

# Evaluación ecotoxicológica de aguas residuales petroleras tratadas mediante oxidación fotoquímica solar con *Poecilia reticulata*

Guillermo Centeno-Bordones<sup>1,\*</sup> , Henry Labrador-Sánchez<sup>2</sup> , Marjorie Arias-Bailey<sup>3</sup> , María F. González-Pacheco<sup>3</sup> , Guillermo Lara-Moreno<sup>3</sup>

- (1) Centro de Investigaciones en Ambiente, Biología y Química, Facultad Experimental de Ciencias y Tecnología de la Universidad de Carabobo, Valencia 2005, Venezuela.  
(2) Laboratorio de Petróleo, Hidrocarburos y Derivados (PHD), Dpto. de Química, Facultad Experimental de Ciencias y Tecnología de la Universidad de Carabobo, Valencia 2005, Venezuela.  
(3) Instituto de Tecnología Venezolana para el Petróleo, (PDVSA-Intevep), Los Teques 1201, Venezuela.

\*Autor de correspondencia: G. Centeno-Bordones [gcenteno1@uc.edu.ve]

> Recibido el 16 de octubre de 2021 - Aceptado el 17 de abril de 2022

**Como citar:** Centeno-Bordones, G., Labrador-Sánchez, H., Arias-Bailey, M., Gonzalez-Pacheco, M.F., Lara-Moreno, G 2022. Evaluación ecotoxicológica de aguas residuales petroleras tratadas mediante oxidación fotoquímica solar con *Poecilia reticulata*. *Ecosistemas* 31(2): 2308. <https://doi.org/10.7818/ECOS.2308>

## Evaluación ecotoxicológica de aguas residuales petroleras tratadas mediante oxidación fotoquímica solar con *Poecilia reticulata*

**Resumen:** Este trabajo tiene como propósito realizar la evaluación ecotoxicológica de un efluente acuoso de Petróleos de Venezuela S.A. (PDVSA) tratado con procesos de oxidación avanzada (POA) fotoquímico solar (fotoFenton-like y Fotocatálisis combinado). Se caracterizó la muestra de agua a través de mediciones como: pH, conductividad, Demanda Química de Oxígeno (DQO); hidrocarburos totales de petróleo (HTP), sulfuro, sulfatos y otros iones por Cromatografía Iónica (IC). Posteriormente, se identificaron las especies orgánicas e iones mediante Cromatografía de Gases Acoplada a Masa (GC-MS). Se realizó una simulación en el laboratorio de las condiciones del biorreactor de lodo activado de una planta de tratamiento de aguas residuales. Las pruebas ecotoxicológicas estáticas con *Poecilia reticulata* se realizaron tomando en cuenta la norma USEPA OPPTS 850.1075 (1996). Como resultado, al aplicar los POA con radiación solar, se obtuvo una reducción del 88.95% de la DQO y 100% para los HTP, así como una conversión de sulfuro a sulfato del 96.95%. La simulación del biorreactor en el laboratorio permitió valores de rendimiento del 88.89% y con la evaluación ecotoxicológica se obtuvo una LC50 de 0.26%. La combinación de los POA y la oxidación biológica redujo la materia orgánica en un 98.77% con un LC50 no calculable. Se concluye que con la combinación de las técnicas de POA y oxidación biológica se obtienen efluentes inocuos para los organismos acuáticos del ecosistema circundante.

**Palabras clave:** aguas residuales; indicadores biológicos; procesos de oxidación; toxicología ambiental

## Ecotoxicological evaluation of oil wastewaters treated by solar photochemical oxidation with *Poecilia reticulata*

**Abstract:** The purpose of this work is to carry out an ecotoxicological evaluation of an aqueous effluent from Petróleos de Venezuela S.A. (PDVSA) treated with solar photochemical advanced oxidation (AOP) processes (photoFenton-like and Photocatalysis combined). The water sample was characterized through measurements such as: pH, conductivity, Chemical Oxygen Demand (COD); total petroleum hydrocarbons (TPH), sulfur, sulfates and Ion Chromatography (IC) for other ions. Subsequently, the organic species and ions present in the sample were identified by Mass Coupled Gas Chromatography (GC-MS). A simulation was carried out in the laboratory of the conditions of the activated sludge bioreactor of a wastewater treatment plant. Static ecotoxicological tests with *Poecilia reticulata* were carried out taking into account the USEPA OPPTS 850.1075 (1996) standard. As results it was obtained that when applying the AOPs with solar radiation, a reduction of 88.95% of the COD and 100% for the TPH and a conversion of sulfide to sulfate of 96.95% was observed. The simulation of the bioreactor in the laboratory yielded yield values of 88.89% and the ecotoxicological test yielded an LC50 of 0.26%. The combination of AOPs and biological oxidation reduced organic matter by 98.77% with a non-calculable LC50. Therefore, it is concluded that with the combination of AOP and biological oxidation techniques, innocuous effluents are obtained for the aquatic organisms of the surrounding ecosystem.

**Keywords:** biological indicators; environmental toxicology; oxidation processes; wastewater

## Introducción

Los efluentes petroleros conocidos como aguas agrias o amargas se producen en las diferentes etapas del mejoramiento de crudos pesados (CP), extrapesados (XP) y en los procesos de refinación. El vapor de agua es utilizado en las refinерías como medio de despojo en diferentes procesos de mejora y aprovechamiento de crudos como: craqueo catalítico, coquificación retardada, viscorreducción o hidrotreatmento (Merlo et al. 2011; Castillo-Cu-

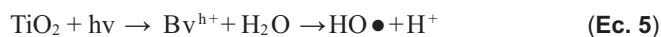
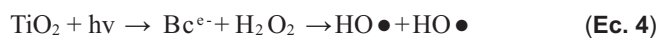
billos 2012). Estos efluentes generan un problema de envergadura para las plantas de tratamientos de aguas residuales, debido a que contienen compuestos que hacen que las aguas agrias sean una matriz compleja de azufrados orgánicos, nitrogenados, cetonas, compuestos aromáticos y alifáticos (Castillo-Cubillo 2012). Particularmente, la elevada Demanda Química de Oxígeno (DQO), la concentración de Hidrocarburos Totales de Petróleo (HTP) y una alta concentración de H<sub>2</sub>S disuelto le confieren a estas aguas sus características tóxicas.

En el tratamiento de efluentes petroleros se han utilizado Procesos de Oxidación Avanzada (POA) basados en la oxidación química o fotoquímica de contaminantes recalcitrantes, que involucran la generación y uso de compuestos químicos transitorios (radicales libres) formados principalmente a partir del átomo de oxígeno. El radical hidroxilo ( $\cdot\text{OH}$ ) es el más utilizado en los POA, debido a que presenta un gran poder oxidante por su elevado potencial óxido-reductor (2.80 V), el cual es sólo superado por el flúor (Clemente 2010; Centeno-Bordones y Jiménez 2018). Los POA son clasificados como oxidación química, cuando la reacción se realiza sin la presencia de radiación luminosa, a diferencia de los de tipo fotoquímicos, donde la reacción se lleva a cabo en presencia de radiación UV-Visible. Un ejemplo de estas reacciones, son: fotoFenton ( $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}/\text{UV}$ ), fotoFenton-like ( $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{3+}/\text{UV}$ ) y fotocatalisis ( $\text{TiO}_2$ ).

Las especies catalíticas como el óxido férrico, óxido de titanio y óxido de manganeso, son compuestos usados como catalizadores en los POA de tipo fotoquímico (Centeno-Bordones et al. 2020). Las sales de hierro en medio ácido forman  $\text{Fe}^{3+}$  que sufre foto-reducción a través de una transferencia de carga ligando-metal (LMCT) y los complejos intermediarios generados se disocian (Ecuación 1), produciendo  $\text{Fe}^{2+}$  y radicales libres (Ribeiro et al. 2015). El ligando puede ser cualquier base de Lewis capaz de formar un complejo con el ión férrico ( $\text{OH}^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{HO}_2^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{R-COO}^-$ ,  $\text{R-OH}$ ,  $\text{R-NH}_2$ ). Según cuál sea el ligando, el complejo férrico tiene diferentes propiedades de absorción de luz, y la reacción ocurre con diferentes rendimientos cuánticos (Ecuaciones 2 y 3), y a diferentes longitudes de onda. Cuando el ligando es agua se forma un acuocomplejo que permite la formación de radicales oxidrilo (Centeno-Bordones y Jiménez 2018).



Los fotocatalizadores heterogéneos son comúnmente semiconductores (sólidos tipo óxido en suspensión acuosa o gaseosa). Existen múltiples de estos fotosensibilizadores tales como:  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{ZnO}$ ,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ,  $\text{CuO}$ ,  $\text{MnO}$  y  $\text{TiO}_2$ , entre otros (Centeno-Bordones y Jiménez 2018). La fotocatalisis es un proceso que se basa en la absorción directa o indirecta de energía radiante por un sólido semiconductor de banda ancha, el cual una vez que absorbe energía un electrón de la banda de valencia ( $B_v$ ) salta a la banda de conducción ( $B_c$ ) generando un par electrón-hueco ( $e^-$   $h^+$ ) el cual modifica la velocidad de reacción química y genera radicales libres capaces de oxidar materia orgánica e inorgánica (Ecuaciones 4 y 5).



Para determinar el impacto que tienen los contaminantes complejos en los cuerpos de agua, se pueden aplicar dos enfoques: uno de especificidad química y otro basado en la toxicidad. En el primer caso, se realizan análisis químicos y los resultados se comparan con los valores umbrales o normativos. En el segundo caso, la toxicidad se mide directamente mediante pruebas biológicas (Argota-Pérez e Iannacone 2018), entre las que desatacan por su relevancia, los ensayos ecotoxicológicos. La toxicidad de los productos químicos o muestras ambientales se evalúan utilizando modelos biológicos estándares, a través del estrés físico, químico y biológico en los ecosistemas acuáticos y terrestres (Manfra et al. 2017), permitiendo determinar el efecto del contaminante a nivel de organismos y ecosistemas. En los ecosistemas acuáticos continentales, uno de los bioindicadores más utilizados para evaluar esos efectos es la *Poecilia reticulata*. Especie dulceacuícola muy utilizada en estudios de toxicidad debido a su capacidad de adaptación a las condiciones de laboratorio (Ogunfeitimi et al. 2021 (preprint)).

En los ambientes acuáticos, los compuestos tóxicos pueden influenciar los ciclos de vida de los organismos presentes; por contacto, los tóxicos pueden ser absorbidos y acumulados en los organismos (bioacumulación) ascendiendo así en la cadena trófica. La bioacumulación depende de la disponibilidad y persistencia de los contaminantes en el agua, dependiendo ello fundamentalmente de sus características físicas y químicas (Gómez-Manrique y Machado-Neto 2008; del Rosario et al. 2018).

Esta investigación tuvo como propósito la evaluación ecotoxicológica del tratamiento mediante POA de tipo fotoquímico solar de las aguas agrias de los CP y XP tratadas, en Petróleos de Venezuela S.A. (PDVSA), utilizando como organismo de ensayo *Poecilia reticulata*.

## Materiales y métodos

### Caracterización fisicoquímica del efluente tratado

La concentración de sulfuros en la muestra de aguas se midió utilizando la técnica de estandarización del  $\text{Na}_2\text{S}$  (Avantor VWR al 98%), bajo el procedimiento ASTM D 4658-03 (ASTM 2002). Así, el electrodo de trabajo utilizado fue selectivo a iones sulfuro (Thermo Scientific Orion silver/sulfide electrode), y para la determinación de sulfato se utilizó el método HACH 8051-SulfaVer4-Method USEPA 375.4 (EPA 2019).

El pH fue determinado a través de un pHmetro digital Orión 330 Thermo. La concentración de cloruros fue determinada mediante el método argentométrico de Mohr (Method 4500 Cl-B, descrito en Standard Methods (2018)). El análisis de materia orgánica se realizó mediante la DQO utilizando el método HACH DR2010 (HACH 2010) y la concentración de HTP, se estimó a través de la técnica de Fluorescencia Ultra Violeta (UVF) Sitalab: EDRO: 16 descrita por la EPA 8015C (EPA 2007).

Para la identificación de las especies orgánicas se aplicó un pre-tratamiento por microextracción en fase sólida (SUPELCO-SPME) con una columna C18 en fase reversa, activada con metanol p.a. (Merck). Luego se empleó una CG-MS bajo el método ASTM D5790-95 (ASTM 2018), de esta forma se manejó el ensayo normalizado para medidas de compuestos orgánicos purgables en agua por columna capilar. Se utilizó para el análisis un CG marca Agilent Technologies modelo 6890N, acoplado a detector selectivo de masas Agilent Technologies 5973. El cromatógrafo de gases estaba provisto de una columna DB-624(60 m x 0.32 mm) y las condiciones bajo las que se realizó la inyección fueron: 250 °C (temperatura de horno); 230 °C (temperatura de la fuente) y 150 °C (temperatura del detector). La identificación de los aniones se realizó mediante un IC Professional 850 de Metrohm con sistema de ultrafiltración, un detector de conductividad en supresión química secuencial y detector amperométrico de pulsos (PAD). Para la determinación de la concentración de cloruros se utilizó el procedimiento 4500-Cl- B (Standard Methods 2018).

### Simulación de un reactor biológico

Para este proceso se tomó una muestra de aguas agrias fototratadas, obtenida de las mejores condiciones (corrida 4 y 10) para la reducción de la DQO por POA, seguidamente se procedió a disminuir el pH hasta la neutralización con hidróxido de sodio ( $\text{NaOH}$ ) al 0.1 M (Sigma Aldrich). Para la simulación de la oxidación biológica se emplearon las proporciones de diseño efluente-lodos recomendada por Pulido (2014), y Amador-Díaz et al (2015), para ello se extrajo lodo activado del reactor biológico de la planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR) de PDVSA. De esta forma se pudo apreciar la reacción, que inició luego de mezclar homogéneamente las aguas agrias con lodo de la PTAR, manteniendo ésta en agitación magnética constante (SLHS-SI Analytics) por 24 h, en una fiola Pyrex de 500ml. Finalmente, el agua tratada fue filtrada (filtro de papel Whatman 0.45  $\mu\text{m}$ ) y medida la DQO.



## Ensayos ecotoxicológicos

La especie utilizada en los bioensayos fue *Poecilia reticulata*, debido a que es una especie endémica y de adaptabilidad a las condiciones de laboratorio. Los organismos proceden de una localidad circundante a PDVSA: la Quebrada La Virgen, en Los Teques-Estado Miranda, Venezuela ( $10^{\circ} 21' 00''$  de latitud N y a  $67^{\circ} 02' 30''$  de longitud O, a una altura de 1269 msnm). Debido al origen autóctono y salvaje, los peces podrían presentar diferentes respuestas en bioensayos ecotoxicológicos, por lo que previamente se evaluó la sensibilidad de los organismos con la prueba de dicromato de potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ) (Scharlau al 99 % de pureza) (Prieto et al. 2008; Rodríguez-Catanese 2014, comunicación personal).

Para la fase de desarrollo del bioensayo se emplearon peces juveniles, los cuales fueron capturados y aclimatados por 8 días a las condiciones del laboratorio, alimentándolos con algas deshidratadas (*otocinclus*). Las condiciones fisicoquímicas del agua de la pecera se garantizaron mediante aireación contante, así como el seguimiento del pH y del oxígeno disuelto con el equipo YSI 5000 Modelo Portable. Como criterio de aceptabilidad se consideró una supervivencia mayor al 90 % en la fase de aclimatación. Posteriormente, se seleccionan los ejemplares para la instalación del bioensayo (Fig. 1).

Se realizaron pruebas estáticas bajo el método USEPA OPPTS 850.1075 (EPA 1996) durante 96 h, manteniendo la temperatura a  $20 \pm 2^{\circ}C$ , con fotoperiodos de 12 h de luz y 12 h de oscuridad. Se emplearon vasos de precipitado de vidrio de 600 mL con un volumen de de 400 mL, incorporando 5 alevines por vaso de precipitado. La alimentación fue suspendida durante el desarrollo de las pruebas. Las concentraciones de agua agria tratada con POA fueron 0.03%, 0.10%, 0.30% y 1% como valor máximo para este bioensayo. Y para los bioensayos con agua agria tratada con POA y oxidación biológica se utilizaron las concentraciones de 1%, 10%, 50% y 100%. Todos los tratamientos y controles fueron realizados por triplicado. Finalmente, el análisis de los datos se realizó mediante el programa estadístico LC<sub>50</sub> versión 2.5, donde se determinó la mortalidad para el 50% de la muestra de peces (LC<sub>50</sub>) con un 95% de confianza mediante el modelo Probit.

## Resultados

### Caracterización del efluente tratado mediante oxidación fotoquímica solar

El valor de la conductividad para los efluentes petroleros tratados es de  $64.4 \mu S cm^{-1}$  lo cual desde podría estar relacionado con el contenido de sulfatos presentes en el agua (Colpas-Castillo et al. 2017) (Tabla 1).

En la Tabla 1 se presentan los resultados de la IC para diferentes aniones y la aplicación del método estándar para cloruros. El contenido de cloruros en las aguas agrias inicialmente fue de 86.01 ppm, y después de la aplicación de los POA se mantienen prácticamente invariables con 86.90 ppm luego del proceso de oxidación.

Como aspecto a resaltar, debe indicarse que la DQO inicial en las aguas petroleras fue de  $18\ 100 mg L^{-1}$  de  $O_2$  y mediante la aplicación de la técnica de oxidación fotoquímica solar se logró reducir a  $1900 mg L^{-1}$ , lo cual representa una disminución de un 89.50 % de la materia orgánica, lo que evidencia la eficiencia de la aplicación de los POA solar; y de la utilidad que tiene la química verde en el tratamiento de aguas (Vieira et al. 2016; Centeno-Bordones y Jiménez 2020). Este efecto oxidativo del proceso aplicado se puede observar con la disminución de la concentración de los HTP en la muestra de aguas agrias, lográndose reducir la concentración a  $0.00 mg L^{-1}$ , teniendo una fotoxidación del 100%, demostrándose de esta forma el potencial de mineralización de la técnica aplicada para degradar hidrocarburos de petróleo (Dehghani et al. 2014).

En la Tabla 2 se presenta la identificación mediante GC/MS de los subproductos de la reacción de fotooxidación orgánica realizada a las aguas agrias. La reacción fue eficiente oxidando diferentes compuestos orgánicos a carbonilo como el 2.5-hexanodiona como producto de una oxidación incompleta de las especies orgánicas presente en el efluentes tratado y ácidos carboxílicos de cadena corta como el ácido acético y el ácido propanoico indicadores de la degradación completa y mineralización de los sustancias contaminantes del agua petrolera (Centeno-Bordones y Jiménez 2020), logrando de esta manera transformar los compuestos presentes en la matriz compleja de las aguas agrias en materia orgánica degradable y minerarizable (Poyatos et al. 2010; Vieira et al. 2016).



Figura 1. Biocaptura de los individuos de *Poecilia reticulata* y montaje del ensayo ecotoxicológico de las aguas fototratadas con POA.

Figure 1. Biocapture of *Poecilia reticulata* individuals and assembly of the ecotoxicological test of phototreated waters with POA.

**Tabla 1.** Caracterización fisicoquímica del efluente petrolero fototratado.**Table 1.** Physicochemical characterization of the phototreated oil effluent.

Técnica analítica	Valor
DQO	1900 ± 1 mg de O <sub>2</sub> /L
HTP	0 ± 0.001 ppm
pH	1.50 ± 0.01
Conductividad	64.5 ± 0.1 µS/cm
Cloruros	86 ± 9 ppm
Sulfuro	1 ± 0.01 mg/L
Sulfato	3.7 ± 0.01%
Nitrato	< 100 mg/L
Fosfato	< 100 mg/L

**Tabla 2.** Contenido de compuestos orgánicos en mezclas complejas determinado a través de GC/MS para la muestra de las aguas agrias fototratada.**Table 2.** Content of organic compounds in complex mixtures determined through GC / MS for the photo-treated sour water sample.

Muestra	Grupo Funcional	Compuestos	Tiempo de Retención (min)	Coincidencia Espectral
Efluente fototratado	Carbonilo	2.5-Hexanodiona	1.731	91
	Ácidos Carboxílicos	Ácido propanóico	0.918	86
		Ácido Acético	0.812	94
	Heterociclo Nitrogenado	Octahidroindolizina	1.997	-

### Simulación en el laboratorio del reactor biológico de la PTAR

A los lodos biológicos activos se le agregaron las aguas agrias fototratadas, a pH neutro (Tabla 3), observándose un incremento de la biomasa en el reactor como consecuencia de una asimilación microbológica del carbono a través de sus mecanismos metabólicos, lo que promueve la multiplicación de los microorganismos y la oxigenación del medio (Amador-Díaz et al. 2015).

Los mejores valores de rendimiento corresponden con 88.89 %, 87.50 % y 84.72 % de la disminución de la DQO por los lodos biológicos activos de la PTAR (Tabla 3). Estos datos demuestran, la capacidad de oxidación del tratamiento biológico, con proporciones de aumento de la eficiencia de 1:0.75 y 1:0.5 (aguas agrias: lodos activos) por 24 h de reacción, tiempo estimado por los diseñadores de la planta para el tratamiento de los efluentes en el reactor biológico (Pulido 2014).

### Evaluación ecotoxicológica

Bajo las condiciones experimentales, los juveniles de *Poecilia reticulata* de origen nativo responden a la prueba de forma satisfactoria (Tabla 4). El resultado del modelo Probit para mortalidad a 96 h con un 95 % de confianza en este ensayo, resultó una concentración letal del 50% (LC<sub>50</sub>) de 27.58 mgL<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, como límite inferior 17.78 mgL<sup>-1</sup> y como superior de 41.17 mgL<sup>-1</sup> de concentración tolerable por los peces de prueba.

Una vez obtenida la información de la búsqueda, se procedió a desarrollar el bioensayo con valores de aguas agrias fototratadas inferior al 1% para obtener la LC<sub>50</sub>, donde se pudo observar cómo la mortalidad de los peces se incrementa, en la medida que la concentración de la sustancia aumenta. Adicionalmente, cuando se aplica el modelo Probit para determinar la LC<sub>50</sub>, se obtuvo un valor

de 0.26 % en las aguas agrias fototratadas, con un límite inferior de concentración de 0.18% y uno superior de 0.40% (Tabla 4).

Si se consideran los criterios de toxicidad para peces según Ullah y Zorriehzahra (2015), se puede considerar que estos efluentes son altamente tóxicos. Por lo que los valores obtenidos, permiten identificar la concentración a la que se debe llevar las aguas agrias tratadas con POA fotoquímico solar, para ser descargada directamente en cuerpos de aguas como ríos y lagos, sin causar impactos negativos en el ecosistema.

### Discusión

En Venezuela, el petróleo pesado y extrapesado de la FPO tiene un alto contenido de azufre y está asociada a su matriz orgánica, predominando los compuestos orgánicos más polares y de mayor masa molecular (Alboudwarej et al. 2006). Por tal razón se puede afirmar que, estas son las fuentes de azufre responsables del contenido de H<sub>2</sub>S (S<sup>-2</sup>) en los efluentes petroleros, que luego de ser absorbido en el agua durante el proceso de mejoramiento del crudo es oxidada hasta sulfato (SO<sub>4</sub><sup>-2</sup>) en un 96.95 %, una especie salina más inocua que el sulfuro. Por su parte, la presencia de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (agente oxidante en los POA) y su escisión catalítica, proporciona un alto contenido de oxígeno, que permite llevar a cabo la reacción de oxidación inorgánica del sulfuro, en presencia del catalizador.

El valor de conductividad medido en el agua tratada tiene una relación directa con el incremento de la salinidad del agua (Bracho et al. 2016; Boards 2018), debido a que los cationes presentes en estas aguas proceden de un proceso de mejoramiento de crudos pesados por hidrotreamiento, dando lugar a la hidrodesmetalización del petróleo, quedando absorbidos estos cationes metálicos

**Tabla 3.** Tratamiento biológico de las aguas agria fototratadas (AAT) y lodos de la PTAR para la simulación en el laboratorio del reactor biológico.**Table 3.** Biological treatment of photo-treated sour water (AAT) and sludge from the WWTP for simulation in the biological reactor laboratory.

Muestra	AAT ± 1 ml	Lodo PTAR ± 1 ml	DQO Final ± 0.1 ml	Rendimiento DQO ± 0.01%	pH ± 0.01
AAT	—	—	2000	—	1.50
1	100	100	611.2	69.44	6.99
2	100	75	222.2	88.89	6.83
3	100	50	250.1	87.50	6.92
4	100	25	361.2	81.94	6.88
5	100	100	527.8	73.61	6.75
6	75	100	<b>305.6</b>	84.72	6.99
7	50	100	666.6	66.67	6.53
8	25	100	1027.8	48.61	6.65

**Tabla 4.** Método Probit para los ensayos ecotoxicológicos con *Poecilia reticulata*.**Table 4.** Probit method for ecotoxicological tests with *Poecilia reticulata*.

Bioensayo	Límite Inferior	LC <sub>50</sub>	Límite Superior
Normalización con dicromato de potasio (Cr <sup>6+</sup> )	17.78mg/L	27.58 mg/L	41.17mg/L
Agua tratada con POA solar	0.18%	0.26 %	0.40%
Agua tratada con POA solar y oxidación biológica	-	No Calculable	-

en el agua residual del proceso. Los iones negativos son cloruro (Cl<sup>-</sup>), sulfato (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>), que aportan salinidad, por ende, conductividad al agua. Los nitratos y fosfatos no contribuyen de forma apreciable a la conductividad, aunque son muy importantes biológicamente.

El proceso de oxidación biológica permitió remover una cantidad considerable de materia orgánica biodegradable, resultante del tratamiento de las aguas agrias con POA solar (Baquero et al. 2014, comunicación personal). El lodo activado de la PTAR-PDVSA posee microorganismos autóctonos capaces de degradar altos contenidos de materia orgánica, azufre y otros elementos provenientes del petróleo venezolano, teniendo como consecuencia la asimilación de estos contaminantes a través de sus mecanismos metabólicos (Cárdenas et al. 2012; Amador-Díaz et al 2015).

La simulación en el laboratorio del reactor biológico de la PTAR resultó efectiva, alcanzándose valores de DQO inferiores a los permitidos por la norma venezolana 883 (1995) (350 mgL<sup>-1</sup>), lo que resulta adecuado para la descarga de aguas residuales en cuerpos de aguas naturales. Como resultado del proceso, las aguas agrias petroleras tratadas mediante la combinación de técnicas como los POA de tipo fotoquímico solar y la oxidación biológica, disminuyen la DQO en un 99%.

Con el fin de validar la respuesta de los organismos autóctonos (*Poecilia reticulata*) en los bioensayos, ante un tóxico conocido, se aplicó la prueba estándar con K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> (USEPA), obteniéndose valores típicos de mortalidad en el número de individuos, que incrementa con la concentración del químico (Sisino y Oliverira 2013).

Por otra parte, un estudio de sensibilidad realizado con sulfato de bario por Paredes y Miglio (2018), estimó que la LC<sub>50</sub> de sulfato para juveniles de *Poecilia* está alrededor de 890 mgL<sup>-1</sup>, lo que habría que considerar para este estudio que este valor reportado por la investigación mencionada es 47.6 veces inferior a los valores de la concentración de sulfato obtenida en esta investigación que

fue de 37 000 mgL<sup>-1</sup> (3.7 %) (Tabla 1); por lo que, se puede afirmar que el efecto crónico del compuesto podría estar influyendo en la reducción de áreas de intercambio gaseoso en las agallas del pez, o ingresando vía digestiva, incorporado mediante la solubilización del compuesto en el organismo. Además, *Poecilia reticulata* ha mostrado una LC<sub>50</sub> a las 96 h de 30.8 mgL<sup>-1</sup> al exponerse al sulfato de zinc, (Ali et al. 2009).

En el ensayo realizado los peces mostraron cambios de comportamiento durante el experimento como: nado desequilibrado, patrones de natación vertical y descendente, zozobra, lentitud en el movimiento, hundimiento total, lo que coincide con otros reportes (Ali et al. 2009), aumentando los efectos tóxicos a medida que aumentó la dosis.

Con respecto a las sustancias identificadas por GC-MS en el agua fototratada (Tabla 2), la hexanodiona (carbonilo) podría ejercer un efecto narcótico al pez, ya que el grupo carbonilo aumenta logarítmicamente su toxicidad a medida que se incrementa el grupo alifático, actuando además como irritante del sistema respiratorio, en carbonilos con grupos alifáticos inferiores (Berkoz et al 2019). Los carbonilos con alifáticos superiores actúan más bien como anestésicos, por lo que estos compuestos se acumulan en los lípidos de los Poecílidos. Es importante señalar que en un estudio realizado por Jirova et al. (2016), estos autores explicaron el efecto tóxico que tienen las cetonas como especies del grupo carbonilo, lo que se relaciona con su biorreactividad, representando un mecanismo por el efecto polar del tóxico, el cual es dependiente de su hidrofobicidad.

Así mismo, otros de los compuestos presentes en el agua tratada son los ácidos carboxílicos, grupo funcional deseado en los procesos de oxidación avanzada, siendo estas especies orgánicas de menor impacto ambiental y biodegradables. En el caso particular de este estudio, se determinó que existe en la muestra ácido acético y ácido propanoico como se expresa en la Tabla 2.



En el estudio realizado sobre la toxicidad del ácido butírico en *Poecilia reticulata* (Saarikoski et al. 1986) se discute que la ruta principal de absorción es a través del epitelio branquial, explicando que es de esperar, teniendo en cuenta el área y la delgadez de este epitelio. Además, afirma este autor que la velocidad de absorción por esta vía está determinada por la permeabilidad de la membrana celular, que a su vez está relacionada con la lipofilia y el tamaño molecular del compuesto. Sin embargo, varios factores hacen que la absorción a través del epitelio sea más compleja que la mera difusión a través de las membranas celulares. En el caso de los ácidos débiles, su grado de ionización afecta la tasa de bioabsorción.

Con respecto a la octahidroindolizina, otro de los compuestos identificados y su toxicidad, se ha demostrado que esta sustancia no tiene efecto tóxico sobre algas, peces, larvas de insectos y maríferos (Sousa et al. 2019).

Cabe destacar que también, se estudió a las aguas agrias tratadas con POA de tipo fotoquímico solar y con oxidación biológica; obteniéndose que el efluente tratado con estos dos procesos, queda en condiciones fisicoquímicas de ser descargadas en los cuerpos de aguas cercanos a la zona de operación. Una vez probadas en el laboratorio las condiciones de diseño del reactor biológico de la PTAR, las aguas agrias fototratadas presentan una concentración de la DQO de 222.2 mgL<sup>-1</sup>, indicando que los valores de materia orgánica en el agua son bajos y seguros, según las normas de tratamiento de aguas venezolana 883 para descargas de efluentes en cuerpos de aguas naturales (límite normativo 350 mgL<sup>-1</sup>).

Las condiciones experimentales de los procesos de oxidación aplicados redujo la toxicidad en las aguas petroleras aplicando los tratamientos consecutivos de oxidación avanzada de tipo fotoquímico solar y la oxidación de una PTAR (oxidación biológica).

## Conclusiones

El tratamiento de aguas agrias petroleras con procesos de oxidación avanzadas de tipo fotoquímico solar como fotoFenton-like y fotocatalisis, permitió degradar la materia orgánica contenida en esta matriz compleja del efluente. En consecuencia, las especies orgánicas identificadas en el agua agria tratada se redujeron a especies orgánicas oxidadas que expresan la efectividad de las técnicas aplicadas, de igual forma se oxidaron especies de azufre presentes en el medio permitiendo los PAO realizar una oxidación inorgánica en un elevado porcentaje de eficiencia.

La simulación en el laboratorio de las condiciones del reactor biológico de la planta de tratamiento, resultó ser un excelente proceso complementario que permitió la oxidación biológica del contenido remanente de materia orgánica; al combinar los procesos de oxidación avanzada y la oxidación biológica se reducen los valores de la DQO significativamente.

Los ensayos ecotoxicológicos indican que el efluente petrolero es altamente tóxico para los bioindicadores utilizados, y que el tratamiento empleado (POA y oxidación biológica) resulta efectivo, permitiendo disminuir su nivel de toxicidad hasta la inocuidad, lo que resulta positivo para las especies acuáticas del ecosistema circundante.

La combinación de técnicas de oxidación fotoquímica y biológica es una estrategia de interés ambiental debido a que permiten degradar la mayor cantidad de contaminantes mejorando la eficiencia en las plantas de tratamiento de aguas residuales industriales, en especial cuando las aguas presentan una matriz compleja de contaminantes orgánicos e inorgánicos.

## Contribución de los autores

G, Centeno-Bordones: Conceptualización, Análisis formal, Investigación, Metodología, Administración de proyectos, Recursos, Validación, Visualización, Redacción - borrador original, Redacción - revisión y edición. H, Labrador-Sánchez: Conceptualización, Análisis formal, Metodología, Redacción-revisión y edición. M, Arias-Bai-

ley: Investigación, Análisis formal, Metodología, Redacción-revisión. M, F, González-Pacheco: Investigación, Análisis formal, Metodología. G, Lara-Moreno: Investigación, Análisis formal, Metodología.

## Referencias

- Alboudwarej, H., Felix. J., Taylor. S., Badry. R., Bremner. C., Brough. B., Beshry. M. 2006. La importancia del petróleo pesado. *Oilfield review* 18(2), 38-58.
- Ali, G.Ü., Yilmaz, M., Isilak, Z. 2009. Acute toxicity of zinc sulphate (ZnSO<sub>4</sub>. H<sub>2</sub>O) to guppies (*Poecilia reticulata* P., 1859). *Gazi University Journal of Science* 22(2), 59-65. Disponible en: <https://www.sid.ir/en/journal/ViewPaper.aspx?ID=501953>
- Amador-Díaz, A., Veliz-Lorenzo, E., Bataller-Venta, M. 2015. Tratamiento de lodos, generalidades y aplicaciones. *Revista CENIC Ciencias Químicas* 46 (1), 1-10.
- Argota-Pérez, G., Iannacone, J.A. 2018. Ecotoxicología como herramienta predictiva en la evolución sostenible de los sistemas acuáticos. *Biotempo* 15(2), 165-174. <https://doi.org/10.31381/biotempo.v15i2.2056>
- ASTM 2002. ASTM D 4658-03. Standard Test Method for Sulfide Ion in Water. American Society for Testing and Materials (Última actualización: Feb 08, 2017). West Conshohocken, Pennsylvania, Estados Unidos. Disponible en: [https://www.nemi.gov/methods/method\\_summary/5418/](https://www.nemi.gov/methods/method_summary/5418/)
- ASTM 2018. ASTM D5790-18. Standard Test Method for Measurement of Purgeable Organic Compounds in Water by Capillary Column Gas Chromatography/Mass Spectrometry. ASTM International, West Conshohocken, PA, Estados Unidos. Disponible en: <https://www.astm.org/d5790-18.html>
- Berkoz, M., Ozkan-Yilmaz, F., Ozluer-Hunt, A., Gunduz, S.G., Yildirim, M., Yalin, S. 2019. Influence of sublethal chlorpyrifos exposure on oxidative stress and acetylcholinesterase activity in common carp (*Cyprinus carpio*). *Feb-Fresenius Environmental Bulletin* 219, 981-988.
- Boards, W. 2018. *Folleto Informativo conductividad eléctrica/salinidad*. Folleto Informativo 3.1.3.0. California State Water Resources Control Board. Sacramento, CA, Estados Unidos. Disponible en: [https://www.waterboards.ca.gov/water\\_issues/programs/swamp/docs/cwt/guidance/3130sp.pdf](https://www.waterboards.ca.gov/water_issues/programs/swamp/docs/cwt/guidance/3130sp.pdf)
- Bracho, G.J., Cuador-Gil, J.Q., Rodríguez-Fernández, R.M. 2016. Calidad del agua y sedimento en el lago de Maracaibo, estado Zulia. *Minería y Geología* 32(1), 1-14. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/2235/223544262001.pdf>
- Cárdenas, C., Yabroudi, S.C., Benítez, A., Páez, K., Perruolo, T., Angulo, N., Herrera, L. 2012. Desempeño de un reactor biológico secuencial (RBS) en el tratamiento de aguas residuales domésticas. *Revista colombiana de biotecnología* 14(2), 111-120. Disponible en: <https://www.edalyc.org/pdf/776/77625401012.pdf>
- Castillo Cubillos, M. 2012. *Proyecto de diseño y desarrollo de un agente secuestrante para el tratamiento de aguas agrias, ricas en Sulfuro de hidrógeno, procedentes de procesos de refinación de crudo*. Tesis Doctoral. Escuela de Ing. Química, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia. Disponible en: <https://silo.tips/download/angelmauricio-castillo-cubillos>
- Centeno-Bordones, G.J., Jiménez, Y. 2018. Uso de Lodos Rojos como catalizador en los procesos de oxidación avanzada: una aproximación al estado del arte. *Tekhné* 21(4). Disponible en: <http://revistasenlinea.saber.ucab.edu.ve/temas/index.php/tekhne/article/view/3940>
- Centeno-Bordones, G.J., Jiménez, Y. 2020. Evaluación del Lodo Rojo Activado como Catalizador Heterogéneo en Procesos de Oxidación Avanzada con Radiación Solar para la Degradación de Aguas Agrias Petroleras. *Revista Tecnología y Ciencia* (39), 62-84. <https://doi.org/10.33414/rtyc.39.62-84.2020>
- Clemente, I. 2010. *Aplicación de procesos de oxidación avanzada (fotocatalisis solar) para tratamientos y reutilización de efluentes textiles*. Tesis doctoral, Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España. Disponible en: <https://riunet.upv.es/handle/10251/2241>
- Colpas Castillo, F., Tarón Dunoyer, A., Vásquez, Y. 2017. Capacidad de adsorción de plomo con intercambiadores catiónicos de carbón xantado. *Revista UDCA Actualidad y Divulgación Científica* 20(2), 425-433. Disponible en: <https://repository.udca.edu.co/handle/11158/2255>
- Dehghani, M., Shahsavani, E., Farzadkia M., Samaei, M.R. 2014. Optimizing photo-Fenton like process for the removal of diesel fuel from the aqueous phase. *Journal of Environmental Health Science and Engineering* 12(1), 87. <https://doi.org/10.1186/2052-336X-12-87>

- del Rosario Valera, M., Alvarino, L., Iannacone, J. 2018. Toxicidad del fungicida Kresoxim-metil sobre siete bioindicadores de calidad ambiental. *The Biologist* (Lima) 16(2). <https://doi.org/10.24039/rb2018162259>
- EPA 1996. *Ecological Effects Test Guidelines OPPTS 850.1075 Fish Acute Toxicity Test, Freshwater and Marine*, (Public draft EPA 712-C-96-118). United States Environmental Protection Agency. Washington D.C. Estados Unidos. Disponible en: <https://19january2017snapshot.epa.gov/sites/production/files/2015-07/documents/850-1075.pdf>
- EPA 2007. *Method 8015C Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography (Revision 3). Part of Test Methods for Evaluating Solid Waste, Physical/Chemical Methods*. United States Environmental Protection Agency. Washington D.C. Estados Unidos. Disponible en: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/8015c.pdf>
- EPA 2019. USEPA<sup>1</sup> HACH 8051 SulfaVer 4 Method<sup>2</sup>. 1) accepted for reporting wastewater analyses. Procedure is equivalent to U.S. EPA 375.4 (1978) Sulfate (Turbidimetric) method determines sulfate in drinking and surface waters; domestic and industrial wastes. Approved for NPDES Manual, Washington, D.C., EUA. 2) Adapted from Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, SM4500-SO42-E. Disponible en : <https://www.hach.com/asset-get.download-en.jsa?id=7639983901>
- Gómez-Manrique, W., Machado-Neto, J.G. 2008. Toxicidad aguda y riesgo ambiental del fipronil para Guppy (*Poecilia reticulata*). *The Biologist* (Lima) 6(2). <https://doi.org/10.24039/rb200862531>
- HACH 2010. Manual de análisis de agua, 3ª ed. HACH Company, Loveland, Colorado, Estados Unidos, pp. 217. Disponible en: [www.hach.com/asset-get.download.jsa?id=7639984469](http://www.hach.com/asset-get.download.jsa?id=7639984469)
- Jirova, G., Wittlingerova, Z., Zimova, M., Vlkova, A., Wittlerova, M., Dvorakova, M., Jirova, D. 2016. Bioindicators of wastewater ecotoxicity. *Neuroendocrinology Letters* 37(Suppl1), 17-24.
- Manfra, L., Rotini, A., Bergami, E., Grassi, G., Faleri, C., Corsi, I. 2017. Comparative ecotoxicity of polystyrene nanoparticles in natural seawater and reconstituted seawater using the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Ecotoxicology and environmental safety* 145, 557-563. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.07.068>
- Merlo, R., Gerhardt, M.B., Burlingham, F., De Las Casas, C., Gill, E., Flippin, T.H. 2011. Petroleum refinery stripped sour water treatment using the activated sludge process. *Water environment research* 83(11), 2067-2078. <https://doi.org/10.2175/106143011X12989211841133>
- Ogunfeitimi, O.O., Amaeze, N.H., Umeokeke, H.C., Soriwei, E.T., Labinjo, A.S. 2021. Avoidance Response: A More Important Determinant of Population Immediate Decline in Guppy Fish (*Poecilia Reticulata* Peters, 1859) Exposed to Pesticides (Preprint, not peer reviewed version). <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-451385/v1>
- Paredes, C., Miglio, M.C. 2018. Evaluación del riesgo ecológico de la barita (BASO<sub>4</sub>) empleando pruebas ecotoxicológicas con doce organismos. *Ecología aplicada* 17(1), 23-37. <http://dx.doi.org/10.21704/rea.v17i1.1170>
- Poyatos, J.M., Muñoz, M.M., Almecija, M.C., Torres, J.C., Hontoria, E., Osorio, F. 2010. Advanced oxidation processes for wastewater treatment: state of the art. *Water, Air, and Soil Pollution* 205(1-4), 187. <http://dx.doi.org/10.1007/s11270-009-0065-1>
- Prieto, Z., León-Incio, J., Quijano-Jara, C., Fernández, R., Polo-Benites, E., Vallejo-Rodríguez, R., Villegas-Sanchez, L. 2008. Efecto Genotóxico del Dicromato de Potasio en eritrocitos de sangre periférica de *Oreochromis niloticus* (Tilapia). *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública* 25(1), 51-58. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1726-46342008000100008&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1726-46342008000100008&script=sci_arttext)
- Pulido, L.L. 2014. *Trenes de Tratamiento para Agua de la Industria Petrolera*. *Kuxulkab* 17(33). Disponible em: <https://revistas.ujat.mx/index.php/kuxulkab/article/view/358>
- Ribeiro, A.R., Nunes, O.C., Pereira, M.F., Silva, A.M. 2015. An overview on the advanced oxidation processes applied for the treatment of water pollutants defined in the recently launched Directive 2013/39/EU. *Environment International* 75, 33-51. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.10.027>
- Saarikoski, J., Lindström, R., Tyynelä, M., Viluksela, M. 1986. Factors affecting the absorption of phenolics and carboxylic acids in the guppy (*Poecilia reticulata*). *Ecotoxicology and environmental safety* 11(2), 158-173. [https://doi.org/10.1016/0147-6513\(86\)90060-6](https://doi.org/10.1016/0147-6513(86)90060-6)
- Sisinno, C.L., Oliveira-Filho, E.C. 2013. Principios de toxicología ambiental. Editora Interciência. Rio de Janeiro. Brasil.
- Sousa, J.R., Silva, F.A., Targanski, S.K., Fazolo, B.R., Souza, J.M., Campos, M.G., Soares, M.A. 2019. Synthesis and larvicidal activity of indole derivatives against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Journal of Applied Entomology* 143(10), 1172-1181. <https://doi.org/10.1111/jen.12685>
- Standard Methods Committee of the American Public Health Association, American Water Works Association, and Water Environment Federation 2018. 4500-cl- chlorid. En: Lipps W.C., Baxter T.E., Braun-Howland, E. (eds.) *Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater*. APHA Press. Washington DC, Estados Unidos. <https://doi.org/10.2105/SMWW.2882.079>
- Ullah, S., Zorriehzahra, M.J. 2015. Ecotoxicology: a review of pesticides induced toxicity in fish. *Advances in Animal and Veterinary Sciences* 3(1), 40-57. <http://dx.doi.org/10.14737/journal.aavs/2015/3.1.40.57>
- Vieira, R., Gonçalves, M., Gomes, L. 2016. Assessment of the use of red mud as a catalyst for photodegradation of bisphenol A. In *Wastewater Treatment, Water Science and Technology* 74(6):1283-1295. <https://doi.org/10.2166/wst.2016.309>