

DETERMINACION DE LA TOXICIDAD EN DISPERSANTES DE PETRÓLEO MEDIANTE BIOENSAYOS PARA CALCULAR EL CL₅₀

Por:

Francisco Villamar (1)

Maria Elena Tapia (1)

ABSTRACT

We have gotten concentrations between 1.36 and 52.88 ppm, these values represent the rank of the Median Lethal Concentration (50%) of mortality and we considerate as the maxim and minimum values of the oil dispersants for the specie Tetraselmis sp. of phytoplankton, microorganism that correspond the first link of chain trofic marine and stuarine.

It was determinated the exponential tendence and the less and hight critics values of the concentrations CL₅₀, for make up the toxicid scale: 1 to 10 ppm toxic moderate; 11 to 30 ppm toxic media and 31 to 60 toxic loze.

Since 1990, the Institute Oceanographic of the Ecuadorian Navy has been realized 60 toxic bioassays of the oil dispersants with the finallity to determinate the CL₅₀, and give us to controlate the toxic grade of the differents kinds detergents sustances that are available in the oil spill in the differents areas such as sea, stuary and rivers.

RESUMEN

Se han determinado concentraciones entre 1.36 y 52.88 ppm, rangos que representan la Concentración Letal Media del 50% de mortalidad considerados como valores máximos y mínimos de los dispersantes de petróleo analizados, para los organismos del fitoplancton marino Tetraselmis sp., microorganismos que corresponden al primer eslabón de la cadena trófica marina-estuarina.

Asimismo, se determinó la tendencia exponencial y valores críticos de menor a mayor concentración de los valores del CL₅₀, para confeccionar la escala de toxicidad: de 1 a 10 ppm moderada toxicidad, de 11 a 30 ppm mediana toxicidad y de 31 a 60 de baja toxicidad.

Desde el año 1990 hasta el 2003, en el Instituto Oceanográfico de la Armada del Ecuador se han realizado 60 bioensayos de toxicidad de dispersantes de petróleo con el objetivo de determinar la CL₅₀ y de esta forma controlar el grado de toxicidad de las sustancias detergentes que son utilizadas en los derrames de petróleo ocurridos en el mar, estuarios y ríos.

INTRODUCCIÓN

La primera Reunión Intergubernamental del Plan de Acción para la protección del medio marino costero del Pacífico en julio de 1983 aprobó, entre otros, el programa de caracterización y vigilancia de la contaminación marina en áreas ecológicamente sensibles que incluyó un componente de evaluación de los efectos de la contaminación sobre los organismos marinos y sus poblaciones. Por lo tanto evaluar los efectos potenciales de los dispersantes de petróleo sobre el ambiente costero marino constituye una parte

importante del proceso de desarrollo y control regulativo de estas sustancias químicas. Este proceso es necesario para estar seguros de que los dispersantes que se utilizan normalmente disminuyan el riesgo toxicológico para el ambiente marino. Mediante este control se asegura la protección ambiental del ecosistema marino estuarino de manera que en el futuro se pueda seguir utilizando dispersantes de petróleo en forma controlada.

Los dispersantes químicos facilitan la

dispersión del petróleo en forma natural, rompiendo la película de aceite más rápidamente; disminuyen la tensión superficial entre el petróleo y el agua, acelerando así la ruptura de la mancha de petróleo y el movimiento natural del agua terminará el proceso con el rompimiento del petróleo en pequeñas partículas que se mezclan con el agua por debajo de la superficie (Texas A&M University-Corpus Christi.- 1999).

Conceptualmente los bioensayos se definen como una prueba en la cual un tejido vivo, organismo o grupo de organismos, son usados como reactivos para la determinación de la fuerza de alguna sustancia fisiológicamente activa (Bellan, 1981).

La relación entre la concentración de un contaminante y el porcentaje de respuesta de un grupo de organismos de igual especie al que se le ha suministrado o ha sido expuesto a él, se conoce como dosis - respuesta y corresponde a un modelo sigmoideo. Este tipo de experimentación se ha centrado en la estimación de la Concentración Letal Media (CL₅₀), que significa el cincuenta por ciento de organismos muertos en un tiempo determinado.

ANTECEDENTES

En el Ecuador en esta última década ha sido necesario realizar bioensayos para determinar el grado de toxicidad de los diferentes dispersantes de petróleo mediante observaciones en vivo a través de la obtención de la Concentración Letal Media (CL₅₀), para evaluar la seguridad o nocividad de un producto químico en el ambiente y la aceptabilidad del riesgo que puede ser prospectiva o predictiva antes de su ingreso al medio marino o estuarino.

En primer lugar debemos mencionar que existen tres tipos de dispersantes disponibles en el mercado: los concentrados, los productos de base solventes y los de base - agua; siendo este último el que se utilizó durante el accidente del "Torrey Canyon" en Inglaterra y que ahora se encuentra en desuso debido a la baja eficiencia de dispersión con respecto a otros productos.

Existen agentes recolectores que actúan como una barrera química de contención, confinando al petróleo a un área pequeña, permitiendo así recolectarlo fácilmente por sistemas mecánicos de recuperación o materiales absorbentes. Este agente recolector está compuesto por un activo superficial (solvente), base de los hidrocarburos que controlan la fuerza de expansión. Entre ellos podemos citar al Corexit OC-5 utilizado muy frecuentemente para la protección de las playas, generalmente se aplica en la zona costera con el fin de evitar que el petróleo se adhiera a la arena, rocas u otros elementos, el mismo que es de baja toxicidad para los peces y otros organismos marinos. Otro agente es el Corexit 7664, que posee baja temperatura de ignición, de manera que tienen que tomarse precauciones para evitar la explosión del agente.

Los dispersantes solventes normalmente están hechos a base de hidrocarburos; son más eficientes que los de base - agua, para dispersar manchas delgadas de petróleo a bajas temperaturas. Se pueden aplicar a través de equipo manual, embarcaciones o aeronaves según la necesidad de protección. El Corexit 8667 depositado en el área en que puede dispersar este tipo de producto es limitada por su grado de toxicidad, por ejemplo en diques, muelles (en los puertos), playas arenosas y rocas, están absolutamente prohibidas. (Oil Spill Response and Safety, 1999).

Los dispersantes concentrados están hechos con una fórmula de auto-mezcla y es de alta concentración para cubrir la versatilidad en aplicación de cualquier derrame de petróleo en agua salada. Estos productos químicos son solubles en agua dulce y en solventes de hidrocarburos, pero no son completamente solubles en agua salada.

Recientemente han sido creados productos químicos dispersantes que son menos tóxicos, algunos de los cuales poseen un índice de letalidad en el intervalo de 1000 - 3000 ppm (partes por millón), obtenidos en bioensayos que determinan el CL₅₀ en 48 horas de exposición para matar el 50% de los organismos sometidos a esta prueba. Con

este nivel de toxicidad, es difícil que aparezcan efectos adversos para la vida marina cuando el dispersante es rociado sobre el petróleo que ha sido derramado en agua de cierta profundidad y con movimientos de mareas. (Texas A&M University-Corpus Christi.-1999.)

Los dispersantes aplicados en el accidente del "Torrey Canyon" fueron muy venenosos. El "BP 1002" fue el que más se usó, es un producto con el 12% de detergentes no iónico y 3% de estabilizadores en un solvente orgánico. La toxicidad del "BP 1002" para los organismos infralitorales (por debajo de las zonas de marea) es de 0.8 mg/l expresado como el CL₅₀ en 24 horas. En cambio la toxicidad para organismos intermareales es de 5 – 100 mg/l. En la práctica toda la vida marina resultó exterminada de las playas donde se aplicó el BP 1002. Por esta razón ya no se utilizan en la actualidad este tipo de dispersantes en zonas cercanas a la costa. (Oil Spill Response and Safety, 1999).

De conformidad con la Ley de Prevención y Control de la Contaminación Ambiental No. 2144 del Ministerio de Salud Pública del Ecuador (1989), se expide el reglamento para la prevención y control de la contaminación ambiental en lo relativo al recurso agua, razón por la cual se toma como referencia esta ley en donde se incluye valores de CL₅₀ de algunas sustancias consideradas peligrosas para la fauna y flora marina estuarina. Así como también en los cuerpos de agua del continente.

Investigaciones en el Ecuador sobre bioensayos de toxicidad en dispersantes de petróleo son pocas, entre ellas Villamar (1990), determinó el grado de toxicidad del BP-1100 (CL₅₀ = 4 y 5 ppm) con larvas de camarones (*Penaeus vannamei*), (Leong, J., 1983) utilizando el método estadístico de Bliss (Stora, 1974); más tarde Villamar (1996) analizó el mismo producto (BP-1100) y determinó el CL₅₀ = 2.08 ppm, utilizando organismos del fitoplancton marino (*Tetraselmis sp.*), (Guillard, 1975).

Ultimamente, Villamar (2002) realizó bioensayos de toxicidad con los sedimentos extraídos de los diferentes canales del Estero

Salado del Golfo de Guayaquil. En donde se efectuaron gráficos de distribución normal de los datos, homogeneidad de las varianzas, análisis de varianzas y pruebas de hipótesis, lo que permitió establecer nuevos rangos de toxicidad en el área de estudio. (PBS&J.-1999), (Stewart, 1975)

MATERIAL Y METODOS

Las sustancias analizadas fueron dispersantes de petróleo que se utilizan en el área marina, estuarinas o en ríos, proporcionados por diferentes proveedores desde los años 1990 hasta el 2003. Los bioensayos de toxicidad fueron de tipo estático para lo cual se utilizó un cultivo de microalga fitoplanctónica de la especie *Tetraselmis sp.* (Guillard, 1975)

Las técnicas aplicadas en los bioensayos son recomendadas por la Agencia de Protección del Medio Ambiente de los Estados Unidos (EPA, 1991), la Comisión Permanente del Pacífico Sur (Alcázar, F., 1988), la Agencia Internacional de Energía Atómica (IAEA, 1989) y el Programa Ambiental de las Naciones Unidas (UNEP, 1989).

El método estadístico aplicado a los resultados obtenidos con cada uno de los dispersantes de petróleo fue el de Bliss que se encuentra en Stora (1974), en el manual de FAO (1981), Bellan (1981) y Ramírez (1999). Todos los bioensayos se llevaron a cabo en el Instituto Oceanográfico de la Armada del Ecuador.

RESULTADOS

Se realizaron 60 bioensayos de toxicidad con dispersantes de petróleo (Tabla 1), para determinar la Concentración Letal media (CL₅₀), de esta forma se ha obtenido el grado de toxicidad de las sustancias detergentes utilizadas en los derrames de petróleo en el área marina, estuarios y ríos, desde el año 1990 hasta 2003.

Como resultado de toxicidad se obtuvieron concentraciones entre 1.36 y 52.88 partes por millón (ppm), valores que representan las

Concentraciones Letales Medias del 50% de mortalidad de los organismos utilizados (*Tetraselmis sp.*) (Fig. 2), de la misma manera se ha determinado la tendencia y valores críticos desde la menor a la mayor concentración de los valores del CL50, para conseguir de esta forma una escala de toxicidad que va desde 1 a 10 ppm de moderada toxicidad, de 11 a 30 ppm de mediana toxicidad y de 31 a 60 de baja toxicidad. (Fig. 1)

La mayor parte de los dispersantes analizados se encuentran con dosis de toxicidad moderada (entre 1 y 10 ppm), le siguen los de toxicidad mediana (entre 11 y 30 ppm) y muy pocos con toxicidad baja (entre 31 y 60 ppm), lo que significa que existe la posibilidad de encontrar entre los proveedores de dispersantes un mayor incremento de sustancias tóxicas, aunque algunos de ellos son productos tipo ecológico orientados a la limpieza de derrames de petróleo con características biodegradables constituidos por solventes no tóxicos seguros para la vida humana y de los animales, otros son derivados de aceite de corteza de cítricos, surfactantes de aceites vegetales y jabones obtenidos de la planta de coco, así como alcoholes naturales procedentes de la caña de azúcar. (Fig. 3) aplicadas por los países que han tenido problemas con derrames de petróleo y sus derivados como el accidente del "Torrey Canyon" (1967) en Inglaterra, "Sea Star" (1972) en el Golfo de Oman, el "Metula" (1974) en Chile, el "Hawaiian" (1977) en el Pacífico, "Amoco Cadiz" (1978) en Francia, "Ixtoc I" (1979) en México, el "Jéssica" (2001) en las Isla Galápagos, Ecuador.

DISCUSIÓN

Durante los bioensayos de los diferentes dispersantes de petróleo, además de comprobar su baja toxicidad, se pudo determinar también que éstas presentan cierta resistencia a la biodegradación. De tal forma que pueden ser utilizados en el medio acuático teniendo en cuenta ciertas recomendaciones para disminuir el riesgo ecotoxicológico tomando en consideración la descripción de las sustancias derivadas de agentes tóxicos. (Texas A&M University-

Corpus Chisti, 1999)

Algunas tendencias de toxicidad han sido observadas tanto para los dispersantes tradicionales como para los modernos, sin embargo está fuera de la intención de este trabajo realizar un análisis al respecto. No obstante se recomienda utilizar dispersantes de petróleo con CL50 no menor a una parte de millón (ppm) principalmente en áreas cercanas a las bocatomas de las piscinas para cultivo de camarones y peces, porque de acuerdo a Villamar (1996), determinó que estas sustancias químicas tienen efectos adversos a los organismos del primer eslabón de la cadena trófica (fitoplancton), efectos que pueden minimizarse mediante el uso adecuado del producto, utilizando concentraciones no mayores a las recomendadas o también en proporciones del dispersante por cada litro de agua de mar, para de esta manera proteger a los organismos fitoplanctónicos y zooplanctónicos (Villamar, 1990)

De las observaciones realizadas principalmente en la relación dosis respuesta de los dispersantes de petróleo en el ambiente marino, es frecuente la utilización de productos químicos tipo dispersantes, lo que nos indica que estas sustancias deben ser manipuladas por personal experto y con amplios conocimientos técnicos en el uso adecuado del dispersante y en el caso de no poseer el personal especializado, es recomendable el uso de productos adsorbentes naturales biodegradables. Otro aspecto que se debe tomar en cuenta es la profundidad del lugar donde se va a utilizar el dispersante, así como la deriva y la disgregación por efecto de la hidrólisis que reduce las concentraciones iniciales del dispersante en el agua.

Los resultados obtenidos son preliminares, aplicable únicamente para los dispersantes analizados, es necesario continuar con las observaciones para comprobar si el grado de toxicidad aquí determinado es similar a los que se realizan en otros países. No obstante es necesario que se determine el grado de toxicidad de los dispersantes de petróleo que obviamente son considerados como sustancias contaminantes, aún cuando no existe una opinión concluyente sobre la

toxicidad del petróleo, de las mezclas de hidrocarburos y dispersantes, faltando hacer mayor investigación para establecer los daños a la ecología de los ecosistemas marinos, causados por los dispersantes tóxicos en el agua de mar y zonas costeras.

CONCLUSIONES

Se ha comprobado que los dispersantes analizados se encuentran dentro de las concentraciones entre 1.36 y 52.88 partes por millón, posiblemente en dosis más altas.

Se concluye que la vida marina si resulta afectada principalmente en la zona costera intermareal aún en las más bajas concentraciones, pero en el mar abierto existen condiciones para que el derrame no cause daños significativos cuando se aplica el dispersante, aunque algunas etapas larvianas o huevos de peces y crustáceos son perjudicadas. Es importante establecer que solamente en aguas poco profundas los derrames de hidrocarburos pueden causar la mortalidad de peces adultos y otras formas de vida marina.

Si bien en la mayor parte de las investigaciones realizadas en los últimos años apuntan a determinar los efectos del petróleo sobre los organismos marinos (FAO,IAEA, 1989), también es necesario estudiar los efectos agudos ocasionados por los derrames de los derivados del petróleo principalmente en áreas sensibles o parques marinos (Texas A&M University-Corpus Chisti, 1999).

AGRADECIMIENTO

Los autores desean expresar su agradecimiento al Sr. Director del INOCAR CPNV Byron SanMiguel, al CPCB Jorge Cárdenas Amores Subdirector Científico, al Jefe del Departamento de Estudios Ambientales, al Biólogo Christian Naranjo por la traducción del resumen al inglés y al Químico Héctor Chaux por la lectura y sus acertadas observaciones al manuscrito de este artículo científico.

BIBLIOGRAFÍA

- Alcázar, F., 1988.** Documento guía del Curso Regional CPPS/PNUMA/COI, sobre Bioensayos y pruebas de toxicidad en organismos marinos del Pacífico Sureste. Cartagena. Colombia:162 p.
- Bellan, G., 1981.** Manual of Methods in Aquatic Environment Research. Part 7. Selected Bioassay for the Mediterranean (Tests Used by FAO (GFCM)/UNEP. Joint Coordinated Project on Pollution in the Mediterranean. Fish. Tech. Pap., (208):31.
- EPA, 1991.** Evaluation of Dredged Material Proposed for Ocean Disposal (Testin Manual). Environmental Protection Agency. Department of the Army. Washington, DC. EPA Contract No. 68-c8-0105: 1 - 53
- FAO, 1981.** Manual de métodos de investigación del medio ambiente acuático. Parte 4a. Bases para la elección de ensayos biológicos para evaluar la contaminación marina. FAO, Doc. Tec. PESCA. (164):34
- FAO, IAEA, 1989.-** Comparative toxicity test of water-accommodated fractions of oils and oil dispersants to marine organisms. Reference methods for marine pollution studies No. 45. United National Environment Programme: 21 p.
- FAO, UNEP, IAEA.- 1989.-** Estimation of acute lethal toxicity of pollutants to marine fish and invertebrates. Reference Methods for Marine Pollution Studies No. 43, United National Environment Programme: 27 p.
- Guillard, R.R.L. 1975.-** Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates, culture of marine invertebrate animals, plenum Pres New York.
- Leong, J., 1983.** bioassay system for studying diseases in juvenile Penaeid shimp. CRC Handbook of Mariculture. crustacean Aquaculture. Florida. 1:321-327.
- Moller, F. 1979.-** Manual of methods in aquatic environment research. Part 3. Statistical tests. FAO. Fish. Tech. Pap.,

(182):131

Ministerio de Salud Pública. 1989.- Ley de Prevención y control de la contaminación ambiental. Registro Oficial 204, Junio 5, No. 2144 : 7 – 23

PBS&J.- 1999. Estero Salado – Guayaquil Ship Channel Contaminant Assessment. Department of Fisheries and Allied Aquacultures. Auburn University, Auburn, Alabama. Doc. No. 990921. PBS&J job No. 440029. Cámara Nacional de Acuicultura. Guayaquil, Ecuador:

Pearson, E. y H. Hartley, 1958. *Biometrika tables for statisticians*. 1.London, Cambridge University Press, 2nd. ed:240 p.

Ramírez, A. 1999.- Pruebas de Toxicidad. Ecología aplicada. Diseño y análisis estadístico. Fundación Universidad de Bogotá Santa Fé de Bogotá. Editorial Alfonso Velasco Rojas. Capítulo 9: 239-258.

Stewart, N., 1975. *Methods for Acute Toxicity Tests with fish, Macroinvertebrates, and Amphibians*. National Water Quality NTS.PB: 242 - 105. Ecological Research. EPA 660/375 -009: 61

Stora, G. 1974.- Computation of Leta1 Concentrations. *Marine Pollution Bulletin*. 5 (5):69-71

Texas A&M University-Corpus Christi.- 1999.- Oil Spill Response & Safety. National Spill Control School. College of Science and Technology. The Island University:1- 66

Villamar, F. A. 1990. Bioensayo para calcular el CL50 del dispersante de petróleo BP 1100 con larvas de camarón *Penaeus vannamei*. *Acta Oceanográfica del Pacífico*. INOCAR, Ecuador 6 (1): 73 – 78.

Villamar, F. A. 1996. Bioensayo de toxicidad (CL50) del dispersante de petróleo BP 1100 con fitoplancton marino (*Tetraselmis* sp.). *Acta Oceanográfica del Pacífico*. INOCAR, Ecuador 8 (1): 67 - 73.

Villamar, F. A. 2002.- Aplicación estadística en los bioensayos de toxicidad con

sedimentos extraídos del Estero Salado, Canal de acceso al Puerto Marítimo de Guayaquil. Acta Oceanográfica del Pacífico. INOCAR, Ecuador 11 (1): 35-45

PRODUCTO	EMPRESA	FECHA	CL ₅₀ (ppm)
BP 1100	ROCHEM	Marzo/1990	2,08
BP 1100	ROCHEM	Marzo/1996	4,67
SEACARE ECOSPERSE	ROCHEM	Enero /1999	2,47
UNICLEAN OSD	UNISERVICE MARINE	Junio /1999	41,71
COREXIT 9500	FLUVIMAR	Junio /1999	9,86
PETROIL-REMOVER	PROQUIFAR	Junio /1999	10,36
BISOLVE	CIPROMASE	Junio /1999	9,39
ECODIS	UNISERVICIO MARINE	Julio /1999	46,98
OS-44	JMN SPECIALITIES, INC	Agosto /1999	52,88
ECO-CHEM	CHEMLOK DEL ECUADOR	Agosto /1999	23,43
DP-CHEMLOK	CHEMLOK DEL ECUADOR	Agosto /1999	9,29
HIDROX-OSP-D	QUIMICAMP	Septiembre/1999	6,12
SEACARE OSD	ROCHEM	Septiembre/1999	2,02
OIL SPILL REMOVER WSA	ROCHEM	Octubre/1999	1,36
DISPERSOIL	SPARTAN DEL ECUADOR	Enero /2000	2,41
DISPERSOIL	SPARTAN DEL ECUADOR	Febrero /2000	30
DISPERSIT SPC 1000	SPARTAN DEL ECUADOR	Junio /2000	36,14
DISPERSOIL	QUÍMICA PASILVA CIA. LTDA.	Julio /2000	3,1
QUIMICAMP	QUIMICAM DEL ECUADOR	Agosto /2000	30,39
DISPER-OIL	SHELL DEL ECUADOR	Octubre /2000	36,14
HVI 95	SHELL DEL ECUADOR	Octubre /2000	14,25
HVI 160 -B	SHELL DEL ECUADOR	Octubre /2000	3,89
HIDROX OSP.D	QUIMICAM DEL ECUADOR	Diciembre /2000	30,39
DISPER-OIL	ROALMAFE	Diciembre /2000	36,14
SEACARE O.S.D.	ROCHEM DEL ECUADOR S.A:	Febrero /2001	5,4
OIL SOIL REMOVER W.S.A.	ROCHEM DEL ECUADOR S.A:	Febrero /2001	2,27
SEACARE ECOSPERSE	ROCHEM DEL ECUADOR S:A:	Febrero /2001	3,9
BIOSOLVE	CIAPROMASE CIA - LTDA	Febrero /2001	23,4
DISPERSOIL	SPARTAN DEL ECUADOR	Febrero /2001	15,27
OIL SPILL REMOVER L.T.	ROCHEM DEL ECUADOR	Marzo /2001	3,42
G.Q.T.	GRUPO QUIMICO TORRES	Marzo /2001	15,12
DP - CHEM	CHEMLOK DEL ECUADOR	Marzo /2001	14,97
ECO - CHEM	CHEMLOK DEL ECUADOR	Marzo /2001	4,46
ECOLOGICAL PROTECT	QUIMISER	Abril /2001	5,15
DISPERSIT SPC 1000	POLYCHEM	Junio /2001	43,22
GPX - 3	SUF - COM. S.A.	Enero /2002	6,16
DISPERSOIL	SPARTAN DEL ECUADOR	Febrero /2002	4,31
EUROPETROLEUM	EUROXS S.A.	Febrero /2002	3,38
COREXIT 9500	GARNER	Marzo /2002	4,99
COREXIT 9527	GARNER	Marzo /2002	4,66
CRUCIAL O S - 44	GARNER	Marzo /2002	24,63
DISPERQUIM - OIL	ROTAGI SA.	Marzo /2002	2,78
OIL REMOVER LT	ROCHEM DEL ECUADOR	Enero/2003	11,88
TQ DISPER OIL	TESQUIMSA S.A.	Enero/2003	25,72
CR - PREMIUN	ESPOL	Febrero /2003	15,16
IECONSTA	PECS -CI	Febrero/2003	9,30
COREXIT 95-27	GARNER	Marzo/2003	6,40
PETRO CLEAN	GARNER	Marzo/2003	20,87
COREXIT 95-00	GARNER	Marzo/2003	4,33
MICRO-BRAZE	GARNER	Marzo/2003	4,95
OS-44	GARNER	Marzo/2003	27,27

TABLA 1.- Lista de los dispersantes de petróleo que se les ha determinado el grado de toxicidad, mediante el CL50 desde el año 1990 al 2003.

