, cicloalcanos, compuestos aromáticos y compuestos polares (Figura 6), convierten al petróleo en una sustancia altamente versátil en términos de uso energético y es probablemente por esta razón que constituyen la economía base mundial (England, 1990; Botello, 2005; Obstfeld, Milesi-Ferretti, & Arezki, 2016; Adams, Mensah Klobodu, & Apio, 2018). El petróleo también puede contener otros compuestos como aluminio, cobre, hierro, níquel y vanadio (Botello, 2005). Dentro de los constituyentes del petróleo, se encuentran los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH, por sus siglas en inglés) que son compuestos aromáticos conformados por dos a ocho anillos conjugados. Grupos de alquilos, nitro y amino hacen parte de estos sistemas de anillos debido a que se originan de la combustión parcial de compuestos como los esteroides, que son considerados los precursores y que a largo plazo se transforman. Cabe aclarar que los PAH son generados por otros procesos y pueden tener diferentes orígenes adicionales a los combustibles fósiles (Pampanin & Sydnes, 2013; Mastandrea, y otros, 2005). Los PAH son actualmente de interés para la ciencia y la ingeniería debido a su particularidad de diseminarse en aerosoles fácilmente por el viento y por aplicaciones en el sector de tintes y pinturas, revestimientos, resinas y explosivos (Mastandrea, y otros, 2005).

Cabe aclarar que los PAH son generados por otros procesos y pueden tener diferentes orígenes adicionales a los combustibles fósiles

FIGURA 6. Estructura química de los principales constituyentes del petróleo. Modificado de Botello (2005).

ALCANOS



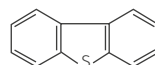
AZUFRADOS



tiociclohexano



tiofeno



dibenzotiofeno

CICLOALCANOS



ciclopentano



ciclohexano

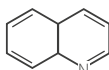


decalina

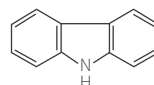
NITROGENADOS



piridina



quinoleina



carbazol

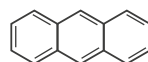
AROMÁTICOS



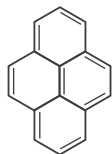
benceno



naftaleno



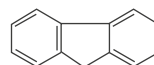
antraceno



pireno

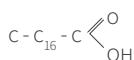


indano



fluoreno

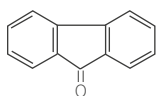
OXIGENADOS



ácido octadecanoico



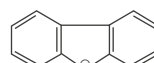
metilpropilcetona



fluorenona



fenol



dibenzofurano

Toxicológicamente, los hidrocarburos son clasificados como disolventes orgánicos y por su gran variedad y propiedades fisicoquímicas es más factible encontrar intoxicaciones por inhalación que por vía digestiva o cutánea, sin embargo, en cualquier caso, los hidrocarburos provenientes o derivados del petróleo son considerados tóxicos, por lo que su toxicocinética y toxicodinámica se encuentran bien definidas (Sánchez Salguero & Chacón Parejo, 2012). En particular, no todos los PAH han mostrado ser tóxicos, sin embargo, existen reportes relacionados con efectos carcinogénicos, disruptor endocrino, dermatitis aguda y crónica, bronquitis, tos crónica, lagrimeo, fotofobia, edema de párpados e hiperemia conjuntival (Mastandrea, y otros, 2005).

La contaminación por hidrocarburos totales de petróleo (TPH) se debe en parte a derrames de la industria petrolera, mientras que procesos industriales como la producción de baterías o el curtimiento del cuero, contribuyen a la contaminación de metales pesados. Por su parte, la producción industrial de plaguicidas y su uso frecuente en la agricultura contribuye tanto a la contaminación por plaguicidas como por metales pesados. Además de este método, se cuentan con técnicas físicas y químicas convencionales que pueden reducir la toxicidad de los contaminantes, como lo son la incineración, cloranización, ozonación y combustión. Sin embargo, estas dos técnicas, en especial el químico, presentan intermediarios y subproductos que pueden tener un nivel de toxicidad igual o incluso mayor que el contaminante original y requieren de una considerable cantidad de energía e infraestructura para llevarse a cabo (Manchola & Dussan, 2014).

En Colombia, la industria basada en la extracción del petróleo posee un impacto ambiental relevante. Sin embargo, la magnitud de este impacto y la resiliencia del ambiente ante su presencia han sido temas de debate (Gudynas, 2018). A esto se suma la deforestación y la erosión del suelo causada por los procesos de extracción a los impactos ambientales causados por sus efectos toxicológicos debido a las propiedades químicas de los hidrocarburos (Castañeda & Chapurri, 2018; Zimmermann, 2018; Trujillo Quintero, Losada Cubillos, & Rodríguez Zambrano, 2017). La liberación de compuestos tóxicos al agua y los suelos durante la extracción, la emisión de gases (entre ellos PAH) debido a procesos de combustión con propósitos energético y de recreación (humo de tabaco y alimentación), la falta de un aislamiento eficiente de los pozos con los recursos naturales y la inadecuada disposición final de vertimientos y lodos tóxicos encabezan la lista de factores que reclaman esta industria como una altamente nociva para el ambiente (Velásquez Arias, 2017; Gudynas, 2018; Arias Serna, 2019). Con respecto a la contaminación por PAH, existen algunos estudios que han buscado recalcar su importancia como constituyentes del material particulado (PM, por sus siglas en inglés) del aire y como agentes contaminantes relevantes en el recurso hídrico. En el nororiente de Colombia se identificaron 12 PAH como parte del PM2.5



En particular, no todos los PAH han mostrado ser tóxicos, sin embargo, existen reportes relacionados con efectos carcinogénicos, disruptor endocrino, dermatitis aguda y crónica, bronquitis, tos crónica, lagrimeo, fotofobia, edema de párpados e hiperemia conjuntival

utilizando cromatografía de gases para su determinación; de estos compuestos, se resaltó la presencia de benzo(a)antraceno, benzo(a)pireno, dibenzo(a,h)antraceno, fenantreno, fluoreno, indeno(1,2,3,cd)pireno, naftaleno y pireno, que son considerados tóxicos por su efecto cancerígeno y/o mutagénico para el ser humano y los animales (Quijano Parra, Quijano Vargas, & Meléndez Gélvez, 2015; Quijano, Quijano, & Meléndez, 2014). Algunos de estos PAH fueron también identificados en el Río Cauca, al suroccidente de Colombia (Sarria-Villa, Ocampo-Duque, & Schuhmacher, 2016), lo que implica que hay un riesgo alto de salud pública por la presencia de estos compuestos en todos los compartimientos ambientales. Sánchez y colaboradores (2018) muestran que esta problemática es incluso de una mayor magnitud alcanzando niveles regionales y concentrándose en áreas urbanas.

2.2 MECANISMOS DE BIODEGRADACIÓN DE HIDROCARBUROS

Los hidrocarburos son compuestos que biológicamente son de difícil degradación debido a su hidrofobicidad, lo cual facilita la generación de una limitación fisicoquímica entre la molécula y el microorganismo y al entrar en contacto puede desestabilizar la membrana celular causando la muerte (Abbasian, Lockington, Mallavarapu, & Naidu, 2015; Rosenberg, Navon-Venezia, Zilber-Rosenberg, & Ron, 1998). Sin embargo, varios microorganismos han encontrado formas para no solamente tolerar los hidrocarburos (cadena corta, larga o policíclicos), específicamente han desarrollado estrategias de resistencia utilizando biomoléculas (Ron, 2000).

La emulsificación es la primera estrategia que utilizan los microorganismos para aumentar el contacto con los hidrocarburos. Bacterias como *Aeromonas spp.*, *Bacillus spp.* y *Pseudomonas spp.* y levaduras del género *Candida* son capaces de producir biosurfactantes que disminuyen la tensión superficial formando micelas, que pueden ser asimiladas a través de la membrana y posteriormente degradadas (Das & Chandran, 2011; Ron & Rosenberg, 2002). Actualmente, estos compuestos anfipáticos y producidos por microorganismos son usados no solamente para procesos de biorremediación, su eficiencia los ha posicionado como grandes limpiadores y transportadores de aceites, que son igualmente importantes para la extracción del petróleo (De Almeida, y otros, 2016). En algunos casos, los microorganismos son capaces de adherirse al sustrato y en otros producen compuestos diferentes a los biosurfactantes que de igual forma facilitan la asimilación de los hidrocarburos; sin embargo, los biosurfactantes han probado ser los más efectivos y frecuentes dentro de los mecanismos iniciales de resistencia (Varjani, 2017).

La biodegradación de los hidrocarburos se da por acción de diferentes enzimas, principalmente en condiciones aerobias (Fritsche & Hofrichter, 2000). Sin embargo, existen algunos ejemplos documentados que describen la biodegradación dentro de sistemas en ausencia de oxígeno (Varjani, 2017; Widdel & Rabus, 2001). Varjani (2017) realizó una amplia revisión sobre los diferentes bacterias y hongos que son capaces de degradar hidrocarburos realizando una separación entre aquellos que pueden degradar alifáticos, mono-aromáticos, poliaromáticos y resinas.

La biodegradación aerobia se concibe dentro de diferentes procesos oxidativos, siendo la oxidación mono-terminal la más frecuente y que se basa en la formación de un alcohol a partir de la oxidación de un grupo metilo y que es posteriormente llevado

en varios pasos hasta convertirse en intermediario metabólico por una β -oxidación (Abbasian, Lockington, Mallavarapu, & Naidu, 2015). Otros procesos oxidativos, di-terminales y sub-terminales, se describen en rutas diferentes son llevados igualmente a una β -oxidación para convertirse en metabolitos intermediarios (Varjani, 2017).

En el caso de la biodegradación de los compuestos aromáticos, los cuales son más resistentes a la degradación debido a su estabilidad química, presenta una ruta secuencial que consiste en una oxidación y una ruptura del anillo benzoico. De estas reacciones, se forman dioles y ácidos di-carboxílicos, respectivamente (Varjani, 2017). Particularmente para la biodegradación de PAH, se han descrito diferentes mecanismos que esencialmente buscan romper el anillo aromático. Las bacterias utilizan mono y dioxigenasas para la hidroxilación de los anillos aromáticos, lo cual facilita su ruptura formando compuestos que ingresan posteriormente como intermediarios del metabolismo del ciclo de ácido tricarboxílico. Algunas bacterias como *Pseudomonas* y *Rhodococcus* han demostrado tener gran versatilidad para degradar estos compuestos, y presentan genes específicos para esta labor (Ghosal, Ghosh, Dutta, & Ahn, 2016). Para el caso de los hongos, existen algunos que pueden degradar PAH utilizando mono-oxigenasas; la lignina peroxidasa (LiP), la manganoso peroxidasa (MnP), la versátil peroxidasa (VP) y diferentes tipos de lacasas son producidos por hongos de podredumbre de madera (Datta, y otros, 2017; Madadi & Abbas, 2017). La LiP, también llamada peróxido oxidorreductasa, es capaz de oxidar unidades no-fenólicas de lignina sustituidas con grupos de metoxilo en presencia de H_2O_2 (Andlar, y otros, 2018). La MnP, que actúa sobre unidades fenólicas y no fenólicas a través de reacciones de peroxidación de lípidos, es capaz de oxidar anillos aromáticos en radicales fenoxi permitiendo su descomposición (Madadi & Abbas, 2017). La VP tiene afinidad de sustrato combinada de la LiP y la MnP, y puede oxidar una gran variedad de compuestos, incluyendo el veratril alcohol (3,4-dimetoxibencil alcohol) y los metoxibencenos (Andlar, y otros, 2018). Las lacasas, que son oxidasas multicobradas y ampliamente utilizadas en la industria, son capaces de oxidar diferentes sustratos reduciendo 4 electrones de dioxígeno a agua (Jones & Solomon, 2015). Algunos hongos que no son considerados de podredumbre de la madera pueden utilizar la citocromo P450 monooxigenasa que pueden catalizar la epoxidación de los anillos formando óxido inestable de areno (Ghosal, Ghosh, Dutta, & Ahn, 2016). A diferencia de las bacterias y los hongos, existe poca documentación sobre los mecanismos que utilizan las microalgas para degradar PAH; sin embargo, Ghosal y colaboradores (2016) reportan algunos casos de oxidación específicos para venzo[a]pireno fenantreno, fenol, fluoranteno, naftaleno, pireno y salicilato.

Desde finales de los 80, se han descrito diferentes microorganismos que pueden biodegradar hidrocarburos en condiciones estrictas de ausencia de oxígeno. A diferencia de los procesos de biodegradación aerobia, el aceptor final de electrones en la respiración es el nitrato, el hierro o el sulfato; además suele darse una relación sintrófica

para la degradación de los hidrocarburos o crece por fotosíntesis anoxigénica (Widdel & Rabus, 2001). La adición de fumarato y la hidroxilación por agua son los mecanismos más frecuentemente descritos en la biodegradación anaerobia de hidrocarburos. La metanogénesis reversa, la metilación y la carboxilación son mecanismos también descritos para la biodegradación anaerobia de hidrocarburos (Boll & Heider, 2010).

Con respecto a la biodegradación anaerobia de PAH, cuatro pasos son reconocidos: *i*) adición de fumarato catalizado por una enzima de radical glicilo, *ii*) metilación de aromáticos no sustituidos, *iii*) hidroxilación de un alquilo a través de una dehidrogenasa, y *iv*) carboxilación. Al igual que en la biodegradación aerobia, los productos de estas reacciones resultan en procesos de oxidación β , saturación de anillos y/o en reacción de ruptura del anillo, lo cual se incorpora en la biomasa o se oxida de forma completa (Foght, 2008).



La metanogénesis reversa, la metilación y la carboxilación son mecanismos también descritos para la biodegradación anaerobia de hidrocarburos (Boll & Heider, 2010).

2.3 BIORREMEDIACIÓN DE HIDROCARBUROS EN COLOMBIA

La bioaumentación es una estrategia frecuente para la biorremediación de aguas o suelos, lo cual hace que el aislamiento e identificación de microorganismos resistentes a contaminantes sea un procedimiento habitual y que varias de las publicaciones se centren en este aspecto. Un ejemplo típico de esto corresponde a la publicación realizada de forma colaborativa por investigadores de la Universidad Nacional de Colombia (UNC), la Pontificia Universidad Javeriana (PUJ) y Corporación CorpoGen, que aislaron levaduras del género *Rhodotorula* resistentes a hidrocarburos a partir de tanques de gasolina; su metodología fue típicamente un aislamiento clásico acoplado a pruebas de crecimiento en presencia de hidrocarburos como única fuente de C (Delgadillo-Ordoñez, Posada-Suárez, Marcelo, Cepeda-Hernández, & Sánchez Nieves, 2017). Actualmente las herramientas moleculares de última generación han facilitado determinar si un microorganismo es resistente a un contaminante o si presenta la potencialidad de serlo saltándose pasos de cultivo. Un ejemplo de este tipo fue la investigación realizada por Morales y colaboradores (2017) de la Universidad de los Andes (UA), que muestran el potencial metabólico para biodegradar hidrocarburos utilizando bioprospección molecular en el hongo *Scedosporium angiospermum*; a partir del análisis de su genoma se encontró que este hongo tiene la maquinaria metabólica para la secreción de dioxigenasas específicas, entre otras enzimas, para la degradación de PAH.

Aun cuando la bioaumentación en procesos de biorremediación de hidrocarburos es una estrategia muy eficiente, la bioestimulación puede funcionar, e incluso ser mucho más eficiente en términos de costo-beneficio. Kopytko e Ibarra Mojica (2009), investigadoras de la Universidad Industrial de Santander (UIS) y de la PUJ, mostraron la efectividad de remoción de hidrocarburos totales al mezclar muestras de suelo contaminados con muestras de suelo frescas (bioestimulación); no sólo se obtuvieron porcentajes cercanos al 30%, resultaron ser más eficientes que adicionar microorganismos aislados de las mismas muestras (bioaumentación).

Los consorcios microbianos han sido el foco de investigación y desarrollo cuando se trata de biorremediación de hidrocarburos. Diferentes bacterias han sido aisladas, caracterizadas y puestas a cultivar juntas debido a su eficiencia degradando estos compuestos. Arrieta Ramírez y colaboradores (2012) demostraron la eficiencia de un consorcio bacteriano conformado por *Arthrobacter*, *Bacillus*, *En-*

terobacter, *Flavobacterium*, *Sanguibacter* y *Staphylococcus* para la degradación de diesel, comparando dos metodologías: la atenuación natural y la bioestimulación, siendo aproximadamente 15% mayor al de bioestimulación. De investigaciones de este tipo, el interés por entender qué puede afectar estos consorcios, ha aumentado. Recientemente, en una investigación de autoría internacional con apoyo de un investigador de Cali, se estudió el efecto de la presencia de metales pesados en la sinergia de *Acremonium sp.* (un hongo) y *Bacillus subtilis* (una bacteria) en un proceso de biorremediación de PAH. Particularmente, la presencia de especies específicas de metales puede disminuir la tasa de remoción de PAH, mientras que otras la aumentan (Ma, Ding, Peterson, & Daugulis, 2016). Este resultado abre la puerta a investigar más de cerca la oportunidad de mejorar los consorcios microbianos utilizando cofactores como metales; de igual forma, permite elegir con cuidado los consorcios cuando se trata de contaminaciones de origen químico mixto.

Trujillo Toro & Ramírez Quirama (2012) analizaron el potencial de esta biotecnología como alternativa para la recuperación de ambientes contaminados con crudos en Colombia. De esta revisión se evidencia el creciente interés por las industrias petroleras de implementar la biorremediación como una estrategia costo-eficiente en comparación con procesos como la incineración para la disposición de residuos peligrosos. De igual forma, se resalta el papel de dos centros académicos de la Universidad de Santander (UdeS) y la UA (desde el Centro de Investigaciones Microbiológicas – CIMIC) en el desarrollo y mejoramiento de estas estrategias. Finalmente, se estableció cómo la normatividad colombiana y las prácticas que pueden complementar enormemente la implementación de la biorremediación para disminuir el impacto negativo de los hidrocarburos. Particularmente, la UA ha contribuido desde el desarrollo de procesos de biorremediación de diesel, fenol, gasolina, naftaleno, tolueno, xileno, entre otros, a partir del descubrimiento, caracterización y uso de microorganismos como *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Chrysobacterium*, *Pseudomonas* y *Ralstonia*. De este compendio de investigaciones, que pueden consultarse desde el repositorio institucional, se han logrado establecer dos metodologías que bajan más de dos órdenes de magnitud (ppm) en 45 días utilizando dos consorcios (uno constituido por especies de *Pseudomonas* y otro por bacterias de diferentes géneros) para la biorremediación de lodos aceitosos. Por otro lado, hongos identificados como *Aspergillus terreus* y *Paecilomyces spp.* han sido caracterizados por disminuir grandes cantidades de hidrocarburos alifáticos y aromáticos en 31 días utilizando bioaumentación en suelos (Dussan Garzón, y otros, 2009); recientemente bajo la misma línea, el CIMIC ha probado la versatilidad de la bacteria *Lysinibacillus sphaericus*, que además de ser un controlador biológico de dípteros y de tener propiedades bioacumuladora de metales pesados, es capaz de biodegradar mezclas de hidro-

carburos de forma rápida y muy eficiente (Hernández-Santana & Dussan, 2018). Por su parte, aunque utilizando metodologías similares, la UdeS han desarrollado estrategias de bioaumentación de consorcios para degradación de lodos aceitosos provenientes de lavaderos de carros y del alcantarillado de la zona industrial de Bucaramanga. A diferencia del aporte uniandino, la bioaumentación se realizó por la introducción de biopilas utilizando diferentes combinaciones de bacterias (*Acinetobacter*, *Bacillus brevis*, *Citrobacter*, *Enterobacter cloacae*, *Micrococcus*, *Nocardia* y *Pseudomonas*) y hongos (*Aspergillus*, *Fusarium* y *Trichoderma*); de esta experimentación se lograron porcentajes de biorremediación de hidrocarburos totales de petróleo (TPH, por sus siglas en inglés) mayores del 80% en 120 días de tratamiento (Vásquez, Guerrero Figueroa, & Quintero, 2010).

Los colorantes provenientes de la industria textil, aunque no son un producto o residuo directo de la industria petrolera, sí generan un impacto negativo importante en el ambiente, ya que estos compuestos son típicamente hidrocarburos con anillos aromáticos; y es por esta razón, que son igualmente contemplados en esta sección. Chanagá Vera y colaboradores (2012) han estudiado el potencial degradador de aislamientos fúngicos de hábito saprofito realizados en la Universidad Nacional de Colombia. De este estudio, se identificaron hongos de los géneros *Leptosphaerulina*, *Trichoderma* y *Aspergillus* que son capaces de decolorar 3 tintes diferentes, posiblemente por la secreción de lacasas, entre otras enzimas. Hongos del género *Pleurotus*, así como otros de pudrición blanca, han sido ampliamente estudiados por su capacidad de producir lacasas y de degradar complejos lignocelulósicos e hidrocarburos aromáticos. Este es el caso reportado por investigadores de la Universidad Nacional de Colombia, que obtuvieron porcentajes de degradación superiores al 60% para tintes tipo azo y azul brillante AB, siendo *P. ostreatus* y *P. pulmonaris* los más promisorios para procesos de biorremediación, respectivamente (Rojas & Hormaza, 2016; Zuleta-Correa, Merino-Restrepo, Jiménez-Correa, Hormaza-Anaguano, & Cardona-Gallo, 2016). En una colaboración entre investigadores de la PUJ, la Universidad de Caldas, la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia (UPTC), la UNC y la Universidad Antonio Nariño (UAN), se estudió la capacidad de los sobrenadantes del cultivo de 2 hongos de pudrición de maderas (*Ganoderma lucidum* y *Pleurotus ostreatus*) para decolorar dos colorantes altamente corrosivos. A pesar de que no se obtuvieron porcentajes de degradación superiores al 60%, el hallazgo fue considerado de alta importancia ya que el verde de malaquita y el cristal violeta (los tintes probados) son altamente estables y resistentes a la biodegradación (Morales-Álvarez, y otros, 2018).

2.4 BIBLIOGRAFÍA

Abbasian, F., Lockington, R., Mallavarapu, M., & Naidu, R. (2015). A Comprehensive Review of Aliphatic Hydrocarbon Biodegradation by Bacteria. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 176(3), 670-699. doi:10.1007/s12010-015-1603-5

Adams, S., Mensah Klobodu, E. K., & Apio, A. (2018). Renewable and non-renewable energy, regime type and economic growth. *Renewable Energy*, 125, 755-767. doi:10.1016/j.renene.2018.02.135

Andlar, M., Rezic, T., Mardetko, N., Kracher, D., Ludwig, R., & Santek, B. (2018). Lignocellulose degradation: An overview of fungi and fungal enzymes involved in lignocellulose degradation. *Engineering in Life Sciences*, 18(11), 768-778. doi:10.1002/elsc.201800039

Arias Serna, D. (24 de febrero de 2019). Petróleo, sinónimo de contaminación. *La crónica del Quindío*. Recuperado de <https://www.cronicadelquindio.com/noticia-completa-titulo-petroleo-sinonimo-de-contaminacion-cronica-del-quindio-nota-127734>

Arrieta Ramírez, O. M., Rivera Rivera, A. P., Arias Marín, L., Rojano, B. A., Ruiz, O., Gallo, C., & Alonso, S. (2012). Biorremediación de un suelo con diesel mediante el uso de microorganismos autóctonos. *Gestión y Ambiente*, 15(1), 27-39. Recuperado de <http://www.redalyc.org/pdf/1694/169424101004.pdf>

Betancur-Corredor, B., Loaiza-Usuga, J. C., Denich, M., & Borgemeister, C. (2018). Gold mining as a potential driver of development in Colombia: Challenges and opportunities. *Journal of Cleaner Production*, 199, 538-553. doi:10.1016/j.jclepro.2018.07.142

Boll, M., & Heider, J. (2010). Anaerobic Degradation of Hydrocarbons: Mechanisms of C-H-Bond Activation in the Absence of Oxygen. En K. N. Timmis, *Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology* (págs. 1011-1024). Berlin: Springer.

Botello, A. V. (2005). Características, composición y propiedades fisicoquímicas del petróleo. En A. V. Botello, J. Rendón-von Osten, G. Gold-Bouchot, & C. Agraz-Hernández, Golfo de México. *Contaminación e impacto ambiental: diagnóstico y tendencias* (págs. 261-268). Campeche: Univ. Autónoma de Campeche.

Castañeda, P., & Chapurri, L. F. (24 de abril de 2018). Petróleo y deforestación, las amenazas que enfrenta La Macarena. *Semana rural*. Recuperado de <https://semanarural.com/web/articulo/petroleo-y-deforestacion-las-amenazas-que-enfrenta-la-macarena/495>

Chanagá Vera, X., Plácido Escobar, J., Marín Montoya, M., & Yepes Pérez, M. d. (2012). Hongos nativos con potencial degradador de tintes industriales en el Valle de Aburrá, Colombia. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 65(2), 6811-6821. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/rfnam/v65n2/v65n2a24.pdf>

Das, N., & Chandran, P. (2011). Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbon Contaminants: An Overview. *Biotechnology Research International*, 2011, 1-13. doi:10.4061/2011/941810

Datta, R., Kelkar, A., Baraniya, D., Molaei, A., Moulick, A., Meena, R. S., & Formanek, P. (2017). Enzymatic Degradation of Lignin in Soil: A Review. *Sustainability*, 9(7), 1.163. doi:10.3390/su9071163

De Almeida, D. G., Soares Da Silva, R. d., Luna, J. M., Rufino, R. D., Santos, V. A., Banat, I. M., & Sarubbo, L. A. (2016). Biosurfactants: Promising Molecules for Petroleum Biotechnology Advances. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1.718. doi:10.3389/fmicb.2016.01718

Delgadillo-Ordoñez, N. C., Posada-Suárez, L., Marcelo, E., Cepeda-Hernández, M. L., & Sánchez Nieves, J. (2017). Aislamiento e identificación de levaduras degradadoras de hidrocarburos aromáticos, presentes en tanques de gasolina de vehículos urbanos. *Revista Colombiana de Biotecnología*, XIX(1), 141-151. doi:10.15446/rev.colomb.biote.v19n2.70278

Dussan Garzón, J., Vives-Flórez, M. J., Sarria, V. M., Sánchez Medina, O. F., Delgado, L. F., Hernández Sierra, S., & González Barrios, A. F. (2009). Aproximaciones biológicas y fisico-químicas en el tratamiento de contaminantes: un resumen del aporte de la Universidad de los Andes. *Revista de Ingeniería* (30), 100-111. Recuperado de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-49932009000200013&lng=en&tlng=pt.

England, W. A. (1990). The organic geochemistry of petroleum reservoirs. *Organic Geochemistry*, 16(1-3), 415-425. doi:10.1016/0146-6380(90)90058-8

Foght, J. (2008). Anaerobic Biodegradation of Aromatic Hydrocarbons: Pathways and Prospects. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 15, 98-120. doi:10.1159/000121324

Fritsche, W., & Hofrichter, M. (2000). Aerobic degradation by microorganisms. En J. Klein, *Environmental Processes - Soil Decontamination* (págs. 146-155). Weinheim, Alemania: Wiley-VCH.

Ghosal, D., Ghosh, S., Dutta, T. K., & Ahn, Y. (2016). Current State of Knowledge in Microbial Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs): A Review. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1369. doi:10.3389/fmicb.2016.01369

Gudynas, E. (31 de enero de 2018). Los nudos del petróleo en Colombia: ambiente y ciencia, política y democracia. *Palabras al margen*. Recuperado de <http://palabrasalmargen.com/edicion-122/los-nudos-del-petroleo-en-colombia-ambiente-y-ciencia-politica-y-democracia/>

Hernández-Santana, A., & Dussan, J. (2018). Lysinibacillus sphaericus proved to have potential for the remediation of petroleum hydrocarbons. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, 27(6), 538-549. doi: 10.1080/15320383.2018.1490888

Jones, S. M., & Solomon, E. I. (2015). Electron Transfer and Reaction Mechanism of Laccases. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 72(5), 869-883. doi:10.1007/s00018-014-1826-6

Kopytko, M., & Ibarra Mojica, D. M. (2009). Evaluación del potencial de biodegradación de hidrocarburos totales de petróleo (TPH) en suelos contaminados procedentes de Petrosantander (Colombia) INC. *Puente*, 3(1), 35-46. doi:10.18566/puente.v3n1.a04

Ma, X., Ding, N., Peterson, E. C., & Daugulis, A. J. (2016). Heavy metals species affect fungal-bacterial synergism during the bioremediation of fluoranthene. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(17), 7741-7750. doi:10.1007/s00253-016-7595-4

Madadi, M., & Abbas, A. (2017). Lignin Degradation by Fungal Pretreatment: A Review. *J Plant Pathology and Microbiology*, 8(2), 398. doi:10.4172/2157-7471.1000398

Manchola, L., & Dussan, J. (2014). Lysinibacillus sphaericus and Geobacillus sp Bio-degradation of Petroleum Hydrocarbons and Biosurfactant Production. *Remediation Journal*, 25(1), 85-100. doi:10.1002/rem.21416

Mastandrea, C., Chichizola, C., Ludueña, B., Sánchez, H., Álvarez, H., & Gutiérrez, A. (2005). Hidrocarburos aromáticos policíclicos. Riesgos para la salud y marcadores biológicos. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 39(1), 27-36. Recuperado de <http://www.redalyc.org/pdf/535/53522191006.pdf>

Morales, L. T., González-García, L. N., Orozco, M. C., Restrepo, S., & Vives, M. J. (2017). The genomic study of an environmental isolate of *Scedosporium apiospermum* shows its metabolic potential to degrade hydrocarbons. *Standards in Genomic Sciences*, 12, 71. doi:10.1186/s40793-017-0287-6

Morales-Álvarez, E. D., Rivera-Hoyos, C. M., Poveda-Cuevas, S. A., Reyes-Guzmán, E. A., Pedroza-Rodríguez, A. M., Reyes-Motaño, E. A., & Poutou-Piñales, R. A. (2018). Malachite Green and Crystal Violet Decolorization by *Ganoderma lucidum* and *Pleurotus ostreatus* Supernatant and by rGLCC1 and rPOXA 1B Concentrates: Molecular Docking Analysis. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 184(3), 794-805. doi:10.1007/s12010-017-2560-y

Obstfeld, M., Milesi-Ferretti, G. M., & Arezki, R. (24 de marzo de 2016). Los precios del petróleo y la economía mundial: Una relación complicada. *Diálogo a fondo*. Recuperado de <https://blog-dialogofondo.imf.org/?p=6358&share=reddit>

Pampanin, D. M., & Sydnes, M. O. (2013). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons a Constituent of Petroleum: Presence and Influence in the Aquatic Environment. En V. Kutchevov, & A. Kolesnikov, *Hydrocarbon* (págs. 83-118). Londres, Reino Unido: IntechOpen.

Quijano Parra, A., Quijano Vargas, M. J., & Meléndez Gélvez, I. (2015). Cuantificación de los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) en el material particulado PM2.5 de una zona residencial de Pamplona, Colombia. *Luna Azul*, 40, 85-101. Recuperado de <http://lunazul.ucaldas.edu.co/index.php?option=content&task=view&id=1001>

Quijano, M. J., Quijano, A., & Meléndez, I. (2014). Identificación de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) en el PM2.5 del aire de Pamplona-Colombia. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 17(1), 25-33. Recuperado de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-42262014000100004&lng=en&tlng=es

Rojas, J., & Hormaza, A. (2016). Evaluación de la biodegradación del colorante azul brillante utilizando hongos de la podredumbre blanca y sus consorcios. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 19(1), 179-187. Recuperado de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-42262016000100021&lng=en&tlng=es

Ron, E. Z. (2000). Microbial life on petroleum. En J. Seckback, *Journey to Diverse Microbial Worlds* (págs. 303-305). The Netherlands: Kluwer Academic Publishers.

Rosenberg, E., Navon-Venezia, S., Zilber-Rosenberg, I., & Ron, E. Z. (1998). Rate-limiting steps in the microbial degradation of petroleum hydrocarbons. En H. Rubin, *Soil and Aquifer Pollution* (págs. 159-172). Berlin-Heidelberg: Springer-Verlag.

Sánchez Salguero, C. A., & Chacón Parejo, A. (2012). Intoxicaciones por hidrocarburos. En S. Mintegi, *Manual de intoxicaciones en Pediatría* (págs. 211-221). Madrid: Ergon.

Sánchez, N. E., Sánchez, A. L., & Espinosa, P. M. (2018). Levels of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) in Atmospheric Environment of Urban Areas in Latin America. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 38(2), 110-119. doi:10.1080/10406638.2016.1167745

Sarria-Villa, R., Ocampo-Duque, W., & Schuhmacher, M. (2016). Presence of PAHs in water and sediments of the Colombian Cauca River during heavy rain episodes, and implications for risk assessment. *Science of the Total Environment*, 540, 455-465. doi:10.1016/j.scitotenv.2015.07.020

Trujillo Quintero, H. F., Losada Cubillos, J. J., & Rodríguez Zambrano, H. (2017). Amazonia colombiana, petróleo y conflictos socioambientales. *Revista Científica General José María Córdova*, 15(20), 209-223. doi:10.21830/19006586.181

Trujillo Toro, M. A., & Ramírez Quirama, J. F. (2012). Biorremediación en suelos contaminados con hidrocarburos en Colombia. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 3(2), 37-62. Obtenido de <http://hemeroteca.unad.edu.co/entrenamiento/index.php/riaa/article/view/952>

Varjani, S. J. (2017). Microbial degradation of petroleum hydrocarbons. *Bioresource Technology*, 223, 277-286. doi:10.1016/j.biortech.2016.10.037

Vásquez, M. C., Guerrero Figueroa, J. T., & Quintero, A. d. (2010). Biorremediación de lodos contaminados con aceites lubricantes usados. *Revista Colombiana de Biotecnología*, XII(1), 141-157. Recuperado de <http://www.redalyc.org/pdf/776/77617786014.pdf>

Velásquez Arias, J. A. (2017). Contaminación de suelos y aguas por hidrocarburos en Colombia. Análisis de la fitorremediación como estrategia biotecnológica de recuperación. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 8(1), 151-167. Recuperado de <http://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/riaa/article/view/1846/2065>

Widdel, F., & Rabus, R. (2001). Anaerobic biodegradation of saturated and aromatic hydrocarbons. *Current Opinion in Biotechnology*, 12(3), 259-276. doi:10.1016/S0958-1669(00)00209-3

Zimmermann, M. L. (21 de agosto de 2018). Colombia: industria petrolera pone en peligro el último relicto de bosque de niebla del Tolima. *Mongabay*. Recuperado de <https://es.mongabay.com/2018/08/bosque-de-niebla-peligro-petroleo-tolima-colombia/>

Zuleta-Correa, A., Merino-Restrepo, A., Jiménez-Correa, S., Hormaza-Anaguano, A., & Cardona-Gallo, S. A. (2016). Use of white rot fungi in the degradation of an azo dye from the textile industry. *DYNA*, 83(198), 128-135. doi:10.15446/dyna.v83n198.52923