

## TOXICIDAD DE UN FLUIDO DE PERFORACIÓN BASE AGUA PARA SU USO EN LA EXPLORACIÓN PETROLERA EN CUBA

### TOXICITY OF A WATER-BASED DRILLING FLUID FOR USE IN OIL EXPLORATION IN CUBA

Silvia Acosta Díaz <sup>a</sup> \*(0000-0002-0140-2760)  
Francisca González Hernández<sup>a</sup> (0000-0001-9462-8541)

<sup>a</sup> Centro de Investigación del Petróleo, Calle Churrucá No.481 e/Vía Blanca y Washington, Cerro, código postal 10600. La Habana Cuba.

\*sacosta@ceinpet.cupet.cu

Recibido: 20 de febrero de 2024;

Aceptado: 18 de abril de 2024;

#### RESUMEN

Para evaluar los daños de la exploración petrolera a los ecosistemas, los ensayos de ecotoxicológicos son una herramienta fundamental en los programas de riesgo ambiental. Los productos utilizados constituyen xenobióticos que pueden ser potencialmente tóxicos para la biota del suelo y ocasionar severas alteraciones metabólicas en los organismos, que repercuten en cambios estructurales y funcionales en los ecosistemas terrestres. El objetivo de esta investigación fue realizar un diagnóstico toxicológico a un fluido de perforación base agua para su uso en la exploración petrolera en Cuba. Se utilizaron procedimientos toxicológicos recomendados por la Organización para la Cooperación Económica y el Desarrollo (OECD), con dos bioindicadores de contaminación terrestres, lombrices de tierra de la especie *Eisenia andrei* y semillas de lechuga (*Lactuca sativa*). El fluido se preparó realizando una dilución 1:9 (lodo: agua) (v/v) y a partir de la fracción de sólidos suspendidos (FSS) se realizaron las diluciones a ensayar. Como criterio de toxicidad se calculó la concentración letal media (CL<sub>50</sub>) a partir de las mortalidades de los bioindicadores, con el programa estadístico Statgraphics Centurion XV, según el método Probit. Los valores se compararon con los códigos federales (CFR) vigentes que cataloga a un fluido tóxico cuando la CL<sub>50</sub> es menor que 3 %. La CL<sub>50</sub> para el bioensayo con lombrices fue de 36.95 % y de 30.1 % para las semillas de lechuga; según los criterios establecidos este fluido es no tóxico para la supervivencia de la biota terrestre. Estos resultados apoyan el uso de este fluido de perforación con la responsabilidad y respecto al medio ambiente.

**Palabras claves:** toxicidad, fluidos de perforación, bioindicadores, medio ambiente.

#### ABSTRACT

To evaluate the damage of oil exploration to ecosystems, ecotoxicological tests are a fundamental tool in environmental risk programs. The products used constitute xenobiotics that can be potentially toxic to soil biota and cause severe metabolic alterations in organisms, which affect structural and functional changes in terrestrial ecosystems. The objective of this research was to carry out a toxicological diagnosis of a water-based drilling fluid for use in oil exploration in Cuba. Toxicological procedures recommended by the Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) were used, with two terrestrial contamination bioindicators, earthworms of the species *Eisenia andrei* and lettuce seeds (*Lactuca sativa*). The fluid was prepared by making a 1:9 dilutions (sludge: water) (v/v) and the dilutions to be tested were made from the fraction of suspended solids (FSS). As a toxicity criterion, the mean lethal concentration (LC<sub>50</sub>) was calculated from the mortalities of the bioindicators, with the Statgraphics Centurion XV statistical program, according to the Probit method. The values were compared with the current federal codes (CFR) that classify a toxic fluid when the LC<sub>50</sub> is less than 3%. The LC<sub>50</sub> for the bioassay with worms was 36.95% and 30.1% for lettuce seeds. According to established criteria, this fluid is non-toxic for the survival of terrestrial biota. These results support the use of this drilling fluid responsibly and with respect to the environment.

**Keywords:** toxicity, drilling fluids, bioindicators, environment.

## INTRODUCCION

Para perforar los pozos petroleros se requiere el uso de lodos de perforación formados a partir de diferentes formulaciones de productos químicos que son bombeados hacia el interior del pozo, para enfriar el trépano, presurizar y retornar hacia la superficie llevando consigo fragmentos de roca desprendidos durante la acción de la barrena perforadora, denominados cortes de perforación. Los lodos pueden estar constituidos en base acuosa o en base aceite. Su manejo inadecuado puede ocasionar derrames al medio, afectando la vida y bienestar de muchas especies acuáticas y terrestres (Romero, 2021).

El grado de impacto que una descarga o vertimiento puede tener sobre el ambiente, depende de las cargas contaminantes contenidas en los residuos y del ambiente donde son descargados. Un claro ejemplo, son los altos niveles de cloruro de sodio contenidos en los fluidos de perforación, los cuales conllevan un impacto de grado menor si son descargados al mar por su condición natural. En el caso que esta misma descarga se realice sobre un cuerpo de agua dulce o en un suelo agrícola, tendrá un impacto negativo más significativo, porque la fauna y la flora se ven alteradas por la presencia de altas concentraciones de sales en su hábitat (Díaz, *et al*, 2021).

La ecotoxicología hace referencia específicamente al efecto de los tóxicos sobre los ecosistemas, es decir que para esta ciencia el sujeto de estudio principal es realmente el conjunto constituido por las poblaciones, la biocenosis y el hábitat, teniendo por tanto que analizar y describir condiciones poco controladas y un gran número de interacciones

Para determinar el efecto tóxico de una sustancia se calcula la  $CL_{50}$ , la cual representa la concentración letal media y se refiere a la concentración estimada de la sustancia prueba que produce una mortalidad del 50 % de la población de los organismos expuestos durante el periodo de experimentación. El valor de  $CL_{50}$  calculado por un programa estadístico indica el potencial de peligrosidad de la sustancia pero no debe ser usado directamente para predecir los efectos de una descarga de la sustancia de prueba en ambientes naturales (Díaz, *et al*, 2022).

El objetivo de este trabajo fue determinar el grado de toxicidad de un fluido de perforación base agua utilizando dos ensayos con lombrices de tierra y semillas de lechuga como especies terrestres indicadoras de contaminación.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Para la evaluación de la toxicidad del fluido base agua se realizaron dos bioensayos agudos con biomodelos representativos del ecosistema terrestre: lombrices de tierra adultas de la especie *Eisenia andrei* (OECD 207, 1984) y semillas de lechuga (*Lactuca sativa*) (OECD 208, 2006) (figura 1).



*Fig. 1. (A) Lombrices adultas (B) Semillas de lechuga.*

### Preparación de la muestra

El fluido de perforación fue aportado por una compañía que realiza perforaciones en Cuba, se preparó para los ensayos realizando una dilución 1:9 (lodo: agua) (v/v), en un frasco de 1 L, se colocó en zaranda termostática con agitación de 130 rpm por 30 min, posteriormente se dejó reposar por 12 horas en refrigeración. El sobrenadante o fracción de sólidos suspendidos (FSS), se consideró como la muestra al 100 %, a partir de la cual se prepararon las concentraciones para los ensayos (EPA, 2011). Primero se probaron concentraciones de biobúsqueda (100; 50; 25; 10 y 1 %) y posteriormente se ajustaron las concentraciones finales a 45; 40; 35 y 30 %.

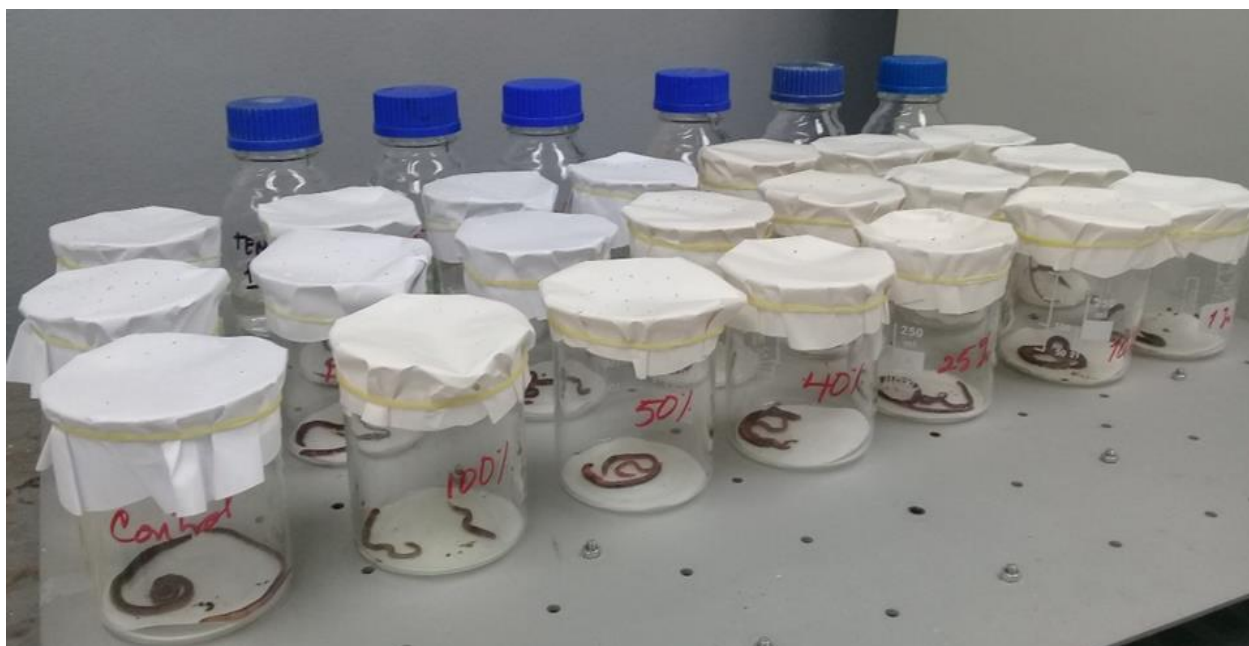
### Preparación del ensayo con la lombriz de tierra en papel de filtro

Las lombrices de la especie *Eisenia Andrei* se adquirieron de los receptáculos de cría de la Empresa de Suministros Agropecuarios (GELMA) y se trasladaron hasta el laboratorio en contenedores apropiados para ese fin. Las lombrices se mantuvieron durante una semana en adaptación bajo condiciones controladas de temperatura de  $22 \pm 2$  °C y humedad relativa del 57 %. Se alimentaron con estiércol vacuno.

Para el ensayo se prepararon recipientes de cristal de 250 mL con papel de filtro Whatman N° 1 en la base, se añadieron 4 ml de cada una de las concentraciones y agua destilada para los controles, se colocaron cuidadosamente 2 lombrices adultas con presencia de clitelo (abultamiento en el cuerpo que constituye la estructura reproductiva). (Tabla 1) Se incubaron en oscuridad por 72 h a  $22 \pm 2$  °C. Se prepararon 3 réplicas para cada concentración y el control. El ensayo es válido si la mortalidad del control no excede el 10 % (figura 2).

**Tabla 1.** Resumen de las condiciones del bioensayo agudo en papel de filtro empleando la lombriz de tierra (*Eisenia andrei*)

Parámetros	Condiciones
Temperatura	$22 \pm 1$ °C
Tipo de luz	Sin iluminación
Fotoperiodo	24 h de oscuridad
Envases prueba	Frascos de vidrio de 250 ml con discos de papel Whatman N° 1 de 6 cm
Volumen de exposición	4 mL
N° de organismos por envase	2
N° de réplica por concentración	3
Duración del bioensayo	72 horas
Tipo de ensayo	Estático sin renovación
Efecto medido	Mortalidad (organismos en el fondo del envase sin evidencia de movimiento), CL <sub>50</sub>
Parámetros físico - químico	Temperatura, pH

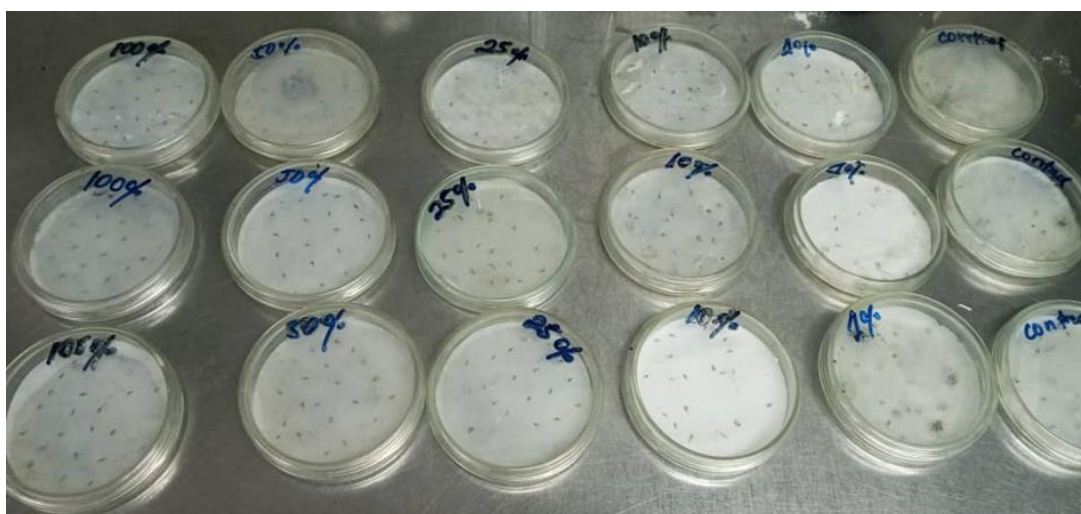


*Fig. 2. Ensayo con la lombriz de tierra en papel de filtro.*

### **Preparación del ensayo con las semillas de lechuga**

Las semillas de lechuga (figura 1, B) utilizadas presentan más de un 95% de probabilidad de germinación, se adquirieron en una tienda estatal (Consultorio Agropecuario) que comercializa diferentes productos y materias primas para su uso en la agricultura y ganadería. Se prepararon las placas Petri con papel de filtro Whatman N<sup>o</sup>1, se le añadieron 4 mL de cada dilución y para los controles agua destilada. El ensayo es válido si no se presentan anomalías graves dentro del control, las réplicas del blanco no deben presentar una inhibición mayor que el 10 % (Romero, 2014).

Con la ayuda de una pinza se colocaron cuidadosamente 20 semillas. En esta operación se aseguró espacio suficiente entre las semillas para permitir la elongación de las raíces. Las placas se incubaron envueltas en papel metálico para evitar la pérdida de humedad y la entrada de la luz, por un período de 120 horas (5 días) a una temperatura de  $22 \pm 2$  °C y humedad del 57 % (tabla 2, figura 3).



*Fig. 3. Ensayo con las semillas*



La evaluación final de los efectos tóxicos se determinó por la mortalidad (efecto letal) y la CL<sub>50</sub> de la fase de sólidos suspendidos del fluido y se calculó con el programa estadístico Statgraphics Centurion XV. versión 15.2.05 de uso libre, según el método Probit. Los valores obtenidos se compararon con el criterio de toxicidad establecido por CFR vigente, donde se considera una sustancia tóxica cuando el valor de CL<sub>50</sub> es inferior al 3 %.

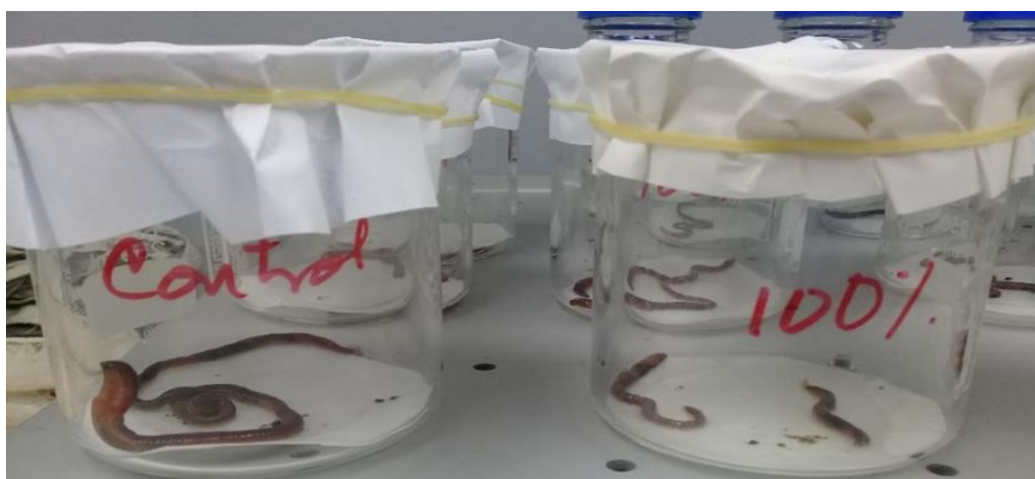
**Tabla 2.** Resumen de condiciones de bioensayo agudo empleando las semillas de lechuga (*Lactuca sativa*)

Parámetros	Condiciones
Temperatura	22 ± 2°C
Tipo de luz	Sin iluminación
Fotoperiodo	24 h de oscuridad
Envases prueba	Placas Petri con discos de papel Whatman N <sup>o</sup> 1 de 6 cm de diámetro
Volumen de exposición	4 mL
N <sup>o</sup> de semillas por réplica	20
N <sup>o</sup> de réplica por concentración	3
Agua de dilución	Agua destilada
Duración del bioensayo	120 horas
Tipo de ensayo	Estático sin renovación
Efecto medido	Inhibición de la germinación, CL <sub>50</sub>

## RESULTADOS

### Bioensayo con la lombriz de tierra en papel de filtro

Se logró la supervivencia y adaptación a las condiciones del laboratorio de las lombrices colectadas. En el control no hubo mortalidad por lo que se considera válido el ensayo. A medida que las concentraciones aumentan el efecto letal aumenta proporcionalmente. Al 50 y 100 % de concentración del fluido la mortalidad fue general (figura 4, tabla 3).

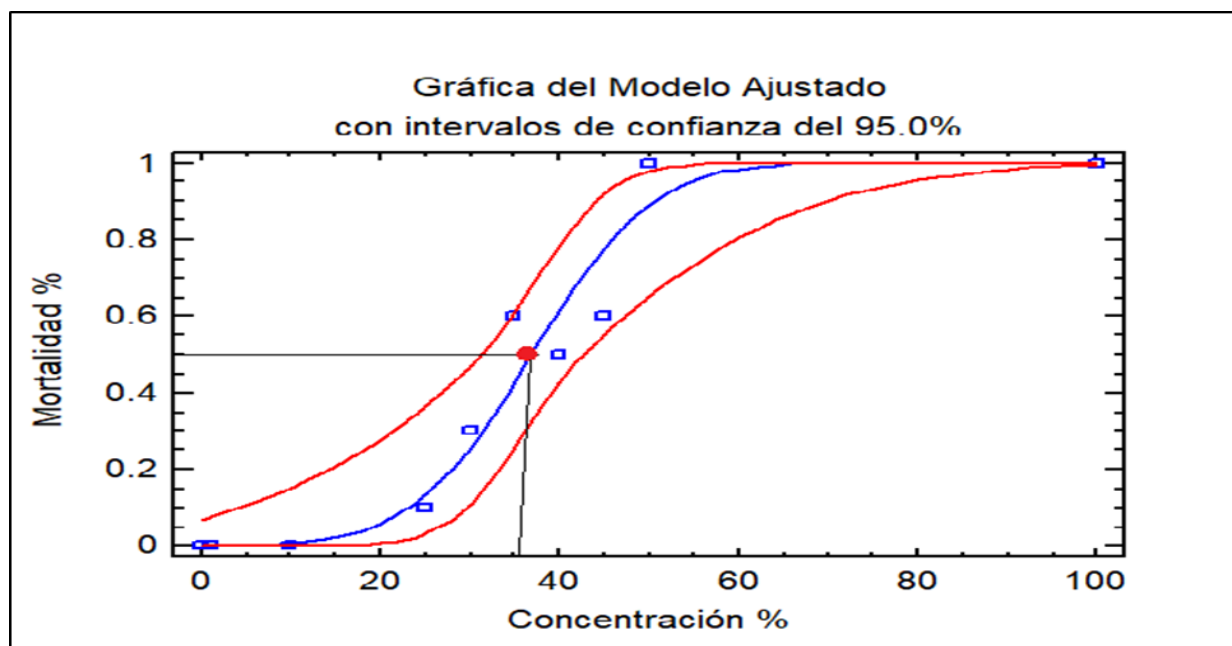


**Fig 4.** Ensayo con lombrices, controles y fluido al 100%

**Tabla 3.** Efectos letales sobre las lombrices expuestas al fluido de perforación.

Concentración del fluido	Lombrices expuestas	muerres	% mortalidad
100	6	6	100
50	6	6	100
45	6	4	66
40	6	3	50
35	6	4	66
30	6	2	33
25	6	1	16
10	6	0	0
1	6	0	0
0	6	0	0

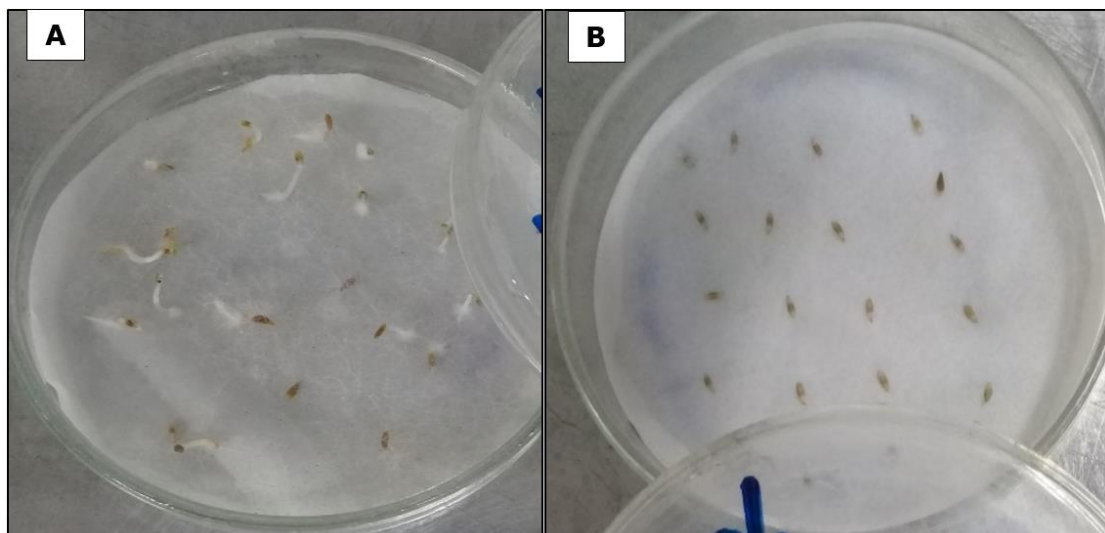
Según se muestra en el gráfico dosis-efecto, la  $CL_{50}$  calculada mediante el análisis estadístico según el método Probit es de 36.95 %. Este valor obtenido supera el 3 %, lo que se reporta como no tóxico para la biota terrestre según los códigos CFR vigentes (figura 5).



*Fig. 5.* Gráfico dosis-efecto para el fluido en el ensayo con lombrices.

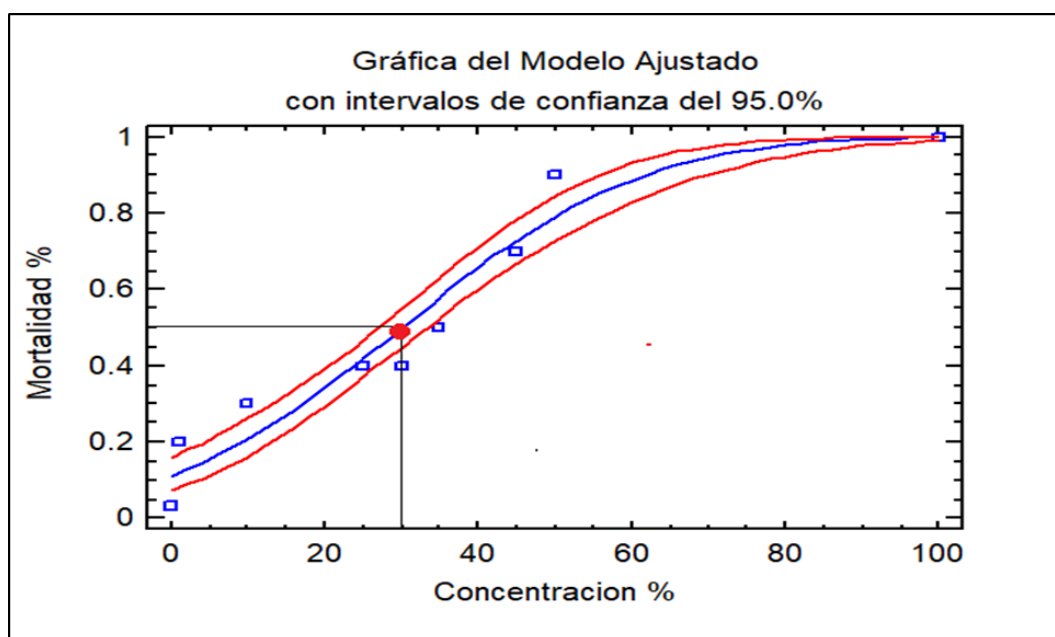
### Bioensayo con las semillas de lechuga

Al término de la incubación se realizó el conteo de las semillas no germinadas (efecto letal) para cada concentración. El control reportó una mortalidad menor que el 10 % por lo que el bioensayo se considera válido (Acosta y Romero, 2015). La mortalidad fue aumentando proporcionalmente con la concentración del fluido, al 100% la mortalidad fue completa (figura 6).



*Fig. 6. Ensayo con semillas (A) control y (B) fluido al 100%.*

Según se muestra en el gráfico (figura 7, tabla 4), la  $CL_{50}$  calculada fue de 30.1 %, este valor supera el 3 %, lo que se reporta como no tóxico para la biota terrestre según los códigos CFR vigentes. Como el valor-P del análisis de desviaciones es menor que 0.05, existe una relación estadísticamente significativa entre las variables, con un nivel de confianza del 95.0 %.



*Fig. 7. Gráfico dosis-efecto para el fluido en el bioensayo con semillas*

El valor de la  $CL_{50}$  de este ensayo resultó menor que la reportada en el ensayo con las lombrices (*Eisenia andrei*) por lo que se infiere que las semillas de lechuga (*Lactuca sativa*) presentan ligeramente mayor sensibilidad al producto probado, lo cual evidencia su potencial como bioindicador de contaminación.

**Tabla 4.** Efectos letales sobre las semillas expuestas al fluido de perforación

Concentración del fluido	semillas expuestas	Muertes (no germinación)	% mortalidad
100	60	60	100
50	60	59	98
45	60	42	70
35	60	31	51
30	60	29	48
25	60	29	48
10	60	22	36
1	60	14	23
0	60	2	3

El fluido base agua analizado no resulto toxico a los bioindicadores utilizados, según los valores calculados de la  $CL_{50}$  estos fueron superiores al 3 %, lo que constituye un dato importante en aras de tomar decisiones en cuanto a su uso y disposición final de los residuos. Los ensayos toxicológicos a productos y desechos de la industria petrolera utilizando especies terrestres proporciona información sobre posibles peligros potenciales a los ecosistemas.

Desde la década de los 80, los lodos sintéticos base agua se tornaron cruciales para el éxito de las perforaciones, debido a su reducido impacto ambiental y al aumento de la eficiencia del proceso de perforación. A partir de la primera vez que estos fluidos fueron usados, a principios de la década de los 90, los investigadores se han dedicado a mejorar los sistemas no tóxicos, desarrollando así nuevos productos y sistemas de fluidos de perforación para regular los materiales tóxicos y no biodegradables, como polímeros, polímeros naturales y polímeros naturalmente modificados (Ortiz, 2016).

### CONCLUSIONES

El fluido de perforación base agua ensayado no es tóxico según los valores calculados de la  $CL_{50}$  para ambos ensayos toxicológicos utilizando bioindicadores terrestres, al comparar estos valores con los CFR vigentes. Estos resultados apoyan el uso de este fluido en la exploración petrolera en cuba sin daños al ecosistema terrestre.

### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Acosta Diaz, S., y Romero Silva, R. 2015. Ensayos Eco-toxicológicos utilizando lombrices y semillas de lechuga, Proyecto 7084. Etapa 03, Editorial Centro de Investigación del Petróleo (CEINPET), pp.1-32.
- Código Federal de Regulaciones de los Estados Unidos de Norteamérica (CFR) 2006. Protección del Medio Ambiente part. 435. Extracción de Petróleo y Gas. subpart a apendix 2. Pruebas de toxicidad para fluidos de perforación.
- Díaz Rodríguez Y., Acosta Díaz S, Díaz Díaz M., Rivas Trasancos, Cañete C., Romero Silva R. 2022. Evaluación de la toxicidad y biodegradabilidad de un fluido base agua para su disposición final. Rev. Ing Hidráulica y Ambiental. vol.43 no.1 La Habana. Cuba.
- EPA. 2011. Analytic methods for the oil and gas extraction point source category. <http://water.epa.gov/SciTech/methods/cwa/upload/oilandgas2012.pdf>. 15/08/2014.
- StatPoint Inc. (2007), "Statgraphics Centurion XV. Versión 15.2.05, Ed. Multilingue, extraído de: [www.statgraphics.com](http://www.statgraphics.com). USA.
- OECD 208: 2006. Seedling Emergence and Seeding Growth Tests.



- Ortiz Valbuena M. 2016. Manejo ambiental de la disposición final de los fluidos base agua utilizados en la perforación de algunos pozos petroleros en Colombia. Fundación Universidad de América. Facultad de educación permanente y avanzada especialización en gestión ambiental Bogotá D.C. Monografía para optar por el título de especialista en gestión ambiental.
- Romero Silva. R., Acosta Díaz S. 2014. Elaboración de procedimientos de trabajo para la realización de los bioensayos con larvas de camarones, algas marinas, semillas de lechugas y lombrices de tierra a productos y desechos peligrosos tratados, de la industria petrolera. Proyecto 7084. Etapa 02. Centro de Investigación del Petróleo.

*En este artículo no existen conflicto de interes entre los autores.*