

Artículo Científico

# Aplicación en campo de la biorremediación mejorada a cortes de perforación contaminados con diésel

Field application of enhanced bioremediation to drilling cuttings contaminated with diesel

Yuletsis Díaz Rodríguez<sup>1\*</sup>, Roberto Romero Silva<sup>1</sup>, Danai Hernández Hernández<sup>1</sup>, Claudia Chao Reyes<sup>1</sup>, Carlos C. Cañete Pérez<sup>1</sup> y Silvia Acosta Díaz<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro de Investigación del Petróleo. Churruca #481, Cerro, La Habana, Cuba

\*Correspondencia: [yuletsis@ceinpet.cupet.cu](mailto:yuletsis@ceinpet.cupet.cu) (Yuletsis Díaz Rodríguez)

DOI: <https://doi.org/10.54167/tch.v17i1.1146>

Recibido: 20 de enero de 2023; Aceptado: 18 de abril de 2023

Publicado por la Universidad Autónoma de Chihuahua, a través de la Dirección de Investigación y Posgrado

## Resumen

El manejo inadecuado de residuos peligrosos generados por la industria petrolera constituye mundialmente un problema de contaminación de suelos. Las estrategias cubanas actuales para incrementar la producción de hidrocarburos, introducen residuos como cortes de perforación contaminados con diésel, lo que requiere nuevas medidas para una adecuada gestión ambiental, no disponible hasta el momento. Basado en experiencias existentes sobre biorremediación en Cuba, se pretende reducir la carga contaminante de estos cortes. Como propósito se tiene, evaluar un proceso de biorremediación mejorada, con acondicionadores orgánicos, a cortes de perforación contaminados con diésel para su manejo y disposición final. El proceso se desarrolló a escala de campo empleando el método de bioestimulación. El seguimiento analítico se realizó mediante la medición de grasas y aceites, hidrocarburos totales según normas establecidas. La actividad microbiana se evaluó mediante la respirometría en suelos, con crecimiento exponencial entre 90 y 150 días. En la aplicación se logró una remoción superior al 70 % de los contaminantes y disminución del contenido de aromáticos en un 61 %. Además, no hubo toxicidad para la biota terrestre en el suelo tratado. El tratamiento por biorremediación mejorada de estos residuos es beneficiosa para su manejo y puede disminuir el impacto al medio ambiente.

**Palabras clave:** residuos peligrosos, bioestimulación, landfarming, toxicidad de suelos.

## Abstract

Inadequate management of hazardous waste generated by the oil industry is a worldwide problem of soil contamination. The current Cuban strategies to increase the production of hydrocarbons introduce residues such as drilling cuttings contaminated with diesel, which requires new measures

for adequate environmental management, not available up to now. Based on existing experiences on bioremediation in Cuba, it's intended to reduce the polluting load of these cuts. The purpose is to evaluate an improved bioremediation process, with organic conditioners, to drilling cuts contaminated with diesel for its handling and final disposal. The process was developed on a field scale using the biostimulation method. Analytical monitoring was carried out by measuring fats and oils, total hydrocarbons according to established standards. Microbial activity was evaluated by respirometry in soils, with exponential growth between 90 and 150 days. In the application, a removal of more than 70 % of the contaminants was achieved and a reduction of the aromatic content by 61 %. Furthermore, there was no toxicity to terrestrial biota in the treated soil. The improved bioremediation treatment of these residues is beneficial for their management and can reduce the impact on the environment.

**Keywords:** hazardous waste, bioestimulation, landfarming, soil toxicity.

## 1. Introducción

Los cortes de perforación petrolera son aquellos fragmentos de rocas que se obtienen de dicho proceso y están constituidos por minerales de las formaciones perforadas y otros compuestos, además están impregnados con fluidos o lodos de perforación. Dichos fluidos se clasifican teniendo en cuenta la composición del lodo lo que define la función y rendimiento del mismo (Fink, 2021). En particular los lodos base aceite presentan como base continua o externa el petróleo crudo o derivados, lo que resulta de gran utilidad en casos de zonas productoras con problemas de estabilidad de pozos por arcillas sensibles y perforación de pozos profundos a altas temperaturas (Ramírez, 2014). Ante estas ventajas funcionales y otras, hay varias operadoras que prefieren utilizar los lodos base aceite, aunque su utilización implique un alto costo económico (Oseh *et al.*, 2019). En adición a esto, el aceite diésel que se utiliza presenta un contenido de hidrocarburos aromáticos de un 30 %, lo que resulta peligroso para la salud humana y el medio ambiente. De ahí que en la actualidad muchas compañías optan por el uso de aceite mineral, que tiene menos afectaciones (contiene menos del 10 % en contenido de compuestos aromáticos) aunque costos más elevados para llegar a un equilibrio entre la operación, costos y protección del medio ambiente (Davarpanah *et al.*, 2018).

Actualmente en Cuba se aplican nuevos métodos no explorados como es la perforación con fluidos base aceite diésel debido a la complejidad tecnológica que presentaron los últimos pozos perforados en el área de Varadero Oeste. Al respecto el país se ubica en la élite mundial en los pozos horizontales de largo alcance con el pozo más extenso perforado en Cuba bajo estas condiciones, con una longitud de más de ocho kilómetros (de Jesús, 2017). Todo ello en función de extender los horizontes petroleros mediante la perforación direccional pero limitado al uso de fluidos base aceite diésel de más fácil adquisición que los ecológicos.

Por otro lado, estas nuevas estrategias para incrementar la producción de hidrocarburos, introducen residuos sólidos como los cortes de perforación base aceite diésel, lo que requiere nuevas medidas para su manejo y disposición adecuado, no disponibles hasta el momento. Así mismo la acumulación de grandes volúmenes de estos residuos peligrosos en Cuba pudiera constituir un problema de contaminación de suelos y agua.

Actualmente existen diversas tecnologías enfocadas en el tratamiento de cortes de perforación, las cuales se clasifican en procesos físico, químicos, térmicos (Davaranah *et al.*, 2018; Fink, 2021) y biológicos (Brutti *et al.*, 2018; Rivera-Ortiz *et al.*, 2018; Kebede *et al.*, 2021). Los últimos son recomendados con frecuencia y se informa que la biorremediación permite reducir la carga contaminante de los residuos a partir de la capacidad degradadora de los microorganismos endógenos. Este proceso usualmente requiere el empleo de varias especies de microorganismos, de modo que se favorezca la metabolización simultánea de los diversos compuestos que forman el petróleo y no a un limitado intervalo de hidrocarburos que puede metabolizar una sola especie (Brutti *et al.*, 2018).

En Cuba existe experiencia práctica acerca del manejo de suelos contaminados con hidrocarburos, destacándose acciones de biorremediación para el manejo de los residuos sólidos petrolizados generados por la limpieza de tanques de almacenamiento (Romero *et al.*, 2016), con resultados prometedores en el desarrollo de la técnica de landfarming. En este sentido se aplica fundamentalmente la bioestimulación para mejorar las cargas de nitrógeno y fósforo necesarias para el proceso.

En el caso de residuos más recalcitrantes como los cortes de perforación contaminados con lodo base diésel, para el tratamiento y disposición final en el medio ambiente, resulta necesario partir de las experiencias en la realización de ensayos de tratabilidad a escala de laboratorio (Romero *et al.*, 2019a; Romero *et al.*, 2019b). Sobre la base de lo expuesto se requiere una posterior aplicación a escala de campo de esta tecnología. De ahí que, si se logra disminuir la concentración de hidrocarburos de este residuo hasta 1 % mediante la aplicación del proceso de biorremediación, es posible el manejo y disposición final de los mismos en las empresas de perforación y extracción de petróleo pertenecientes a la Unión Cuba Petróleo. Por tal motivo la presente investigación se propone aplicar el proceso de biorremediación mejorada en campo a cortes de perforación contaminados con lodos base diésel.

## 2. Materiales y Métodos

### 2.1 Montaje del proceso

El proceso de biorremediación se aplicó según la técnica de landfarming y el método de bioestimulación. Para llevar a cabo la aplicación se utilizó un área aledaña al pozo en explotación (*ex situ*), ubicado en la zona de Varadero Oeste, de la provincia Matanzas, Cuba. El área, con dimensiones de 33 x 33 m, se compactó en el fondo con serpentinita azul rocosa para evitar la lixiviación del residuo a tratar. Posteriormente se añadió el suelo capa vegetal hasta una altura de 0,5 m.

Los residuos tratados fueron cortes de perforación impregnados con lodo base combustible diésel provenientes de la piscina de almacenamiento temporal, ubicada en el mismo pozo. Se tomaron 50 m<sup>3</sup> de cortes de perforación y se mezclaron con tierra capa vegetal en una relación 1:2, para un total de 150 m<sup>3</sup> de suelo contaminado. Posteriormente se agregaron 24 m<sup>3</sup> de lodo activo, 9 m<sup>3</sup> de paja de arroz seca como acondicionador orgánico y 0,3 m<sup>3</sup> de urea realizando una fertilización al boleó. El lodo proviene de la Estación de Depuración de Aguas Residuales (EDAR) "La Concha y Chapelín",

pertenecientes a la sucursal Aguas Varadero. La paja de arroz seca fue suministrada por un productor agrícola no estatal, de la provincia Mayabeque.



**Figura 1.** Ejecución del proceso. De izquierda a derecha: Adición de los cortes, lodo activo, urea y mezclado del suelo

**Figure 1.** Process execution: from left to right: Addition of the cuts, active sludge, urea and soil mixing

En el caso de la paja de arroz se distribuyó manualmente para mejorar la homogenización posterior, con el equipo de movimiento de tierra. El proceso se desarrolló a temperatura ambiente dada las condiciones climáticas de Cuba en los meses de primavera, donde se garantiza la temperatura entre 10 y 47°C según se recomienda para estos procesos (Instituto Nacional de Normalización, NC-819, 2017).

## 2.2 Caracterización y seguimiento analítico del proceso

El suelo capa vegetal, lodo activo y el corte de perforación contaminado con diésel se caracterizaron previamente como línea base y para conocer su aporte al proceso. Para el seguimiento analítico del tratamiento se tomaron muestras compósito, mediante el sistema de las circunferencias concéntricas según establece la norma cubana NC-37 (Instituto Nacional de Normalización, 1999); en tiempos de 0, 45, 90, 150, 200 y 250 días. A dichas muestras se le realizó una homogenización previa y se tomó una muestra representativa para su análisis fisicoquímico y microbiológico, según los métodos que se muestran en la tabla 1.

La evaluación de la actividad microbiana en el suelo se determinó mediante la respiración aeróbica de los microorganismos en el mismo, según el método de respirometría en campo descrito por Salazar, (2009). Dicho método determina el oxígeno consumido y la liberación de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>). La medición se llevó a cabo por 18 horas con el uso de un recipiente que contiene una solución de hidróxido de potasio 0,1 N cubierto por otro de mayor tamaño, que presionado hacia el fondo del suelo evita el contacto con el medio exterior. El CO<sub>2</sub> liberado por la actividad biológica queda adsorbido en la solución y posteriormente se determinó por método volumétrico con ácido clorhídrico 0,1 N. El ensayo respirométrico se ejecutó al inicio del proceso de biorremediación y en los muestreos correspondientes a los tiempos 150, 200 y 250 días del tratamiento. La producción de CO<sub>2</sub> en el tiempo se evaluó estadísticamente mediante el análisis de varianza (ANOVA) y las pruebas de múltiples rangos por el método de Duncan, con el programa estadístico Statgraphics Centurion XV. versión 15.2.05 de uso libre (StatPoint Inc. 2007).

**Tabla 1.** Métodos de ensayos**Table 1.** Test methods

Ensayo	Métodos y Normas
Grasas Y Aceites (G y A)	
Hidrocarburos Totales (HCT)	Gravimétrico, APHA-5520 (American Public Health Association, 2017)
Saturados, Aromáticos, Resinas y Asfaltenos (SARA)	EPA-3540 C (Environmental Protection Agency, 1996)
pH	NC-32 (Instituto Nacional de Normalización, 2009)
Conductividad eléctrica (CE)	
Conteo de microorganismos totales (CMOT)	Conteo en placa, ISO IS-5188 (International Organization for Standardization, 2012)
Microorganismos Degradadores de Hidrocarburos (CMDH)*	*MBH Medium ( <i>Modified Bushnell and Hass Salt solution</i> ), (Wyndham et al., 1981)
Nitrógeno Total (N <sub>T</sub> )	ISO-11261 (International Organization for Standardization, 2017)
Fósforo Total (P <sub>T</sub> )	ISO-11263: (International Organization for Standardization, 1994)

Además, se calcularon las tasas de biodegradación según la siguiente expresión:

$$TB = \frac{C_i - C_f}{C_i} \quad \text{Ec. (1)}$$

Donde:

*TB*: tasa de biodegradación (%)

*C<sub>i</sub>*: Concentración inicial de G y A e HCT (mg kg<sup>-1</sup>).

*C<sub>f</sub>*: Concentración final de G y A e HCT (mg kg<sup>-1</sup>).

La ecotoxicidad del suelo tratado se evaluó una vez que el contenido de HCT, G y A fue igual al 1 %, lo que se especifica en la normativa cubana de referencia NC-819 (Instituto Nacional de Normalización, 2017), en función de su disposición final al medio ambiente. Los bioensayos se realizaron según los protocolos establecidos en el CEINPET (Acosta y Romero, 2014). En tal caso se utilizaron como bioindicadores las semillas de tomate (*Solanum lycopersicum*), con un 90 % de probabilidad de germinación y certificación aprobada para su uso; y lombrices de tierra de la especie *Eisenia andrei*. El bioensayo con semillas de tomate se realizó en placas Petri empleando 50 g de suelo tratado. En cada placa Petri se colocaron 10 semillas, asegurando espacio suficiente para permitir la elongación de las raíces. Las placas se cubrieron con bolsas plásticas negras para evitar la pérdida de humedad y la entrada de luz e incubaron a 35°C durante un período de 120 horas. En el ensayo con la lombriz de tierra se utilizaron 10 organismos en 200 g de suelo tratado y se incubaron a temperatura ambiente por 14 días. En cada prueba se incluyó un control con suelo limpio y dos réplicas para cada caso. Para determinar el efecto tóxico del suelo tratado se calculó la concentración letal media (CL<sub>50</sub>), que se refiere a la concentración estimada que produce una mortalidad (o no

germinación) del 50 % del bioindicador expuesto durante la experimentación. En caso de existir una mortalidad superior al 50 % se considera que el suelo tratado es tóxico.

### 3. Resultados y discusión

En la caracterización inicial del residuo se evidencian niveles de concentración de G y A (8,4 %) e HCT (3,9 %) significativos lo que es consecuente con la procedencia y características del mismo (tabla 2). Dichos valores sobrepasan la concentración máxima admisible para disposición final de residuos petrolizados según la normativa vigente NC-819 (Instituto Nacional de Normalización, 2017). El suelo y lodo activo presentaron concentraciones muy bajas de estos compuestos lo que puede estar asociado a otros componentes orgánicos aportados por la materia orgánica y trazas de otros residuos presentes en cada material. Esto último puede ser beneficioso para el proceso ya que influye favorablemente en la biota exhibida en los mismos, pues utilizan esta fuente de carbono y se encuentran adaptadas a dichos sustratos (Koshlaf and Ball, 2017). Tal situación se confirmó por el contenido de microorganismos degradadores de hidrocarburos y totales presentes en cada una de las muestras estudiadas. Las concentraciones se consideran propicias para la aplicación de biotratamientos, según la normativa cubana NC-819 (Instituto Nacional de Normalización, 2017). La relación C/N no se encontró acorde a lo recomendado en la literatura de ahí el suplemento del proceso con la paja de arroz y la urea.

**Tabla 2.** Características físico-químicas y microbiológicas

**Table 2.** Physico-chemical and microbiological characteristics

Muestra	G y A	HCT	pH	CE <sup>(a)</sup>	N <sub>T</sub>	P <sub>T</sub>	CMDH <sup>(b)</sup>	CMOT <sup>(c)</sup>
	(mg.kg <sup>-1</sup> )			mScm <sup>-1</sup>	%		UFC.g <sup>-1</sup> (d)	
Suelo capa vegetal	1170 (0,1 %)	350 (0,03 %)	8,13	0,3	4,28	8,52	2,6·10 <sup>8</sup>	2,9·10 <sup>10</sup>
Lodo activo de EDAR <sup>(e)</sup>	3630 (0,4 %)	740 (0,07 %)	6,95	3,17	7,92	3,16	3,7·10 <sup>9</sup>	2,4·10 <sup>10</sup>
Corte de perforación contaminado con diésel	83710 (8,4 %)	38930 (3,9 %)	8,11	0,6	38,18	24,33	7,5·10 <sup>7</sup>	2,5·10 <sup>9</sup>
NC-819, 2017 <sup>(f)</sup>	10 000 mg kg <sup>-1</sup> (1 %)		6-8	-	-	-	10 <sup>3</sup> -10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup> -10 <sup>5</sup>

(a) Conductividad Eléctrica

(b) Conteo de Microorganismos Degradadores de Hidrocarburos

(c) Conteo de Microorganismos Totales

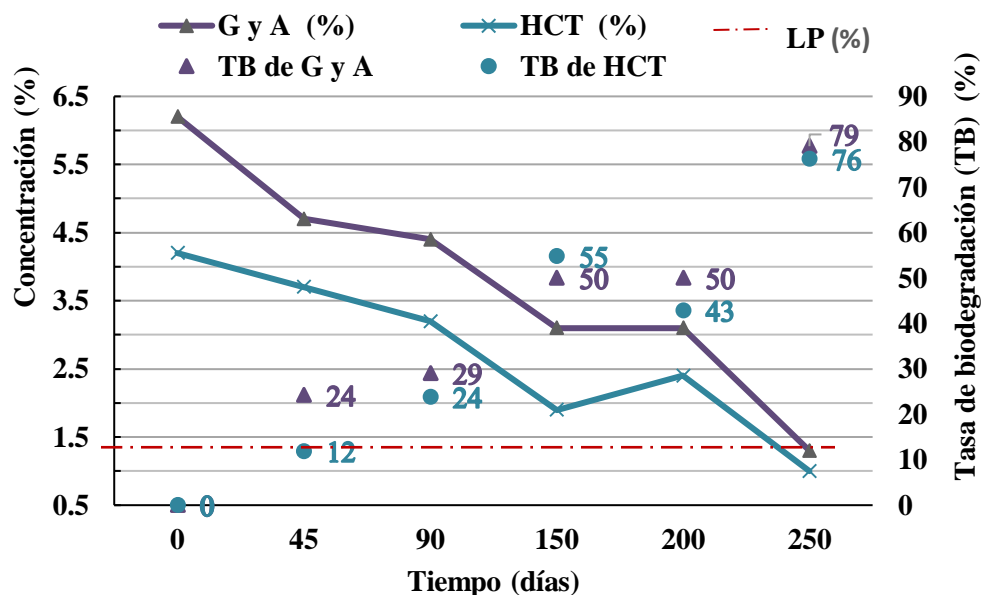
(d) Unidades formadoras de colonias por g de suelo o residuo

(e) Estación de Depuración de Aguas Residuales

(f) Concentración máxima admisible para disposición final de desechos en el manejo de fondaje de tanques de almacenamiento de petróleo y sus derivados

- No se especifica en la norma

En el seguimiento analítico del proceso se obtuvieron resultados que permitieron evaluar la efectividad del proceso de biodegradación en el tiempo con una disminución sostenida de la concentración de grasas, aceites e hidrocarburos totales (G y A e HCT) (Fig. 2). Los datos se asociaron a la actividad de aireación realizada solamente en los tiempos de 0, 90 y 200 días, debido a dificultades logísticas con el equipamiento.



**Figura. 2.** Degradación de los índices de contaminación del suelo.

**Figure. 2.** Degradation of soil contamination indices.

Donde: límite permisible (LP)

Los efectos sugieren la ocurrencia del proceso de biodegradación, lo que se refleja en una tasa de degradación del 50 % para G y A y 55 % para HCT, en 150 días. Así mismo se observa una pendiente de la curva superior en los 90 y 200 días que coincide con las aireaciones mecánicas realizadas lo que indica una biodegradación mayor bajo estas condiciones. Tal situación corresponde con lo que se informa en la literatura sobre el carácter indispensable de la aireación o disponibilidad de oxígeno para estimular a los microorganismos en el proceso de degradación (Kebede *et al.*, 2021). No obstante, dichos resultados difieren de los alcanzados a escala de banco con la utilización de acondicionadores orgánicos (bagazo de caña y paja de arroz), donde se obtuvieron tasas de remoción de G y A similares (54 %) pero en un tiempo de 90 días (Romero-Silva *et al.*, 2019a), inferior al evaluado en campo.

En los 250 días se alcanzaron disminuciones del contenido de G y A e HCT hasta valores de 1,3 % y 1 %, respectivamente. En particular las G y A no alcanzaron el límite permisible (LP) para la disposición final del suelo tratado según la normativa de referencia utilizada (Instituto Nacional de Normalización, 2017), aunque se encontró bastante cercano. De cualquier modo, se obtuvieron tasas de biodegradación final de 72 % para G y A y 73 % para HCT, en los 250 días evaluados.

Por otro lado, Rivera *et al.*, (2018) obtuvieron una remoción de HCT del 58 % en la biorremediación de suelos contaminados con cortes de perforación por un período de 180 días sin adición de nutrientes a escala de banco. Sin embargo, en las pruebas realizadas con adición de nutrientes se mostraron mejores resultados alcanzando un 85 % de remoción correspondiente a la disminución de la concentración de HC desde 25000 hasta 3586 mg kg<sup>-1</sup>. Tales resultados difieren de los obtenidos en este estudio donde la concentración inicial de HCT en la mezcla de suelo y corte de perforación contaminado con diésel fue superior; y aunque solo se alcanzó una remoción del 55 % de HCT la concentración disminuyó de 42194 hasta 18649 mg kg<sup>-1</sup> en 150 días, que es un tiempo similar al realizado por esos autores.

El crecimiento microbiano durante todo el proceso fue superior a 10<sup>7</sup> lo que se manifiesta en un nivel favorable para llevar a cabo estos procesos según recomienda la normativa de referencia NC 819 (Instituto Nacional de Normalización, 2017) (Fig. 3.), aunque se potencia con la aireación realizada después de los 90 días, fundamentalmente para los microorganismos degradadores de hidrocarburos. En la literatura se informa que la degradación de hidrocarburos por bacterias aerobias requiere inicialmente la introducción de oxígeno en la molécula para la oxidación del mismo, lo que permite una mayor disponibilidad de los productos de las reacciones de oxigenación y que sean más solubles en agua para ser atacados en reacciones posteriores de deshidratación e hidroxilación (Kebede *et al.*, 2021). Dicha biodegradación estará influenciada por la versatilidad metabólica que posean las bacterias presentes y la acción cooperativa de la población mixta (Brutti *et al.*, 2018). El análisis respirométrico se corresponde con lo dicho anteriormente y manifiesta que aun con la disminución del desarrollo de los microorganismos, estos se mantienen degradando los compuestos hidrocarbonados. El análisis de varianza demostró que existe una diferencia estadísticamente significativa de la media de producción de CO<sub>2</sub> entre un nivel de tiempo y otro con un nivel de confianza del 95 %. Según la prueba de múltiples rangos las diferencias marcadas se encontraron entre los tiempos 0-150 y 150-250 días. Tal situación sugiere que entre los 90 y 150 días los microorganismos demandaron una mayor cantidad de oxígeno para realizar sus procesos metabólicos y consecuentemente alcanzar su fase de crecimiento exponencial.

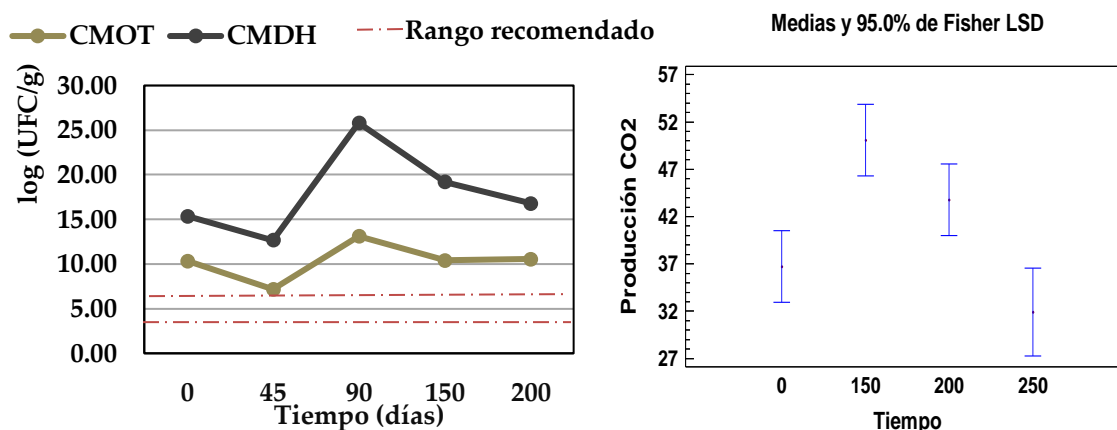


Fig. 3. Seguimiento del desarrollo microbiano en el proceso.

Fig. 3. Monitoring of microbial development in the process.



La disminución acontecida después de los 150 días pudo estar influenciada en mayor medida por la humedad relativa del suelo contaminado ya que se encontró en entre 11 y 17 %, cuando el requerimiento se encuentra en el rango de 60-80% de la capacidad del campo (Instituto Nacional de Normalización, 2017). De cualquier modo, queda demostrada la viabilidad de los microorganismos degradadores de hidrocarburos por la biodegradación de los contaminantes verificada.

La cuantificación individual al inicio del proceso de los compuestos del petróleo (SARA) muestra las elevadas concentraciones de hidrocarburos saturados (S) y aromáticos (A), así como de resinas (R) y asfaltenos (A); siendo estas últimas las fracciones que constituyen los compuestos más difíciles de degradar por los microorganismos (Fernández *et al.*, 2008). Los resultados obtenidos (Fig. 4) permiten afirmar que existe la biodegradación de la fracción de hidrocarburos con marcada disminución del contenido de aromáticos para una tasa de biodegradación del 61 % en los primeros 150 días.

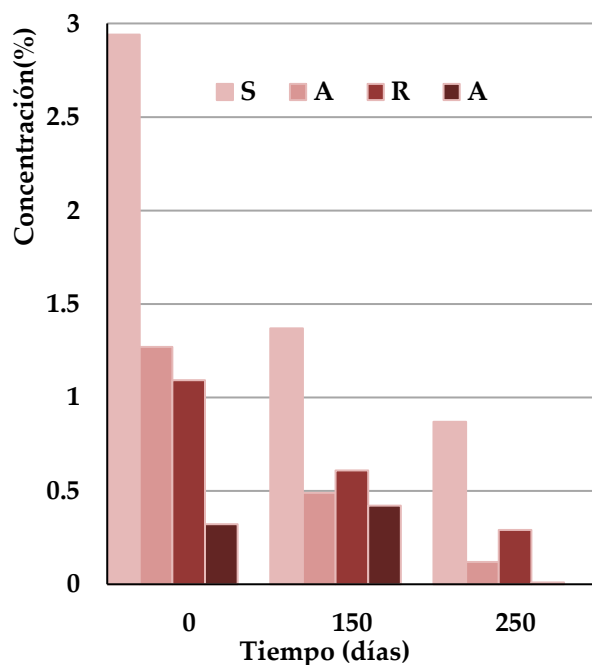


Fig. 4. Cuantificación de las fracciones de hidrocarburo.

Fig. 4. Quantification of hydrocarbon fractions.

Igualmente se degradan las resinas, asfaltenos y saturados en orden decreciente lo que corresponde con la complejidad de cada compuesto. En el caso de los asfaltenos por ser más recalcitrantes se mantienen sin indicios de degradación hasta los 150 días, aunque al término del tratamiento se alcanzó una notable disminución de los mismos a 84 mg kg<sup>-1</sup> de los 3250 mg kg<sup>-1</sup> que se cuantificaron inicialmente.

Así mismo, según las condiciones en el proceso, referidas a las dificultades de aireación, sugieren que además del desarrollo de bacterias aerobias pueden existir zonas donde se presente el crecimiento de bacterias del tipo anaerobias facultativas. Estas están acondicionadas para atacar

moléculas más grandes, como las resinas y los asfaltenos, ya que su metabolismo les permite soportar este tipo de gasto energético (Fernández *et al.*, 2008).

En el ensayo de toxicidad aguda con lombrices de tierra para el suelo tratado no se obtuvo mortalidad para un total de 30 organismos expuestos (Fig. 5). Este resultado indica que el suelo tratado no presenta toxicidad y puede disponerse finalmente, pues no representa ningún riesgo para el eslabón de la cadena alimenticia de invertebrados, los cuales resultan un componente imprescindible de la biodiversidad y la transformación de la materia orgánica del suelo (FAO, 1996).



**Fig. 5.** Bioensayo con lombrices: de izquierda a derecha; control del ensayo y suelo tratado.

**Fig. 5.** Bioassay with earthworms: from left to right; test control and treated soil

Los resultados del ensayo de toxicidad aguda realizado con semillas de tomate fueron válidos para una mortalidad en el control menor del 10 % (Tabla 3).

**Tabla 3.** Ensayo de toxicidad con semillas de tomate

**Table 3.** Toxicity test with tomato seeds

Muestra	Concentración HCT (%)	Semillas expuestas (unidad)	Semillas no germinadas	Mortalidad (%)
Control	0	30	2	7
Suelo tratado	1	30	4	14

La toxicidad aguda o letal se estima a través de la concentración media a la cual se produce más del 50 % de inhibición de la germinación de las semillas (CL50) debido al efecto tóxico en la muestra evaluada. Bajo este criterio no fue posible determinar la CL50 ya que no se registró inhibición de la germinación en un porcentaje superior al 50 % pues no tiene una relación estadísticamente significativa en un nivel de confianza del 95 % o mayor (Fig. 6), con la concentración de grasas, aceites

e hidrocarburos totales en el suelo tratado, por lo que se considera no existe toxicidad alguna. En la literatura se informa que los suelos con mayor capacidad de intercambio, materia orgánica o contenido de arcilla, exhiben mayor adsorción del hidrocarburo, y consecuentemente menor efecto tóxico sobre el ecosistema (Infante y Morales, 2012). Tal es el caso del suelo utilizado en el proceso, procedente de la llanura de Matanzas, los cuales se clasifican como arcillosos y húmicos (Hernández-Jiménez *et al.*, 2019); además de las características de los cortes de perforación.

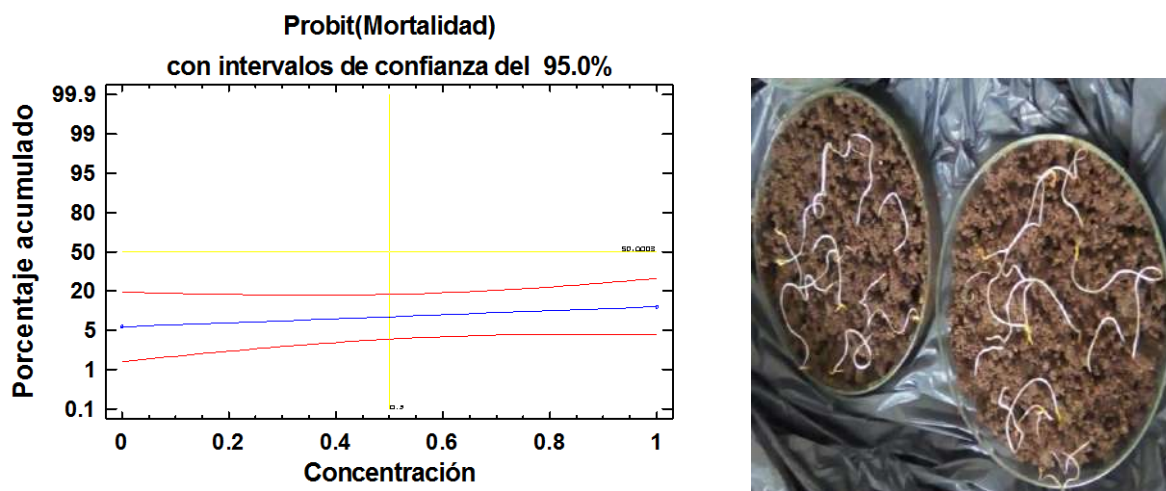


Fig. 6. Modelo ajustado del análisis Probit para bioensayo con semillas de tomate: de izquierda a derecha; control del ensayo y suelo tratado

Fig. 6. Probit analysis fitted model for bioassay with tomato seeds: from left to right; test control and treated soil

Infante y Morales, (2012) también informan que una gran cantidad de muestras de ripios de perforación contaminados con crudo presentan contenidos de aceites y grasas superior al 1 % que regula la norma, alcanzando hasta valores de 8,7 % (m/m) inclusive, sin que se observe toxicidad alguna con el tipo de bioensayo empleado. Por el contrario, el grado de contaminación y toxicidad del corte de perforación tratado en la aplicación actual es superior, lo que quedó demostrado en estudios anteriores donde se evaluó su toxicidad con valores de  $CL_{50}$  de 1 % de corte húmedo para una no germinación del 57 % de las semillas y mortalidad del 100 % de las semillas en todas las concentraciones de corte seco (Romero *et al.*, 2017). Posterior al tratamiento en cuestión es posible cumplir con la regulación para disposición final del residuo y además eliminar los efectos tóxicos debido a la presencia del contaminante.

Los resultados de la investigación responden a las necesidades actuales de la industria petrolera de manejar y disponer, de forma segura y amigable con el medio ambiente, desechos peligrosos de este tipo según la Resolución 253, (CITMA, 2022). Además, se corresponde con el cierre del ciclo productivo sobre el trabajo actual, en Cuba, acerca de la extensión de los horizontes petroleros mediante la perforación de pozos de terminación horizontal o direccionales, de extrema complejidad tecnológica donde se aplican métodos no explorados como es la utilización de este tipo de fluido. De este modo se mitigan los impactos negativos medioambientales y a la salud humana de estos

residuos generados por las empresas perforadoras de la Unión CubaPetróleo (CUPET). Así mismo, el hecho de que pueda llevarse a cabo en el lugar cercano a donde se genera el residuo, favorece la eliminación de los costos de transporte y formación de pasivos ambientales. De este modo se mantiene activo el proceso industrial mientras el proceso de biorremediación se está aplicando.

Todas las acciones que se ejecuten a favor de la preservación del medio ambiente tienen un impacto a largo plazo en la sociedad. En este sentido resulta imprescindible mejorar la eficiencia del proceso garantizando una humedad del suelo y aireación periódica que estimule los procesos de biodegradación de los contaminantes.

## 4. Conclusiones

Los cortes de perforación contaminados con lodo base combustible diésel presentaron una concentración de hidrocarburos de 3,9 % que no permite su disposición final segura, pero presenta una biota favorable para la aplicación de biotratamientos en su manejo.

El proceso de biorremediación mejorada aplicado a escala de campo evidenció una remoción de hidrocarburos totales en el orden de los 10 000 mg kg<sup>-1</sup> (1 %) que cumple con lo regulado para una disposición segura en el medio ambiente; no siendo así para las grasas y aceites (1,3 %) que se encontraron en valores cercanos al 1 % reglamentado.

El análisis toxicológico del suelo tratado demostró que los niveles de contaminación presentes no son tóxicos para la biota terrestre.

Con tales resultados se corrobora que el tratamiento por biorremediación mejorada de este tipo de residuos puede ser una alternativa beneficiosa para su manejo en las inmediaciones de las áreas donde se generan y minimiza la potencialidad del impacto al medio ambiente.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existen conflictos de interés, en la publicación de estos resultados.

## 5. Referencias

- Acosta S. & R. Romero. 2014. Ensayos toxicológicos para productos y desechos peligrosos tratados de la industria petrolera: 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 Reporte técnico RT: Proyecto 9010, Ed. Centro de Investigación del Petróleo (CEINPET), La Habana, Cuba.
- American Public Health Association (APHA). (2017). APHA 5520-G. "Standard Methods for the examination of water and wastewater." 21 ed. American Public Health Association (APHA). Washington DC, USA. 2005. 5-42 pp.

- Brutti, L., M. Beltrán & I. García. 2018. Biorremediación de recursos naturales. Ministerio de Agroindustria, Presidencia de la Nación. (pp. 137-171). INTA/Eds. ISBN 978-987-521-911-3 <https://inta.gob.ar/documentos/biorremediacion-de-los-recursos-naturales>
- CITMA/Ed. 2022. Resolución 253- Reglamento para el manejo de los productos químicos peligrosos de uso industrial, de consumo de la población y de los desechos peligrosos. Ed. Ministerio de Ciencia Tecnología y Medio Ambiente (CITMA), Gaceta Oficial de la República de Cuba, GOC-2022-17-02, 1289-1303pp.
- Davarpanah, A., A. Razmjoo & B. Mirshekari. 2018. An overview of management, recycling and wasting disposal in the drilling operation of oil and gas wells in Iran. Cogent Environmental Science 4(1):1537066. <https://doi.org/10.1080/23311843.2018.1537066>
- De Jesús, V. 2017 La pauta de los pozos horizontales. <http://www.granma.cu/cuba/2017-02-09/la-pauta-de-los-pozos-horizontales-09-02-2017-19-02-12>
- Environmental Protection Agency (E.P.A.) EPA-3540C. Soxhlet Extraction, in Test Methods for Evaluating Solid Waste, Physical/Chemical Methods. 1996: United States.
- FAO. 1996. Ecología y enseñanza rural. Nociones ambientales básicas para profesores rurales y extensionistas Tema 6: Los animales. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). <https://www.fao.org/3/w1309s/w1309s00.htm>
- Fernández, C., M. Llobregat, B. Jiménez, V. Altomare & H. Labrador. 2008. Biodegradación de asfaltos y resinas por microorganismos presentes en suelo contaminado con hidrocarburo. Rev. Fac. Ing. Universidad Central de Venezuela. 23(4): 7-15. <https://bit.ly/3otOodv>
- Fink, J. (Ed.) 2021. Petroleum engineer's guide to oil field chemicals and fluids. (Third Ed.). Gulf Professional Publishing, Elsevier. 1061 p. ISBN: 9780323854382
- Hernández-Jiménez, A., J. Pérez-Jiménez, D. Bosch-Infante & N. Castro-Speck. 2019. La clasificación de suelos de Cuba: énfasis en la versión de 2015. Cultivos Tropicales 40(1). [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0258-59362019000100015](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362019000100015)
- Infante, C. & F. Morales. 2012. Evaluación de la toxicidad en desechos y suelos petrolizados empleando semillas de *Lactuca sativa* L. Interciencia, 37(10): 782-788. <https://bit.ly/3mT1alk>
- Instituto Nacional de Normalización. 1999. Norma Cubana NC-37 Calidad del Suelo. Requisitos Generales para la toma de muestras, Cuban National Bureau of Standards, Cuba.
- Instituto Nacional de Normalización. 2009. Norma Cubana NC-32 Calidad del suelo. Determinación del pH y la conductividad eléctrica en el extracto de saturación, Cuban National Bureau of Standards, Cuba.
- Instituto Nacional de Normalización. 2017. Norma Cubana NC-819 Manejo de fondaje de tanques de almacenamiento de petróleo y sus derivados. Oficina Nacional de Normalización (NC), Cuban National Bureau of Standards La Habana, Cuba.

- International Organization for Standardization (ISO). 2012. International Standard ISO IS-15188 Water Quality-General guidance on the enumeration of microorganisms by culture. Adopted by Bureau Indian Standards, New Delhi, India.
- International Organization for Standardization. 1994. International Standard ISO-11263 Soil quality - Determination of phosphorus -- Spectrometric determination of phosphorus soluble in sodium hydrogen carbonate solution. Geneva, Switzerland.
- International Organization for Standardization. 2017. International Standard ISO-11261 Soil quality - Determination of total nitrogen - Modified Kjeldahl method. Geneva, Switzerland.
- Kebede, G., T. Tafese, E.M. Abda, M. Kamaraj & F. Assefa. 2021. Factors Influencing the Bacterial Biorremediation of hidrocarbons contaminants in the soil: mechanisms and impacts. Hindawi Journal of Chemistry 2021: 9823362. <https://doi.org/10.1155/2021/9823362>
- Koshlaf, E. & A. S. Ball. 2017. Soil bioremediation approaches for petroleum hydrocarbon polluted environments. AIMS Microbiol. 3(1):25-49. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2017.1.25>
- Oseh, J., M.N.A. Mohd Norddin, I. Ismail, A. R. Ismail, A. O. Gbadamosi, A. Agi. & S. O. Ogiriki, 2019. Investigating almond seed oil as potential biodiesel-based drilling mud. Journal of Petroleum Science and Engineering, 181. 106201. <https://doi.org/10.1016/j.petrol.2019.106201>
- Ramírez, O. 2014. Manejo, clasificación y disposición de residuos peligrosos (cortes de perforación base aceite) en plataformas petroleras. (Tesis de Licenciatura) Universidad Nacional Autónoma de México. <https://repositorio.unam.mx/contenidos/145402>
- Rivera-Ortiz, P., J. E. Rivera-Lárraga, E. Andrade-Limas, L. Heyer-Rodríguez, F. R. De la Garza-Requena & B. I. Castro-Meza. 2018. Bioestimulación y biorremediación de recortes de perforación contaminados con hidrocarburos. Revista Internacional de Contaminación Ambiental (RICA). 34(2): 249-262. <https://doi.org/10.20937/RICA.2018.34.02.06>
- Romero, R., Sánchez, C. y D. Rangel. 2016. Biorremediación a lodos petrolizados generados de la limpieza de tanques. Cub@: Medio Ambiente y Desarrollo. Agencia de Medio Ambiente. 16(30): 1-8. <http://cmad.ama.cu/index.php/cmاد/article/view/226>
- Romero, R., S. Acosta, F. González, L. González & R.M. García. 2017. Evaluación de tratamientos como alternativas de manejo y disposición final de residuos sólidos de lodo base aceite: en Evaluación eco-toxicológica de fluidos y ripios de perforación, base aceite (combustible diésel). Centro de Investigación del Petróleo (CEINPET): Proyecto 9018, Etapa 3. La Habana, Cuba.
- Romero, R., D. Salazar, F. González, C. C. Cañete, Y. Navarro, L. Rivas, Y. Díaz & Z. Marquetti. 2019a. Tratamiento a cortes de perforación contaminados con diésel utilizando un producto natural. Infomin 11:1-8. <https://www.infomin.co.cu/index.php/i/article/view/118/pdf>
- Romero, R., A. Sánchez, Y. Díaz, R.A. Batista, D. Hernández & J. Tabullo. 2019b. Bioremediation of soils contaminated with petroleum solid wastes and drill cuttings by *Pleurotus* sp. under different treatment scales. SN Appl. Sci. 1:1209. <https://doi.org/10.1007/s42452-019-1236-3>
- Salazar, J. E. 2009. La respirometría de suelos. <http://www.arkeaslab.com/articulos/respirometria.html>

StatPoint Inc. 2007. Statgraphics Centurion XV. versión 15.2.05, Ed. Multilingue. USA.  
[www.statgraphics.com](http://www.statgraphics.com)

Wyndham, R. C. & J. W. Costerton. 1981. Heterotrophic Potentials and Hydrocarbon, Biodegradation Potentials of Sediment Microorganisms Within the Athabasca Oil Sands Deposit. *Appl. Environ. Microbiol.* 41(3): 783-790. <https://doi.org/10.1128/aem.41.3.783-790.1981>

2023 TECNOCENCIA CHIHUAHUA

Esta obra está bajo la Licencia Creative Commons Atribución No Comercial 4.0 Internacional.



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>