



"EVALUACIÓN DE ECOTOXICIDAD AGUDA DE FLUIDOS DE
PERFORACIÓN DE LA CUENCA GOLFO SAN JORGE SOBRE LA
GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE LECHUGA (*Lactuca sativa*, L.)"

Estudiante:

María Carolina Venditti

Trabajo final para optar el título de:

Licenciatura en Química

Director:

Dra. Marta Susana Díaz

Departamento de Química

Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud

Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco



Comodoro Rivadavia

2024

DEDICATORIA

*A mí misma por seguir, por llegar.
A la educación pública universitaria.*



AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi casa de estudios, la Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, que el 4 de mayo de 2024 celebró su 50º aniversario. Con un profundo sentido de pertenencia y orgullo personal, obtengo mi tercer título en la Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud.

A mi profesora y directora, Dra. Marta Susana Díaz, le agradezco por acompañarme en este trabajo final. Anecdóticamente, ella fue con quien rendí mi primer examen final en 2015, cuando retomé mis estudios después de una pausa de 7 años, y hoy, aquí estamos nuevamente, cerrando este ciclo.

A todos los profesores de la carrera, por su acompañamiento y flexibilidad, destacando los cambios de horarios que facilitaron mi cursada. Su comprensión fue clave para equilibrar mis estudios con mis obligaciones como madre y mi jornada laboral.

A mis compañeros de carrera: Guadalupe, Cecilia, Franco, Osmar, Ana, Brenda, Fernanda, Camilo, Fabio, Johana, Nahuel. Con ellos las cursadas fueron más livianas. Agradezco su ayuda desinteresada, las enseñanzas, las risas y el tiempo compartido. Miles de recuerdos lindos quedan conmigo.

A Celeste, por haberme mostrado que era posible retomar los estudios y completar esta carrera.

A MARBAR, en especial a todos mis superiores de distintas épocas, por confiar en mi proyecto profesional, por concederme permisos especiales para cursar algunas materias y por colaborar con recursos e información técnica utilizados en este trabajo final. En este ámbito laboral, donde he ejercido como laboratorista química durante mis últimos 16 años, se originó la inspiración para el desarrollo de esta investigación académica.

A los supervisores de campo de MARBAR, por colaborar en tomar las muestras de agua dulce para tramos guías y las fotos de equipos de perforación.

A las profesionales que colaboraron con información para esta investigación: Federico Criniti, Argenis Peñalosa, Diego Rosales, Beatriz Castro y Pablo Correira.



A Joaquín, mi hijo, el dueño de mi corazón. Por acompañarme en esta aventura, por regalarme ojitos de admiración y las sonrisas más lindas. Por haberme enseñado valiosas lecciones de fortalezas y resiliencia. Te admiro profundamente.

A Marcelo, mi gran compañero, por todo lo bonito, por tu incondicionalidad, por su amor y respeto, por siempre estar cerquita mimando, alentado, confiando y cocinándome rico, gran estímulo para los días previos a los exámenes. Muchos años, muchos fines de semana, muchas vacaciones apoyando a mi dedicación al estudio.

A Nidia, mi mamá, ella mi ejemplo a seguir, por su gran ímpetu como mujer, por su valioso esfuerzo y amor de madre y por su vocación como docente defensora de la educación pública.

A Carlitos, mi papá, por su amor y por recalcar la significancia de completar una carrera universitaria.

A mis sobrinos que son hermosas lucecitas que alegran mi vida y a Zulma la mejor tía.

A mis amigos y a sus familias, que siempre estuvieron con palabras lindas de aliento, con sus risas, abrazos y complicidades, indispensables cuando la tarea de estudiar se pone cuesta arriba y para la vida misma. No los nombro porque son muchos y que así sea es una de mis grandes satisfacciones. Cada uno de ellos sabe cuánto lo quiero y lo significa para mí, sin importar el tiempo y la distancia.

Hace mucho tiempo atrás un profesor, Eduardo Sánchez dijo en una de sus clases: “no se reciben los inteligentes, se reciben los que perseveran”, yo ese día me sentí muy motivada y pensé que el recibirme era solo mi responsabilidad. Hoy me doy cuenta que no, que este logro es compartido con todas las personas a las que mencione, que todos pusieron algo desde el rol que cumplieron y que así sea es hermoso, es mucho, es necesario. ¡Gracias a todos por ayudarme a concretar mis estudios, gracias por perseverar conmigo... fuimos un gran equipo! Hoy cerramos juntos esta etapa de mi vida.

María Carolina Venditti



"No hay ninguna razón por la que el progreso humano y la protección del medio ambiente no puedan ir de la mano."

Ban Ki-moon



ÍNDICE

1-	RESUMEN	7
2-	OBJETIVOS	9
3-	INTRODUCCIÓN	10
3.1-	Cuenca del Golfo San Jorge y sus inicios en la producción de petróleo	11
3.2-	Acuíferos y Aguas subterráneas	13
3.3-	Requisitos legales ambientales aplicables en el área de GSJ	14
3.4-	Definición, clasificación y funciones del fluido de perforación	15
3.5-	Fluidos de perforación base agua (WBM: Water Based Mud)	16
3.6-	Fluidos WBM cálcicos	17
3.7-	Tramo guía en la perforación del pozo petrolero	18
3.8-	Yacimientos y Operadoras	19
3.9-	Parámetros fisicoquímicos para caracterizar a los fluidos de perforación	20
3.10-	Importancia de los productos químicos utilizados	21
3.11-	Aditivos utilizados en las formulaciones de los fluidos de perforación	22
3.12-	Ecotoxicología	24
3.13-	Toxicidad aguda	24
3.14-	Contaminante	25
3.15-	Importancia de un Bioensayo de toxicidad	25
3.16-	Fundamento del método del bioensayo con semillas de <i>Lactuca sativa</i> L.	27
3.17-	Propiedades del método del bioensayo	28
3.18-	Organismo para el bioensayo	28
4-	MATERIALES Y MÉTODOS	29
4.1-	Material biológico como bioindicador en los bioensayos	29
4.2-	Reactivos	29
4.3-	Equipos	30
4.4-	Materiales	30
4.5-	Preparación de las soluciones de los fluidos de perforación para el tramo guía siguiendo las formulaciones propuestas en los programas de pozo por cada Cía. Operadora petrolera	31
4.6-	Preparación de las diluciones de los filtrados	33
4.7-	Determinación de parámetros fisicoquímicos	33
4.8-	Preparación de las diluciones del sulfato de cinc heptahidratado	34
4.9-	Bioensayos de toxicidad con <i>Lactuca sativa</i> L.	35
4.9.1-	Efecto sobre la germinación	35
4.9.2-	Etapas experimentales de los bioensayos de toxicidad	35
4.9.3-	Metodología y condiciones de los bioensayos de toxicidad	36
4.9.3.1-	Verificación de la viabilidad de las semillas	36
4.9.3.2-	Control de calidad: bioensayo de sensibilidad de las semillas con el tóxico de referencia	37
4.9.4-	Análisis de las muestras: bioensayo de sensibilidad de las semillas con las diluciones de los filtrados de los fluidos de perforación	38



4.10-	Expresión de los resultados de los bioensayos y criterios para asignar las categorías de toxicidad	39
4.10.1-	Porcentaje de germinación (%G)	39
4.10.2-	Coeficiente de variabilidad en la elongación de la radícula (CV)	39
4.10.3-	Índice de geminación	40
4.10.4-	Porcentaje de germinación residual normalizado, (IGN)	40
4.10.5-	Porcentaje de elongación radical residual normalizado (IER)	40
4.10.6-	Estimación de LOEC y NOEC	41
4.10.7-	Concentración inhibitoria 50% de la germinación (CI ₅₀)	41
4.10.8-	Expresión de los resultados para la evaluación de los efectos de toxicidad	44
4.10.8.1-	Tratamiento estadístico de los datos experimentales	45
4.10.9-	Cálculo de la regresión lineal	46
5-	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	48
5.1-	Parámetros fisicoquímicos de los filtrados formulados	48
5.2-	Bioensayos de Toxicidad con semillas de <i>Lactuca sativa</i> L.	49
5.2.1-	Verificación de viabilidad de las semillas	49
5.2.2-	Control de calidad con el tóxico de referencia (ZnSO ₄ ·7H ₂ O)	50
5.2.3-	Curva dosis-respuesta	52
5.2.4-	Resultados de los bioensayos de toxicidad de los filtrados de los fluidos de perforación	53
5.2.4.1-	Bioensayos de toxicidad de inhibición de la germinación: %G, IG y CE ₅₀	53
5.2.4.2-	Signos de germinación anormal	55
5.2.4.3-	Bioensayos de toxicidad de inhibición de radícula e hipocótilo	56
6-	CONCLUSIONES	64
7-	BIBLIOGRAFÍA	66
ANEXO A	71
ANEXO B	72
ANEXO C	87



1- RESUMEN

En este trabajo se realiza la evaluación de toxicidad aguda asociada a fluidos de perforación base agua utilizados en el tramo guía de pozos petroleros realizados en Golfo San Jorge (GSJ), relacionando los efectos fitotóxicos con valores obtenidos experimentalmente de una selección de parámetros fisicoquímicos vinculados a las sustancias químicas solubles en agua, provenientes de los productos químicos con los que se preparan dichos fluidos de perforación.

Las aguas subterráneas y acuíferos del GSJ se alojan a lo largo del tramo guía, lo que da una relevancia significativa a esta investigación ya que estos fluidos de perforación, a través de un proceso de filtración entran en contacto con las formaciones geológicas que se van perforando, hecho que transcurre cuando la fase continua (acuosa) del fluido de perforación se desplaza a través de la porosidad de las formaciones geológicas, debido a la generación de un diferencial de presión entre la presión misma de la formación geológica y la presión hidrostática de la columna del pozo abierto.

Distintas legislaciones medioambientales vigentes aplican en la región geopolítica donde se perfora, estableciendo especificaciones a cumplir para los parámetros fisicoquímicos de control. Aquí, en virtud a las prestaciones de los laboratorios de la UNPSJB, seleccionamos para su evaluación cuantitativa: turbidez, pH, conductividad, dureza total y cloruros, y fueron correlacionados con los resultados de los bioensayos de toxicidad utilizando semillas de *Lactuca sativa*, L. como bioindicador, que posee una adecuada sensibilidad a los efectos tóxicos de las sustancias químicas solubles en agua.

Experimentalmente, bajo condiciones controladas de laboratorio, se determinó la cantidad de semillas germinadas y no germinadas y la elongación de las radículas, valores necesarios en el cálculo de distintos indicadores de toxicidad aguda, tales como: índice de germinación (IG), porcentaje de germinación normalizado (IGN), porcentaje de elongación radical residual normalizado (IER), LOEC (Lowest Observed Effect Concentration) concentración de efecto más baja observada, NOEC (No Observed Effect Concentration) concentración de efecto no observado, Concentración Inhibitoria 50 % de la elongación (CI_{50}), aplicando Probit como método estadístico para este último.



Con los valores de los indicadores de toxicidad se clasificaron los fluidos de perforación estudiados entre los que cumplen y los que no con las reglamentaciones medioambientales, siendo información válida para rediseñar la composición química de los fluidos de perforación y la elección de las aguas utilizadas para su preparación, ajustándose a un enfoque integral que garantice tanto la eficiencia operativa como la conservación ambiental y la preservación de las aguas subterráneas y acuíferos durante la programación de la futura perforación de pozos productivos de petróleo en la cuenca GSJ.

Los resultados indican que todos los fluidos de perforación propuestos para el tramo guía presentan toxicidad aguda sobre las semillas de *Lactuca sativa*, L, pero también que hay formulaciones menos tóxicas que otras entre las tres propuestas, lo que invita volver a diseñar las formulaciones en busca de valores tendientes a promover la calidad y el vigor de la germinación y elongación de la radícula. Asimismo, se concluye que la conductividad es un parámetro crítico que impacta incrementando la toxicidad.



2- OBJETIVOS

2.1- Objetivo general

Determinar la toxicidad aguda de fluidos de perforación utilizados en el tramo guía de pozos petroleros circunscriptos dentro de la Cuenca Golfo San Jorge, utilizando como bioindicador semillas de *Lactuca sativa* L., para una posterior correlación con algunos parámetros fisicoquímicos.

2.2- Objetivos específicos

a) Preparar muestras de fluidos de perforación utilizando dos tipos de aguas de distintas características entre ellas. Obtención de filtrados de las muestras de fluidos de perforación preparados en el laboratorio, en condiciones controladas.

b) Caracterizar parámetros fisicoquímicos de los fluidos de perforación, según los métodos estándares establecidos, donde se analizarán los siguientes: pH, conductividad eléctrica, cloruros, dureza y turbidez.

c) Realizar bioensayos ecotoxicológicos con *Lactuca sativa*, L. Determinar los índices de: germinación y de inhibición de la elongación de la radícula y la concentración inhibitoria 50 % de la elongación (CI₅₀) de las muestras estudiadas.

d) Comparar los resultados obtenidos de los parámetros fisicoquímicos y de los bioensayos con *Lactuca sativa* L. para evaluar posibles correlaciones.



3- INTRODUCCIÓN

La perforación de pozos productivos de petróleo es una actividad fundamental en la industria energética fósil, destacándose como la más significativa en la cuenca del Golfo San Jorge (GSJ).

La industria petrolera se ha convertido en una preocupación ambiental, al punto que se hace necesario buscar nuevas alternativas y tecnologías que permitan prevenir de la contaminación y minimizar el impacto ambiental. [1, 2]

Todo el proceso de perforación se lleva a cabo con un enfoque consciente de los impactos ambientales que pudieran ocurrir, y se toman en cuenta para la elaboración de un programa de diseño de pozo. Es fundamental garantizar que durante toda la operación de perforación se den cumplimiento a requisitos técnicos, aspectos ambientales y a la adecuada selección de los productos químicos que conforman a los fluidos de perforación. [3, 4]

La longitud total de un pozo petrolero se va consiguiendo por tramos y a los primeros metros de perforación desde la superficie se los denomina en su conjunto “tramo guía”. El diseño de pozo para este tramo contempla métodos preventivos ante la posibilidad de contaminar la calidad de las fuentes de agua subterránea y de los acuíferos.[5]

Hay tres aspectos relevantes que contribuyen a la toxicidad de los fluidos de perforación: la química (productos químicos con los que se preparan los fluidos de perforación) y el tratamiento de la mezcla (fluido de perforación terminado), las prácticas de su almacenamiento y de su eliminación, y los recortes de roca perforada colectada en superficie (cutting) [2, 3]. El aspecto químico, es el único que se puede controlar toxicológicamente antes de iniciar la perforación del pozo, ya que los productos químicos añadidos al sistema de los fluidos de perforación se hacen a concentraciones predeterminadas [3], con el objetivo de construir y mantener parámetros fisicoquímicos, destacando: reología, filtrado (invasión a la formación geológica), revoque (estabilización de las paredes del pozo) [2, 3, 6, 7, 8], y su compatibilidad con el medio ambiente. Sin embargo, de la toxicidad de los fluidos de perforación base agua de la cuenca GSJ no hay información según la revisión de literatura científica.



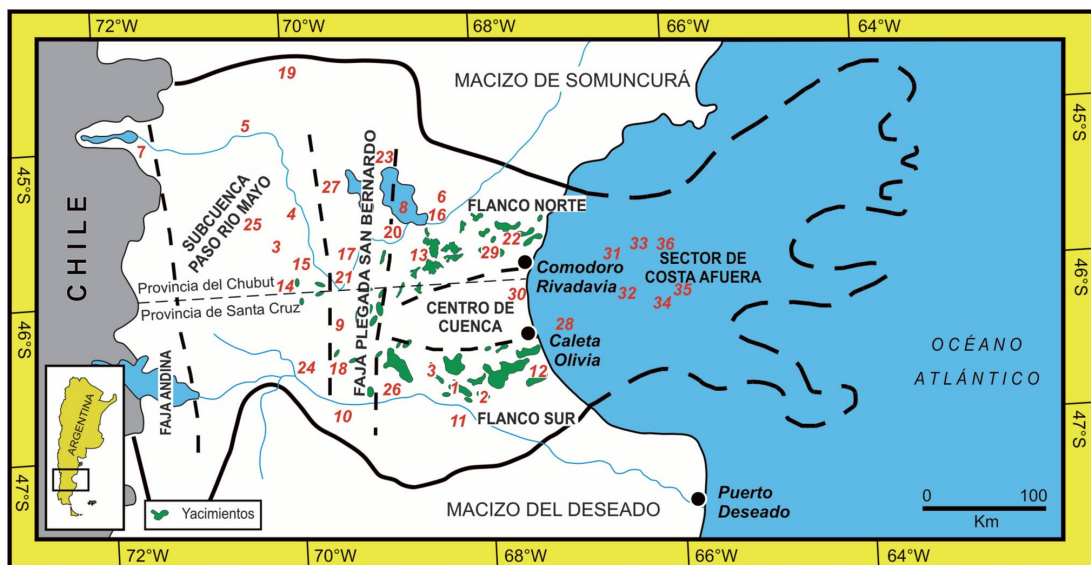
El tipo de fluido de perforación utilizado en los tramos guías de los pozos petroleros circunscriptos dentro de la Cuenca GSJ, son del tipo cálcico inhibido base agua y se componen de bentonita, tensioactivos, yeso y cal. [9]

3.1- Cuenca del Golfo San Jorge y sus inicios en la producción de petróleo

La cuenca GSJ, se encuentra ubicada en la Patagonia central, entre los 44° y los 47° de latitud Sur y entre los 66 y 71° de longitud Oeste (Imagen 1) [10]. Cubre una superficie de aproximadamente 170.000 km², de los cuales una tercera parte corresponde al sector de costa afuera (offshore). La jurisdicción geopolítica del GSJ comprende a las provincias de Chubut y Santa Cruz, mientras que las aguas adyacentes de plataforma están bajo jurisdicción nacional. Es la cuenca más antigua como productora de hidrocarburos en Argentina. [10, 11, 12]

Imagen 1

Ubicación geográfica de la Cuenca del Golfo San Jorge



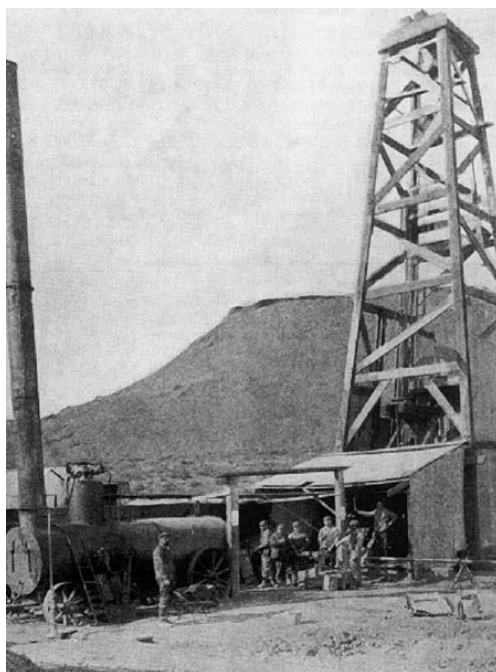
La historia oficial dice que el petróleo argentino se descubrió el 13 de diciembre de 1907 en el pozo N°2 de Comodoro Rivadavia (Imagen 2), a unos 500 m de profundidad. El pozo era operado por la División de Minas, Geología e Hidrología, y su objetivo era encontrar agua para la nueva población y que esté en cercanías de la entonces incipiente ciudad de Comodoro Rivadavia, desatando una gran actividad e incorporación de reservas entre la década del 30 y el 80, con descubrimientos de



yacimientos como Diadema (año 1930), El Tordillo (año 1936), Cañadón Seco (año 1944), Cañadón León y Meseta Espinosa (año 1947), Cerro Dragón y El Huemul (año 1957) y Los Perales-Las Mesetas (año 1975), entre otros. La incorporación de reservas petroleras en las últimas décadas se registra asociada a la exploración cercana a las zonas en producción. [13, 14]

Imagen 2

Pozo descubridor N° 2, Comodoro Rivadavia, Cuenca Golfo de San Jorge.



Como consecuencia del descubrimiento de petróleo en el Flanco Norte en 1907, los estudios geológicos de la cuenca fueron promovidos por el Estado Argentino. Las descripciones y correlaciones de las unidades litoestratigráficas (Tabla 1) [15] comenzaron a realizarse tanto a nivel de afloramiento como de pozo. Posteriormente, la exploración en otros sectores de la cuenca (Flanco Sur, zona Oeste), dio como resultado descripciones de “nuevas” unidades litoestratigráficas, y muchas de ellas una vez revisadas, fueron correlacionadas con las anteriores. Este proceso dio como resultado una nomenclatura estratigráfica que no es homogénea para toda la cuenca. [16]



Tabla 1
Representación Hidroestratigráfica

Hidroestratigrafía				
Edad		Unidades litoestratigráficas	Litología	Comportamiento hidrodinámico
Cuaternario	Holoceno	Depósitos modernos	Gravas arenosas con matriz arcillosa	Acuífero frático
	Holoceno inferior	Rodados patagónicos	Gravas y arcillas	
Terciario	Prioceno			
	Mioceno	Fm. Santa Cruz	Arenas fluviales	Acuífero Multiunitario superior
	Oligoceno superior/mioceno	Fm. Patagonia	Areniscas y niveles tobáceos con intercalaciones arcillosa	Acuífero regional
	Oligoceno/Eoceno	Fm. Sarmiento	Tobas y arcillas tobáceas	Acuitardo

3.2- Acuíferos y Aguas subterráneas

Las aguas subterráneas o acuíferos son una acumulación de agua subterránea que impregna una capa de terreno impermeable. Se suele situar sobre una capa de materiales impermeables (arcilla o pizarra). Puede estar cubierto con otra capa impermeable, en cuyo caso se llama acuífero o manto freático confinado. [17]

Los recursos hídricos subterráneos de la región GSJ, se hallan mayormente alojados en sedimentos terciarios y depósitos gradacionales terrazados que cubren la zona sureste de la provincia de Chubut y noreste de Santa Cruz. Esta zona comprende una columna estratigráfica con la Formación Patagonia y la Formación Santa Cruz, principales portadoras de los recursos hídricos subterráneos de la región, donde se presentan espesores útiles de entre 300 hasta 500 metros, conteniendo un sistema acuífero con aguas de excelente calidad, denominado Acuífero Multiunitario Superior o Patagoniano al que le



corresponde las unidades estratigráficas de las formaciones geológicas Patagonia, Santa Cruz y los Rodados Tehuelches, abarcando además, a los depósitos aluviales de relleno de cañadones que se hallan conectados hidráulicamente. [15]

La recarga principal ocurre sobre la Pampa del Castillo, dando lugar a un acuífero de recarga autóctona directa y de régimen variable. La descarga natural se produce a través de los manantiales y de las lagunas de tipo efluente.

Existen principalmente dos grupos de aguas perfectamente identificados morfológica y topográficamente, las cuales definen para el primer grupo un "Flujo Local" que circula en términos de mayor granulometría, y un "Flujo Regional" para el segundo grupo donde el agua tiende a adquirir las características del medio sólido. [18]

3.3- Requisitos legales ambientales aplicables en el área de GSJ

Con el fin de proteger a los organismos y a los ecosistemas de los efectos dañinos que pueden causar las sustancias tóxicas, es necesario regular directamente las fuentes de contaminación e imponer restricciones para el uso de productos químicos. [19] Por lo tanto, la planificación de la perforación de un pozo, debe incluir consideraciones ambientales. La gestión ambiental en el sitio del pozo implica una planificación cuidadosa en el inicio de la exploración y en el desarrollo de la perforación. Actualmente, un proyecto puede ser pospuesto o cancelado debido a estos problemas [3]. Entonces, asegurar el cumplimiento de los requisitos legales es fundamental para gestionar de forma eficaz los riesgos y oportunidades asociados a los aspectos legales, al mismo tiempo que se promueve la protección del medio ambiente mediante la prevención de la contaminación. [20]

En el Anexo C, en las Tablas 1, 2 y 3 se resumen las normativas de aplicación al área de GSJ [16-31], encontrando las principales normativas que regulan la cuestión ambiental en general, involucrando a todos los niveles del Estado. Comenzando lógicamente por las normas constitucionales por su jerarquía superior, para luego descender a las leyes en sentido formal, a los decretos y resoluciones emitidas por organismos del Poder Ejecutivo. Todo este estudio, tanto en el ámbito nacional y provincial, procura vincular sistemáticamente a este conjunto de normas ambientales.

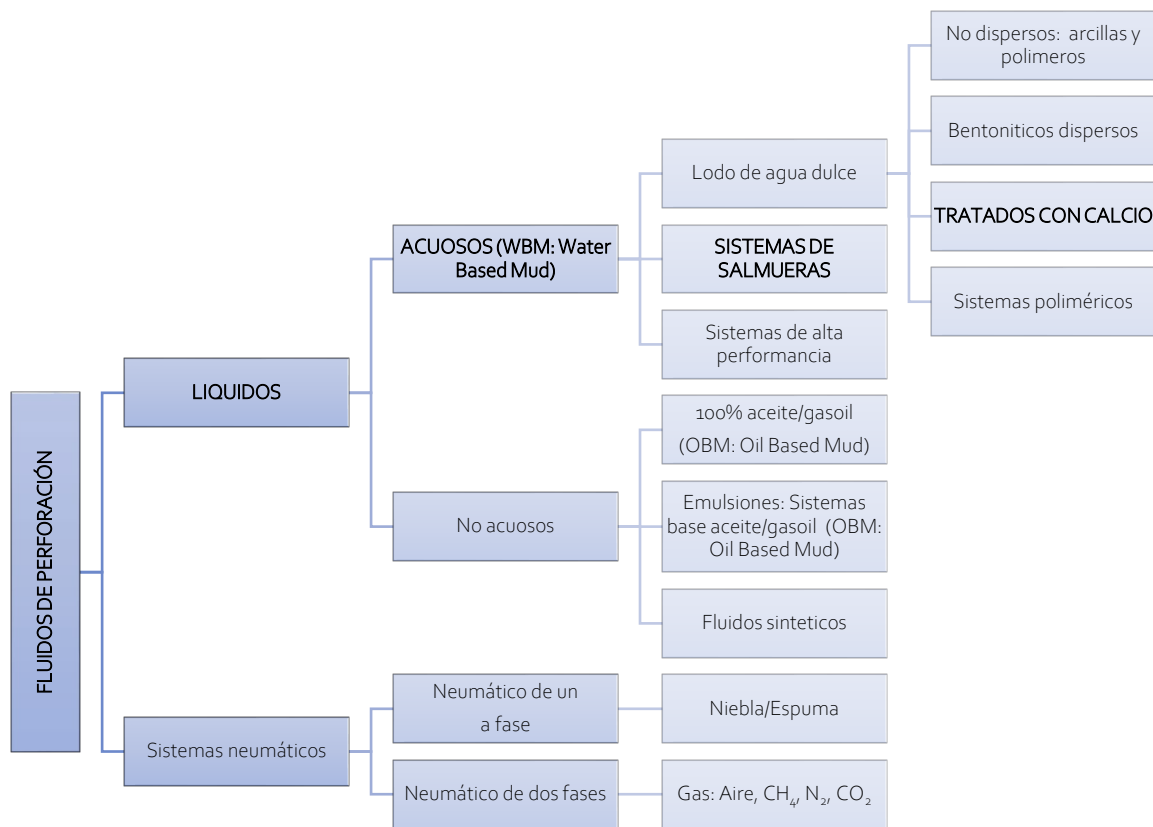


3.4- Definición, clasificación y funciones del fluido de perforación

El fluido de perforación, puede ser cualquier sustancia o mezcla de sustancias con características físicas y químicas apropiadas, como, por ejemplo: aire o gas, agua, petróleo o combinaciones de agua y aceite con determinado porcentaje de sólidos. A partir de esto se puede hacer una clasificación de los sistemas de fluidos de perforación según la fase continua de la mezcla, resumido en el Cuadro 1. [2, 3, 6, 7, 8]

Cuadro 1

Clasificación de Sistemas de fluidos de perforación según la fase continua de la mezcla



Se imponen muchos requisitos al fluido de perforación: el fluido de perforación no debe ser tóxico, ni corrosivo, ni inflamable, pero sí inerte a las contaminaciones de sales solubles o minerales y estable a las altas temperaturas. Además, debe mantener sus propiedades según las exigencias de las operaciones y debe ser inmune al desarrollo de bacterias.



Como funciones principales de un fluido de perforación podemos decir que son aquellas que requieren observación e intervención por parte del especialista en fluidos de perforación. [1, 2, 3, 6, 7, 8]

En la perforación rotativa, las principales funciones realizadas por el fluido de perforación son:

- Evitar la entrada de fluidos (petróleo, gas o agua de rocas permeables) y minimizar las fracturas que causan en el pozo.
- Llevar los recortes de roca de debajo de la broca, transportándolos por el anillo.
- Suspender sólidos, en particular materiales de alto peso específico.
- Mantener la estabilidad de las secciones sin revestimiento del pozo.
- Formar un revoque de filtración delgada y de baja permeabilidad, que sella los poros y otras aberturas en formaciones permeables penetradas por la broca.

El daño a la formación debido a la invasión de fluidos de perforación es un problema bien conocido en la perforación. La invasión de fluidos de perforación en la formación es causada por la presión diferencial de la columna hidrostática, que generalmente es mayor que la presión de formación, especialmente en zonas de baja presión o agotadas. La invasión también es causada por aberturas en la roca y la capacidad de los fluidos para moverse a través de la roca. Cuando la perforación agota las arenas en condiciones de desequilibrio, el lodo penetrará progresivamente en la formación a menos que haya una barrera de flujo efectiva presente en la pared del pozo. La presencia de una fase acuosa móvil puede provocar la migración de finos y el posterior daño a la formación. Por lo tanto, es deseable minimizar la migración de los finos, ya que los finos bloquean las vías de flujo, ahogando el potencial de la producción del pozo y causar daños en el fondo del pozo y en la superficie del equipo. [8]

3.5- Fluidos de perforación base agua (WBM: Water Based Mud)

El fluido de perforación o lodo de perforación, constituye el elemento fundamental de operación y control en las actividades de perforación, el cual es un sistema de tres componentes: agua, sólidos reactivos y sólidos inertes. El agua es la fase continua y los sólidos hacen a la fase discontinua [2, 6, 7, 8]. En ocasiones, también exhiben una fase gaseosa, ya sea por diseño o como resultado del arrastre de gas de formación.



Los fluidos de perforación acuosos, los que generalmente se conocen como lodos a base agua (WBM: Water Based Mud), son los más comunes y con sistemas más diversos. [8]

El estudio y diseño del fluido de perforación se debe hacer teniendo en cuenta consideraciones económicas, ambientales, técnicas y geológicas.

Su composición varía entre mezclas simples de agua y arcilla, y sistemas complejos de fluidos de perforación con inhibidores, o estabilizadores de arcillas, que incluyen muchos componentes. [8]

La culminación exitosa de un pozo de petróleo depende en gran medida de las propiedades del fluido de perforación. El costo del fluido de perforación en sí es relativamente pequeño en comparación con el costo total de perforar un pozo, pero la elección del fluido adecuado y el mantenimiento de sus propiedades durante la perforación influyen profundamente en el costo total del pozo. [3]

3.6- Fluidos WBM cálcicos

Los fluidos a base de calcio son salmueras de cloruro de calcio (CaCl_2) como fluido base o adiciones de cal o yeso. Estos fluidos fueron diseñados para ayudar en la estabilidad del pozo, ya que proporcionan altos niveles de calcio soluble para minimizar el hinchamiento de las arcillas hidratables. Son resistentes a los contaminantes, pero pueden experimentar altas concentraciones de gel, especialmente a altas temperaturas. [6, 7, 8]

Los dos sistemas básicos tratados con calcio y considerados en esta investigación por ser los que se utilizan en la cuenca del GSJ, son los fluidos formulados con cal y/o yeso. La adición de minerales ricos en iones calcio (Ca^{+2}) solubles en agua, tales como cal (hidróxido de calcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$)) y yeso (sulfato de calcio dihidratado ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)) al fluido de perforación puede ayudar al control del intercambio catiónico. Otro beneficio del Ca^{+2} es que este catión puede adherirse a dos superficies de arcilla (de característica aniónica) haciéndolas que se junten. Esto ayuda a prevenir el hinchamiento por hidratación de la arcilla.



Aparentemente, los fluidos cálcicos fueron descubiertos accidentalmente. Cuando se perforaba cemento, se descubrió que pequeñas cantidades de cal evitaban el incremento excesivo de la viscosidad y los geles. Los aditivos usados para preparar los fluidos tratados con calcio son soda cáustica, dispersantes orgánicos, cal, y agentes de control de filtrado. Los fluidos tratados con yeso se usan para perforar en áreas donde se encuentran formaciones de anhidrita y yeso. [4] La diferencia clave entre anhidrita y yeso es su contenido de agua; la anhidrita es una forma anhidra o sin agua de sulfato de calcio, mientras que el yeso contiene moléculas de agua dentro de su estructura cristalina. [32, 33]




3.7- Tramo guía en la perforación del pozo petrolero:

Se denomina tramo guía al largo de pozo perforado que se restringe a aproximadamente los primeros 700 metros de profundidad desde la superficie del pozo.

En la etapa de perforación del tramo guía, tal y como su nombre lo indica, se perfora y acondiciona un pozo hasta determinada profundidad, con el fin de facilitar todas las maniobras que se realizarán en la perforación final.

Más específicamente, se recibe el equipo de perforación montado sobre una locación y se entrega un pozo guía con las características de calidad especificadas para hacer la perforación final.

La etapa de perforación del tramo guía tiene las siguientes importancias:

-  Operativa: una buena perforación del tramo guía es esencial para una buena perforación final, ya que provee aislación en aquellas zonas no compactadas donde es muy difícil obturar con solo el revoque de lodo.
-  Seguridad: soporta el conjunto de BOP (Blow Out Preventer: control de inminentes desequilibrios de presión de pozo), las cañerías de entubación final, tubing y demás instalaciones de producción y de seguridad.
-  Ecológica o de ambiente: aísla capas freáticas cercanas a la superficie. [4]



3.8- Yacimientos y Operadoras

Las zonas productivas del GSJ están geográficamente organizadas en yacimientos y áreas, a las cuales los gobiernos provinciales las asignan por concesión a diferentes compañías operadoras de petróleo, siendo las más consolidadas: Pan American Energy (PAE), Yacimientos Petrolíferos Fiscales (YPF), Compañía General de Combustibles (CGC), Compañía Argentina de Petróleo Sociedad Anónima (CAPSA) y Tecpetrol.

La Tabla 2 [g] detalla la relación entre los yacimientos, sus respectivas áreas, las provincias a las que pertenecen y la profundidad final a la que se perfora cada tramo guía. Para proteger la confidencialidad de cada operadora, se las identifica como A, B y C, y de la misma manera se empleará esta nomenclatura para referirse a los fluidos de perforación analizados a lo largo del trabajo.

Tabla 2


Yacimientos en donde se aplican cada formulación de fluido de perforación, identificando a Operadoras de áreas petroleras en GSJ con las letras A, B y C.

	A		B	C		
<i>Provincia</i>	Chubut		Santa Cruz	Chubut		
<i>Yacimiento</i>	PAMPA DEL CASTILLO	DIADEMA ARGENTINA	CERRO WENCESLAO	CERRO TORTUGA	JORGE	ORIENTAL
<i>Área</i>	PAMPA DEL CASTILLO	DIADEMA	SANTA CRUZ	CERRO DRAGON	CERRO DRAGON	CERRO DRAGON
<i>Profundidad, m</i>	560	215	150	300	730	550


3.9- Parámetros fisicoquímicos para caracterizar a los fluidos de perforación


Se han considerado los siguientes parámetros fisicoquímicos para la caracterización de los fluidos de perforación a base agua seleccionados en este trabajo [34]:




 pH: la medida del pH es una de las pruebas más importantes y frecuentes utilizadas en el análisis químico del agua. Prácticamente todas las fases de tratamiento del agua para suministro y residual, como la neutralización ácido-base, precipitación, coagulación, desinfección y control de corrosión, dependen del pH.

Se determina por el método potenciométrico: el principio básico es la medida de la actividad de los iones hidrógeno por mediciones potenciométricas utilizando un electrodo patrón de hidrógeno y otro de referencia.

 Conductividad: La conductividad de efluentes líquidos es la capacidad de conducir corriente eléctrica debido a la presencia de iones disueltos. Se mide con un conductímetro que utiliza electrodos sumergidos en la muestra para medir la resistencia eléctrica, que varía según la concentración de iones y los resultados de la medición de conductividad se expresan generalmente en unidades de microsiemens por centímetro ($\mu\text{S}/\text{cm}$) o en milisiemens por centímetro (mS/cm).


 Dureza total: Desde la perspectiva de la química analítica, la dureza total se define como la suma de las concentraciones de iones calcio y magnesio, expresadas como equivalentes de carbonato de calcio por litro. La cantidad de dureza total puede variar ampliamente, desde cero hasta cientos de miligramos por litro, dependiendo de la fuente de agua y cualquier tratamiento al que haya sido sometida.

Su determinación se realiza mediante el método complejométrico utilizando ácido etilendiaminotetracético (EDTA), que forma complejos con los iones calcio y magnesio presentes en la muestra, permitiendo una medición precisa de la dureza total del agua.

 Cloruros: el ion cloruro (Cl^-) constituye uno de los aniones inorgánicos principales presentes en aguas naturales y residuales. Durante los procesos industriales, su concentración puede incrementarse, lo cual puede ser perjudicial, ya que niveles elevados pueden causar daños a las tuberías y estructuras metálicas, además de afectar el crecimiento vegetal.

La determinación de su contenido se realiza mediante el método argentométrico, técnica analítica que utiliza una solución de nitrato de plata basándose en la formación de un precipitado de cloruro de plata.



 Turbidez: propiedad óptica provocada por la presencia de partículas finamente divididas suspendidas en el agua y/o materias coloreadas, lo que causa dispersión y absorción de la luz en lugar de su transmisión en línea recta a través de la muestra.


Para su medición se utiliza el Método nefelométrico, el cual se basa en comparar la intensidad de la luz dispersada por la muestra bajo condiciones definidas con la luz dispersada por una solución patrón de referencia en las mismas condiciones. A mayor intensidad de luz dispersada, mayor es la turbidez, expresada en unidades nefelométricas (NTU).


3.10- Importancia de los productos químicos utilizados en la formulación de los fluidos de perforación y descripción de los utilizados en el diseño del tramo guía:

Los productos químicos, también conocidos como aditivos, se utilizan en un fluido de perforación para controlar una o más de sus propiedades [2, 6, 7, 8], tales como:


 Densidad (gravedad específica).

 Viscosidad: espesamiento, adelgazamiento, y modelación reológica.

 Pérdida de fluidos: filtración, pérdida de circulación, y fortalecimiento de las paredes del pozo con la formación de revoque. Lo cual se mide a través de un filtrado API.


 Reactividad química: alcalinidad, pH, lubricación, estabilidad de esquisto, inhibición de arcillas, floculación, control de la contaminación, actividad interfacial/superficial, y emulsificación.

3.11- Aditivos utilizados en las formulaciones de los fluidos de perforación para el tramo guía estudiados:


 Los coloides inorgánicos están compuestos principalmente de material arcilloso activo que está completamente hidratado y disperso. La actividad de la fracción coloidal inorgánica deriva del tamaño muy pequeño de la partícula en relación con su gravedad específica y las fuerzas electrostáticas sobre su superficies y bordes. Debido a la alta superficie específica, el comportamiento de las partículas se rige principalmente por las cargas electrostáticas en sus superficies, que dan lugar a fuerzas interpartículas, atractivas o repulsivas. [1]



- BENTONITA [35]: es una arcilla sódica de alto grado de pureza, de nombre científico Montmorillonita. Estructuralmente tiene tres capas (sílice–aluminio y magnesio–sílice). Es la arcilla comercial más utilizada en fluidos de perforación base agua. Funciona como un viscosificante, ayudando a aumentar la viscosidad de los fluidos de perforación a base de agua. Además, cumple varias funciones importantes, como reducir la filtración de agua en formaciones permeables, formar un revoque delgado de baja permeabilidad y promover la estabilidad del pozo en formaciones poco consolidadas.

 Los sistemas de calcio proporcionan calcio soluble y de reserva en un fluido de perforación. El calcio soluble desempeña varias funciones. Proporciona la inhibición del pozo al minimizar la hidratación de los sólidos perforados y las lutitas expuestas mediante el intercambio de bases en las arcillas a base de calcio. Hace que un fluido de perforación sea compatible con las formaciones que tienen altas concentraciones de calcio, como la anhidrita. Precipita los iones carbonato (CO_3^{2-}) que resultan de la contaminación de dióxido de carbono (CO_2). [7]

- YESO, sulfato de calcio dihidratado ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$): fuente de ion calcio. Es un mineral no metalífero, y se trata de una de las especies más ampliamente distribuidas en la corteza terrestre. Las dos moléculas de agua combinadas presentes en el yeso, le confieren propiedades de suma importancia: a través de la aplicación de una cantidad de calor relativamente moderada, el yeso puede perder una molécula y media de agua de combinación para convertirse en hemihidrato.
- CAL, hidróxido de calcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$): fuente de ion calcio en los fluidos de perforación. Producto que se obtiene calcinando la piedra caliza por debajo de la temperatura de descomposición del óxido de calcio. En ese estado se denomina cal viva u óxido de calcio y si se apaga sometiéndola al tratamiento con agua, se le llama cal apagada (hidróxido de calcio). [36]

 Las fuerzas superficiales afectan a muchos aspectos del fluido de perforación, como el comportamiento de las suspensiones de arcilla, la formación de emulsiones y espumas, la



formación de bolas de bits por arcillas plásticas, estabilidad del pozo y daños en la formación por filtrados de lodo de perforación.

Un tensioactivo tiene la capacidad química de adsorberse en las superficies y en las interfaces, y bajar la energía libre superficial de la misma. Se utilizan en fluidos de perforación como emulsionantes, humectantes, espumantes, antiespumantes y para disminuir la hidratación de superficies arcillosas.

Los tensioactivos pueden clasificarse como catiónicos, aniónicos o no iónicos.

Los tensioactivos empleados en los fluidos de perforación analizados en este estudio se identifican como tensioactivo 1, 2 y 3 [37] para proteger su origen comercial. Por ende, la composición química no se proporciona debido a que constituye información confidencial de los fabricantes.

- TENSIOACTIVO 1: es un producto químico desarrollado para reducir el pegamiento de matrices arcillosas, desempeñando un papel crucial en la minimización del embolamiento de trépano y herramientas durante las operaciones de perforación. Este tensioactivo, de base acuosa, está formulado a partir de una combinación de moléculas aniónicas como los silicatos y no iónicas, sin contener presencia de anillos aromáticos, que actúan directamente sobre la tensión superficial del lodo, formulándose con nonil fenoles y alcoholes etoxilados. Este producto presenta un pH elevado y es hidrofílico.
- TENSIOACTIVO 2: este producto biodegradable es un éster metílico de ácidos grasos derivado del aceite de soja, una mezcla que incluye ésteres de cadenas cortas y largas obtenidos mediante la transesterificación de aceites vegetales. Por lo tanto, es natural, no contiene aromáticos derivados del petróleo y es seguro y respetuoso con el medio ambiente para las operaciones de perforación. Se lo considera un componente esencial en los fluidos de perforación por ser compatible con una amplia gama de sistemas como agua dulce, agua salada, potásicos con cloruro de potasio (KCl), cálcicos con yeso o cal y sistemas poliméricos en general. Su versatilidad se refleja en su capacidad para minimizar los problemas asociados con arcillas hidratables, al tiempo que ofrece beneficios significativos en todos los parámetros del lodo. Es oleofílico.



- TENSIOACTIVO 3: es un producto compuesto por una mezcla de tensoactivos aniónicos y no iónicos en un medio biodegradable de base oleosa la cual se logra mediante la combinación de ácidos grasos modificados. Esta combinación le confiere la capacidad de reducir la tensión superficial del lodo.

Producto diseñado para ser versátil en su aplicación en una amplia gama de sistemas de fluidos de perforación, ya sea a base de agua dulce o salada, incluyendo aquellos con la presencia de KCl, yeso y otros aditivos. Es oleofílico.

3.12- Ecotoxicología

La ecotoxicología es la disciplina científica que estudia el efecto de las sustancias y compuestos químicos sobre los ecosistemas. Una característica de esta disciplina es que los conocimientos científicos y las tecnologías que desarrolla se utilizan para resolver problemas ambientales concretos. [38]

La primera definición del término “ecotoxicología” suele ser atribuida al toxicólogo francés René Truhaut, quien en junio de 1969 la definió, durante una reunión del “International Council of Scientific Unions” (ICSU) en Estocolmo, como “la rama de la toxicología relacionada con el estudio de los efectos tóxicos, causados por contaminantes naturales o sintéticos, a los componentes de los ecosistemas, animales (incluidos los humanos), vegetales y microbianos, en un contexto integral”. [39]

3.13- Toxicidad aguda, efecto adverso letal o subletal, inducido sobre los organismos de ensayo en prueba que ocurre dentro de un periodo corto de tiempo: minutos, horas o algunos días, en relación con el periodo de vida del organismo de ensayo. [40-41]

Para el estudio de toxicidad aguda, se emplearon semillas de *Lactuca sativa*, L., por ser sensibles a los cambios del medio ambiente y pueden proporcionar información valiosa sobre la presencia de contaminantes (sustancias nocivas) disueltas en agua. [40-41]



3.14- Contaminante

Sustancia ajena, presente en un sistema natural en una concentración más elevada de lo normal por causa de actividad antrópica directa o indirecta. En un sentido más amplio se lo define como la presencia de cualquier agente físico, químico o biológico, o de combinaciones de los mismos en lugares, formas y concentraciones tales y con tal duración que sean o puedan ser nocivos para la salud, la seguridad o bienestar de la población, o perjudiciales para la vida animal y vegetal, o que impidan el uso y goce de las propiedades y lugares de recreación. [39]

3.15- Importancia de un Bioensayo de toxicidad

Para evaluar los efectos perjudiciales potenciales de un químico (u otro agente) sobre la biota, es necesario establecer una relación cuantitativa reproducible entre la exposición a las sustancias químicas y alguna medida de daño al organismo o grupo de organismos bajo investigación. La mayoría de los datos toxicológicos ambientales actuales provienen de ensayos de laboratorio controlados y generalmente involucran productos químicos individuales y poblaciones muy pequeñas de organismos de prueba. [40]

Los bioensayos biológicos son adecuados para determinar el efecto de los parámetros fisicoquímicos en los organismos bajo condiciones experimentales específicas. En principio, los métodos de análisis químicos no son adecuados para determinar los efectos biológicos. Los efectos pueden ser de estimulación o inhibición, y pueden ser determinados por la reacción de los organismos, como la muerte, crecimiento, proliferación, cambio morfológicos, fisiológicos o histológicos.

Los efectos de inhibición son desencadenados por los elementos tóxicos solubles en agua o por otras influencias nocivas y pueden manifestarse en varios niveles, desde estructuras subcelulares o sistemas de enzimas, hasta organismos completos y eventualmente hasta el nivel comunitario.

Además del efecto tóxico directo de uno o más constituyentes del agua, se pueden ejercer efectos dañinos en general sobre sistemas biológicos por la acción combinada de todas las sustancias tóxicas, incluso también por aquellas sustancias que no son tóxicas por sí mismas, pero si afectan las



propiedades químicas o físicas del medio y consecuentemente las condiciones de vida de los organismos. [40]

Así la importancia de los bioensayos es que se consideran herramientas adecuadas para evaluar efectos tóxicos de mezclas complejas como el filtrado de un fluido de perforación, dado que las pruebas fisicoquímicas no resultan suficientes para valorar los efectos potenciales sobre la biota acuática y terrestre.

Uno de los aspectos importantes en toxicología y ecotoxicología es la relación entre la concentración de un compuesto químico a la cual se expone un organismo y el consecuente efecto tóxico que le produce. Esta relación, conocida como la relación dosis-respuesta, constituye la base para la evaluación del peligro y el riesgo generado por las sustancias químicas en el medio ambiente. [40]

El objetivo de un ensayo de toxicidad en una muestra de agua, efluente o compuesto puro, es estimar la concentración segura o concentración a la cual no se observa efecto; sin embargo, este término es más un concepto biológico que un resultado estadístico. Los gráficos bivariantes de la relación dosis-respuesta muestran en general patrones no rectilíneos de tipo sigmoide. [40]

En un gráfico de relación dosis respuesta, se representa la concentración de cada solución en el eje de las abscisas versus la correspondiente cantidad de semillas no germinadas en el eje de las ordenadas.

3.16- Fundamento del método del bioensayo con semillas de *Lactuca sativa* L.

Durante el período de germinación y los primeros días de desarrollo de la plántula (Imagen 3), ocurren numerosos procesos fisiológicos en los que la presencia de una sustancia tóxica puede interferir alterando la supervivencia y el desarrollo normal de la planta, siendo por lo tanto una etapa de gran sensibilidad frente a factores externos adversos. La evaluación del desarrollo y elongación de la radícula constituye un indicador representativo para determinar la capacidad de establecimiento y desarrollo de la planta, pudiendo ponderar el efecto tóxico de compuestos solubles presentes en niveles de concentración tan bajos que no son suficientes para inhibir la germinación, pero sin embargo

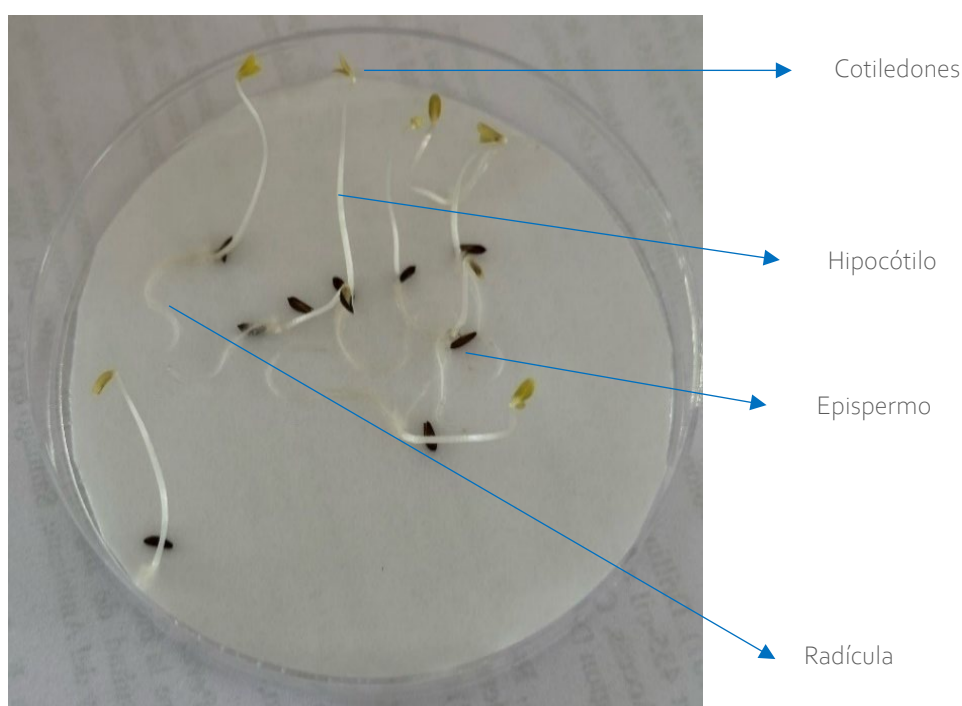


pueden retardar o inhibir completamente los procesos de elongación de la radícula, dependiendo ello del modo y sitio de acción del compuesto. [40]

De esta manera la inhibición de la elongación de la radícula constituye un indicador subletal muy sensible para la evaluación de los efectos biológicos en vegetales, aportando información complementaria a la proporcionada al estudiar el efecto de la germinación. [40]

Imagen 3

Esquema de la plántula de *Lactuca sativa* L.



3.17- Propiedades del método del bioensayo





El bioensayo de toxicidad con semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) es un bioensayo estático de toxicidad aguda, con una duración de 120 horas de incubación, con el que se puede evaluar los efectos tóxicos de las muestras sobre el proceso de germinación de las semillas y el desarrollo de las plántulas durante los primeros días de crecimiento. [39-40]



3.18- Organismo para el bioensayo

Los primeros días de crecimiento de las plántulas suelen ser las etapas más sensibles del desarrollo de las plantas. Los efectos adversos debidos a la exposición a sustancias químicas son más probables durante estas fases. Debido a la fase de rápido crecimiento, el daño a las raíces de la planta será más fácilmente perceptible. [41, 42]

Especie de bioensayo:

-  Categoría: Dicotiledóneas
-  Nombre vulgar: lechuga
-  Nombre científico: *Lactuca sativa* L.
-  Familia: Asteraceae

Las semillas de lechuga *Lactuca sativa* L., se obtienen en semillerías donde procuran que no tengan tratamientos con fungicidas o plaguicidas. Tienen buen poder germinativo, baja variabilidad en la elongación de la radícula y una adecuada sensibilidad al tóxico de referencia. [42]

Se seleccionan las semillas de lechuga *Lactuca sativa* L., como un bioindicador de toxicidad terrestre, porque puede evidenciar el efecto de las aguas residuales en un uso posterior para el riego agrícola. [42]

Algunas variedades de semillas de lechuga requieren oscuridad para que se produzca la germinación (semillas fotoblásticas negativas). [40, 42] La prueba con *Lactuca sativa* L. es una de las más utilizadas a nivel mundial y resulta sencillo y bien reconocido desde el punto de vista regulatorio.



4- MATERIALES Y MÉTODOS

4.1- Material biológico como bioindicador en los bioensayos:

- Semillas de *Lactuca sativa* L. variedad: Criolla
- Semillas de *Lactuca sativa* L. variedad: Grand rapid

4.2- Reactivos:

- agua destilada (AD)
- agua dulce para tramos guías muestreadas en yacimiento
- bentonita comercial para la industria petrolera, arcilla Montmorillonita sódica.
- cal hidratada ($\text{Ca}(\text{OH})_2$), MM: 74 g/mol, calidad industrial.
- solución de cromato de potasio (K_2CrO_4) 5%, 194,19 g/mol, Anedra, 99%, calidad p.a.
- solución de EDTA (sal disódica de ácido etilendiaminotetraacético dihidratado) 0,01 M, ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), MM: 416,2 g/mol, Anedra, 99%, calidad p.a.
- negro de eriocromo T ($\text{C}_{20}\text{H}_{12}\text{N}_3\text{O}_7\text{SNa}$), MM: 461,381 g/mol, Cicarelli, 99%, calidad p.a.
- nitrato de plata (AgNO_3) 0,0282 M, MM: 169,872 g/mol, Anedra, 99%, calidad p.a.
- solución buffer de cloruro de amonio (NH_4Cl), MM: 53,49 g/mol, Anedra, 99,5 % e hidróxido de amonio (NH_4OH), MM: 35,1 g/mol Cicarelli, 28% p/p.
- sulfato de calcio dihidratado ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), MM: 172,17 g/mol, calidad industrial.
- sulfato de cinc heptahidratado ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), MM: 287,5 g/mol Cicarelli, 99%, calidad p.a.
- tensioactivo 1, de base acuosa, formulado a partir de distintos tensoactivos aniónicos y no iónicos, calidad industrial.
- tensioactivo 2, mezcla de esteres metílicos de ácidos grasos de cadenas cortas y largas, calidad industrial.
- tensioactivo 3, producto de base oleosa formulado a partir de ácidos grasos modificados, calidad industrial.



4.3- Equipos:

- Balanza analítica digital $\pm 0,1$ mg, AUY220, Shimadzu.
- Conductímetro a-AB23EC, OHAUS.
- Filtro prensa de baja presión de 400 mL, Ofite.
- Medidor digital de pH, AB23PH, OHAUS.
- Mezclador eléctrico con agitador ondulante con vaso, Hamilton Beach.
- Micrómetro digital de precisión
- Termómetro digital de -20 a +230°C, 08496820, Testo.
- Turbidímetro 2100Q, HACH.

4.4- Materiales:

- Bandeja de pesada de aluminio
- Bolsa de consorcio negra gruesa
- Cápsulas de CO₂ de 12 gramos
- Crisol de pesada de cerámica de 50 mL
- Cronómetro digital
- Espátula tipo cuchara chica y mediana
- Frascos de vidrio color caramelo de 250 mL y 1000 mL
- Matraces aforados de 50,00 \pm 0,05 mL; 250,00 \pm 0,20 mL; 1000,00 \pm 0,30 mL
- Papel de filtro de germinación
- Papel film negro
- Pinza metálica de punta fina
- Pipetas graduadas serológicas de 1,000 \pm 0,007 mL; 5,00 \pm 0,03 mL; 10,00 \pm 0,05 mL
- Piseta plástica de 500 mL
- Placas de Petri 90 mm de diámetro
- Propipeta de goma
- Tijera para papel
- Vasos metálicos para mezclador eléctrico
- Probetas graduadas con tapa esmerilada de 25,00 \pm 0,50 mL; 50,0 \pm 0,5 mL; 100,0 \pm 1,0 mL; 500,0 \pm 5,0 mL
- Vasos de precipitado de vidrio de 100 y 250 mL



4.5- Preparación de las soluciones de los fluidos de perforación para el tramo guía siguiendo las formulaciones propuestas en los programas de pozo por cada compañía Operadora petrolera:

Se seleccionaron tres alternativas de fluidos de perforación designadas como A, B y C. Estas opciones fueron diseñadas según un programa de pozo, específicamente para el tramo guía del futuro pozo, bajo la supervisión respectiva de cada compañía operadora de perforación. Cada alternativa se conformó con distintos productos químicos específicos y la combinación final de ellos se denominó formulación, todas detalladas en la Tabla 3. [9]

En total, se prepararon seis suspensiones de fluidos de perforación, teniendo en cuenta el uso de dos tipos de agua: agua destilada (AD) y agua dulce para tramos guías (ADTG), siendo esta última la empleada en los yacimientos. Es de destacar que las aguas dulces para tramos guías utilizadas en A, B y C son distintas entre ellas, cada cual tuvo un muestra independiente en yacimientos específicos de cada operadora petrolera, como se indica en la Tabla 3.

Tabla 3

Suspensiones de los fluidos de perforación para el tramo guía siguiendo las formulaciones propuestas en los programas de pozo por cada Cía. Operadora petrolera, designadas como A, B y C.

	Formulaciones		
	A	B	C
BENTONITA , Kg/m ³	40	40	65
<i>Masa en 350 mL de agua, g</i>	14,0000	14,0000	22,7500
TENSIOACTIVO 1 , L/m ³	10	0	0
<i>Volumen en 350 mL de agua, mL</i>	3,50		
TENSIOACTIVO 2 , L/m ³	0	10	0
<i>Volumen en 350 mL de agua, mL</i>		3,50	
TENSIOACTIVO 3 , L/m ³	0	0	15
<i>Volumen en 350 mL de agua, mL</i>			5,25
YESO DESHID. , Kg/m ³	20	0	40
<i>Masa en 350 mL de agua, g</i>	7,0000		14,0000
CAL HIDRATADA , Kg/m ³	0	0	2
<i>Masa en 350 mL de agua, g</i>			0,7000



Para la preparación en 350 mL de agua, de cada formulación, con la ayuda de un crisol y de una espátula, se pesaron en la balanza analítica las masas indicadas en la Tabla 3. Posteriormente, se midieron los 350 mL de agua utilizando una probeta de 500 mL, para luego verterla en un vaso metálico específico del agitador eléctrico. Ya accionado el agitador eléctrico se incorporó lentamente la masa de bentonita, permitiendo una agitación continua a no menos de 11500 rpm durante 20 minutos, garantizando así la completa hidratación y homogeneización de esta arcilla. Una vez finalizada esta etapa, sin interrumpir la agitación contante, sobre la ya conformada suspensión de bentonita se añadieron de forma continua los demás productos químicos que conforman las formulaciones siguiendo como orden de agregado el indicado en la Tabla 3. La mezcla con la formulación completa se dejó agitando durante 15 minutos adicionales para lograr una total homogeneización de todos los aditivos.

En los bioensayos se utilizó el filtrado (fase continua) de las formulaciones preparadas, el cual se obtiene mediante un proceso de filtración. Este paso es crucial ya que en la fase continua se encuentran disueltas las especies químicas que podrían tener efectos tóxicos.

Cada formulación preparada se filtró utilizando un filtro prensa API, tal como se ve en las imágenes 4, 5 y 6. Se inició el proceso trasvasando cada solución a distintas celdas del filtro, para luego colocarlas en los pies de los filtros y cerrarlas con la tapa correspondiente, con la cual se ejercer la presurización a una presión constante de 100 psi durante 30 minutos. Cada filtrado se recolectó en una probeta de 100 mL, y se denomina a continuación como 4. [43, 44, 45]

Imagen 4
Muestra de fluido de perforación dentro de la celda del filtro prensa.



Imagen 5
Proceso de filtración en marcha mostrando una presurización a 100 psi.



Imagen 6

Proceso de filtración en simultáneo aplicado a las muestras de fluidos de perforación A, B y C.



4.6- Preparación de las diluciones de los filtrados de las formulaciones de los fluidos de perforación:

El filtrado recolectado en cada probeta se consideró como una solución madre, a partir de la cual se realizaron las diluciones a concentraciones de 30% v/v, 60% v/v y 90% v/v para llevar a cabo las experiencias de los bioensayos de toxicidad.

Para la preparación de estas diluciones, se emplearon pipetas graduadas y matraces aforados apropiados para los volúmenes requeridos. El volumen total preparado de cada dilución fue de 25 mL en matraz aforado. Se utilizaron solo 12 mL considerando la siembra por triplicado, requiriendo 4 mL en cada placa de Petri para humedecer el papel de germinación.

4.7- Determinación de parámetros fisicoquímicos de las soluciones de los Fluidos de Perforación estudiados

Para caracterizar las soluciones de los fluidos de perforación A, B y C, se analizaron por triplicado, considerando los siguientes parámetros fisicoquímicos: pH (mediante método potenciométrico), conductividad (método instrumental), dureza total (empleando el método complejométrico de EDTA),



contenido de cloruros (empleando el método argentométrico) y turbidez (mediante el método nefelométrico), según los procedimientos estandarizados en Standard Methods. [34]

Los valores límites de los parámetros analizados se tomaron del Decreto N° 709/17 de la provincia de Chubut, [22] los cuales en ningún caso y sin excepción pueden superar los valores establecidos, como se describe en el Anexo C.

4.8- Preparación de las diluciones del sulfato de cinc heptahidratado ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) como tóxico de referencia para las experiencias de los bioensayos

Para preparar la solución madre de 1000 ppm de sulfato de cinc heptahidratado ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$), en la balanza analítica con precisión se pesó una masa de 1,0000 g. Posteriormente, en suficiente cantidad de agua destilada tal masa se disolvió y se llevó a volumen final en un matraz aforado de 1000 mL (Imagen 7).

Para obtener la serie de diluciones en el orden de 100 ppm, 10 ppm, 1 ppm y 0,1 ppm, se emplearon convenientes pipetas graduadas y matraces aforados, continuando el uso de agua destilada como disolvente (Imagen 8).

Imagen 7

Balanza analítica utilizada en las experiencias de laboratorio.



Imagen 8

Material de vidrio destinado a la preparación y conservación de las diluciones de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$.



4.9- Bioensayos de toxicidad con *Lactuca sativa* L.

4.9.1- Efecto sobre la germinación:

El bioensayo con *Lactuca sativa*, L. evalúa el efecto tóxico subletal y letal. El primero hace referencia a la afectación de desarrollo normal de órganos de la planta como la radícula y el hipocótilo. El segundo tiene que ver con la inhibición de la germinación de la semilla y se corresponde con un efecto drástico del tóxico.

Con este se evaluó el efecto tóxico de un compuesto puro como el sulfato de cinc heptahidratado ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) o una mezcla compleja como las soluciones de fluidos de perforación, en el desarrollo de las plántulas durante los primeros días de crecimiento. Para la evaluación de los efectos fitotóxicos, se determinó la inhibición de la germinación, así como la afectación en la elongación de la radícula y el hipocótilo. Esto permite evaluar el efecto tóxico de compuestos hidrosolubles presentes en concentraciones tan bajas que no son suficientes para inhibir la germinación, pero que sí pueden retardar o inhibir completamente los procesos de prolongación de la radícula o del hipocótilo, lo que depende del modo y lugar de acción de los contaminantes. Este bioensayo permite monitorear las aguas residuales en diferentes momentos del proceso tecnológico de depuración.

4.9.2- Etapas experimentales de los bioensayos de toxicidad:

Se trabajó en tres etapas experimentales, la primera fue la verificación de la viabilidad de las semillas *Lactuca sativa*, L. la cual consta de la verificación del porcentaje de germinación del bioindicador sometido a agua destilada (Control negativo), conjuntamente con la evaluación de la variabilidad del crecimiento de la radícula e hipocótilo, expresado como coeficiente de variación (CV). La segunda etapa comenzó una vez seleccionado el lote de semillas vitales, las cuales fueron expuestas a un tóxico de referencia (Control positivo), en este caso se aplicó Zn^{+2} en forma de sulfato de cinc heptahidratado ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$). La tercera etapa experimental fue la inherente a la exposición del lote de semillas seleccionado a las disoluciones de fluidos de perforación estudiados.



4.9.3- Metodología y condiciones de los bioensayos de toxicidad, de acuerdo a la norma IRAM 29114 [41]

4.9.3.1- Verificación de la viabilidad de las semillas:

Se inició el proceso preparando las placas de Petri, las cuales fueron higienizadas sumergiéndolas en una solución de hipoclorito de sodio al 10%, enjuagadas con agua corriente y finalmente con agua destilada. Fueron secadas por escurrimiento y papel absorbente. En cada placa, se colocó un disco de papel de filtro para germinación, al cual luego utilizando una pipeta de 5 mL se saturó con 4 mL de agua destilada, evitando las burbujas de aire. Con la ayuda de una pinza metálica, se dispusieron cuidadosamente diez (10) semillas, dejando suficiente espacio entre ellas permitiendo así la germinación de las futuras plántulas. Todas las placas de Petri se cubrieron con sus tapas y se envolvieron con papel film negro para evitar la pérdida de humedad y comenzar el aislamiento a la luz ambiente. Este proceso se llevó a cabo por triplicado. El total de las placas sembradas se protegieron de la luz mediante bolsas de plástico negro (Imagen 9), operando como cámara oscura de incubación. El período de incubación fue de 120 horas (5 días) a una temperatura ambiente promedio de 22 ± 2 °C. La Tabla 4 presenta un resumen de las condiciones experimentales del bioensayo de toxicidad aguda con semillas de *Lactuca sativa* L.

Al concluir la incubación, se abrió la cámara y se retiró el papel film de cada placa para proceder a contabilizar las semillas germinadas, y se midió la longitud de la radícula e hipocótilo. Se consideró como criterio de germinación la aparición visible de la radícula (radícula > 1 mm). Se prestó especial atención a cualquier signo de germinación anormal, como la emergencia de cotiledones sin la presencia de radícula, la presencia de necrosis en los ápices radiculares y cotiledones, un desarrollo insuficiente de pelos absorbentes, y la presencia de radículas con crecimiento ensortijado. También se observó la posible presencia de desarrollo fúngico dentro de las placas de Petri, lo cual es de importancia en este punto. [41, 42]

Se evaluó el efecto en la elongación tanto de la radícula como del hipocótilo de las plántulas germinadas, midiendo cuidadosamente su longitud con un micrómetro digital. La medición de la elongación de la radícula se realizó desde el nudo (la región más engrosada de transición entre la



radícula y el hipocótilo) hasta el ápice radicular. La medición de la elongación del hipocótilo se efectuó desde el nudo hasta el punto de inserción de los dos cotiledones. Identificados en la Imagen 3.

Se determinó el promedio de las longitudes, la desviación estándar, se calculó el porcentaje de germinación con la Ecuación 1 y el coeficiente de variabilidad de elongación de la radícula (CV) con la Ecuación 2. Esto permitió seleccionar la variedad de las semillas que conservaban la vitalidad necesaria para proceder a su utilización en el bioensayo de toxicidad de los fluidos de perforación.

Imagen 9

Cámara oscura para el periodo de germinación a temperatura ambiente durante 120 horas.



4.9.3.2- Control de calidad: bioensayo de sensibilidad de las semillas con el tóxico de referencia:

Siguiendo el mismo procedimiento aplicado para realizar el control positivo (Tabla 3), se saturó cada papel con 4 mL de cada dilución del tóxico de referencia: 1000 ppm (solución madre al 100%) como control negativo, 100 ppm, 10 ppm, 1 ppm, y 0,1 ppm de sulfato de cinc heptahidratado ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$). Culminado el período de exposición se realizó el conteo de semillas germinadas y se midió la longitud de la radícula e hipocótilo. Se determinó el promedio de la longitud de la radícula e hipocótilo, la desviación estándar y el coeficiente de variación del control negativo y de las diluciones.



4.9.4- Análisis de las muestras: bioensayo de sensibilidad de las semillas con las diluciones de los filtrados de los fluidos de perforación:

Siguiendo el mismo procedimiento que en 4.9.3.1 ó 4.9.3.2 (Tabla 4), se saturó cada papel con 4 mL de cada dilución de los filtrados de los fluidos de perforación: 0 % v/v, 30 % v/v, 60 % v/v, 90 % v/v, 100 % v/v.

Tabla 4

*Condiciones de realización del bioensayo de toxicidad aguda con semillas de *Lactuca sativa* L.*

<i>Tipo de bioensayo</i>	Estático
<i>Temperatura</i>	Ambiente controlado
<i>Calidad de luz</i>	Oscuridad
<i>Volumen de la solución por cada placa</i>	4 mL
<i>Solvente para diluciones</i>	Agua destilada (AD)
<i>Cantidad de semillas por placa de Petri</i>	10
<i>Cantidad de placas de Petri replicadas</i>	3
<i>Tiempo de incubación</i>	120 horas
<i>Muestras</i>	Agua destilada, diluciones de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ y muestras de fluidos de perforación y sus diluciones.
<i>Tipo de bioensayo</i>	Estático



Culminado el período de exposición se realizó el conteo de semillas germinadas y se midió la longitud de la radícula e hipocótilo. Se determinó el promedio de la longitud de la radícula e hipocótilo, la desviación estándar y el coeficiente de variación del control negativo y de las diluciones.

Con los resultados obtenidos de estas cuatro diluciones de las muestras estudiadas se realizaron las correspondientes curvas dosis respuesta.

4.10- Expresión de los resultados de los bioensayos y criterios para asignar las categorías de toxicidad

Los efectos de fitotoxicidad, se determinaron mediante los indicadores de toxicidad que a continuación son detallados [39, 40, 41, 46, 47, 48]:

4.10.1- Porcentaje de germinación (%G):

Para calcular el porcentaje de germinación, se utilizó la Ecuación 1

$$\%G = \frac{G}{N} \times 100 \quad (\text{Ecuación 1})$$

Donde:

N: es el número inicial de semillas sembradas.

G: es el número de semillas que germinaron, con la aparición visible de la radícula (radícula > 1 mm).

4.10.2- Coeficiente de variabilidad en la elongación de la radícula (CV):

Se calculó de acuerdo a la Ecuación 2:

$$CV, \% = \frac{s}{\bar{x}} \times 100 \quad (\text{Ecuación 2})$$

Dónde:

s: es la desviación estándar de la elongación de la radícula

\bar{x} : corresponde al promedio o la media de la elongación de la radícula.



4.10.3- Índice de germinación:

El Índice de Germinación (IG) es una medida utilizada en estudios de semillas para evaluar la capacidad germinativa y el vigor de las plántulas bajo diferentes condiciones. Cuando se consideran tanto el porcentaje de la germinación relativa de semillas (GRS) como el crecimiento relativo de la radícula (CRR), se obtiene una visión más completa del rendimiento de las semillas no solo en términos de la cantidad que germina, sino también en la calidad y vigor del crecimiento inicial de las plántulas.

[48]

$$(GRS), \% = \frac{N^{\circ} \text{ de semillas germinadas con agua del sitio de muestreo}}{N^{\circ} \text{ de semillas germinadas con agua del sitio del testigo}} \times 100 \quad (\text{Ecuación 3})$$

$$(CRR), \% = \frac{\text{Longitud media de radícula con agua del sitio de muestreo}}{\text{Longitud media de radícula con agua del sitio del testigo}} \times 100 \quad (\text{Ecuación 4})$$

$$\text{Índice de germinación (IG), \%} = \frac{GRS \times CRR}{100} \quad (\text{Ecuación 5})$$

4.10.4- Porcentaje de germinación residual normalizado, (IGN) [36]:

$$IGN = \frac{Germ_x - Germ_{testigo}}{Germ_{testigo}} \quad (\text{Ecuación 6})$$

Donde **Germ_x** es el porcentaje promedio de semillas germinadas en el agua de cada sitio de estudio y **Germ_{testigo}** es el porcentaje de semillas germinadas en el testigo.

4.10.5- Porcentaje de elongación radical residual normalizado (IER):

$$IER = \frac{Elong_x - Elong_{testigo}}{Elong_{testigo}} \quad (\text{Ecuación 7})$$





Donde **Elong_x** es la longitud promedio de la radícula de las semillas germinadas en cada sitio de estudio y cada dilución, y **Elong_{Testigo}** es la longitud promedio de la radícula de las semillas germinadas en el testigo.

Ambos índices, IGN e IER, establecen valores de toxicidad desde -1 a 0, según las categorías descriptas en la Tabla 5 [48]:

Tabla 5
Categorías de toxicidad para IGN e IER

<i>Categoría</i>	IGN	IER
<i>Crecimiento de la radícula</i>	> 0	> 0
<i>Baja toxicidad</i>	0 a -0,25	0 a -0,25
<i>Toxicidad Moderada</i>	-0,25 a -0,5	-0,25 a -0,5
<i>Muy tóxico</i>	-0,5 a -0,75	-0,5 a -0,75
<i>Toxicidad Muy alta</i>	-0,75 a -1	-0,75 a -1

4.10.6- Estimación de LOEC y NOEC:

-  LOEC: valor mínimo de concentración de una sustancia o porcentaje evaluado de la muestra de bioensayo al que se observa un efecto estadísticamente significativo con respecto al control, o sea la concentración más baja a la que se observa efecto. [39, 41]
-  NOEC: valor máximo de concentración de una sustancia o porcentaje evaluado de la muestra de bioensayo que no tiene un efecto estadísticamente significativo con respecto al control, o sea la concentración más alta a la cual no se observa efecto. [39, 41]

4.10.7- Concentración inhibitoria 50% de la germinación (CI₅₀):

Concentración inhibitoria (CI_x): la cual corresponde a la concentración del tóxico, muestra o efluente que puede producir una reducción de una respuesta biológica en una población expuesta. En este caso es la concentración que produce una inhibición de crecimiento del 50% de la población en estudio. [39, 41]



Con el método de análisis Probit se estima la CI_{50} ajustando los datos de inhibición de germinación mediante una técnica de probabilidad para estimar los valores que siguen una distribución logarítmica de tolerancias. El porcentaje de semillas no germinadas por la acción tóxica de una sustancia se transforma a unidades Probit. Esta transformación permite el ajuste a una línea de regresión, en la cual la concentración perteneciente al Probit corresponderá a la cantidad de sustancia capaz de generar el efecto estudiado en la 50% de la población.

El procedimiento Análisis Probit está diseñado para ajustar un modelo de regresión en el cual la variable dependiente Y caracteriza un evento con sólo dos posibles resultados. Se pueden modelar dos tipos de datos:

Datos en los que, Y consiste en un conjunto de 0's y 1's, donde 1 representa la ocurrencia de uno de los dos resultados.

Datos en los cuales Y representa la proporción de veces que ocurre uno de los dos resultados.

El modelo de regresión relaciona a Y con una o más variables predictoras X, que pueden ser cuantitativas o categóricas. [49]

Para el cálculo de la CI_{50} y sus respectivos límites de confianza al 95% se utiliza el método Probit, recurriendo a la hoja de cálculo Excel (desarrollada por Microsoft), aplicando la Ecuación 8 y corroborando con la Tabla 6. [39]

$$\text{Valor Probit} = 5 + \text{INV. NORM. E. STAND} \times \frac{\text{cantidad de semillas sin germinar}}{\text{cantidad de semillas sembradas}} \quad (\text{Ecuación 8})$$

La Ecuación 8 se compone de la siguiente manera:

“INV.NORM. ESTAND (probabilidad)”:

- Esta función en Excel calcula el valor de una distribución normal estándar (con media 0 y desviación estándar 1) que corresponde a una cierta probabilidad, que es el cociente de la cantidad de semillas sin germinar dividido entre la cantidad total de semillas sembradas, lo que representa la proporción de semillas que no germinaron.



- La función “INV.NORM. ESTAND” toma la proporción P y la convierte en un valor Z de la distribución normal estándar. Este valor Z representa la desviación estándar de P con respecto a la media (en una distribución normal estándar).

“Proporción de semillas sin germinar (P)”: se interpreta como una probabilidad de no germinación.

$$P = \frac{\text{cantidad de semillas sin germinar}}{\text{cantidad de semillas sembradas}}$$

“Valor Probit”: Finalmente, se suma 5 al valor Z obtenido en el paso anterior. Esta suma de 5 es una transformación que ajusta el valor Z a la escala Probit, que típicamente se centra alrededor de 5 para facilitar la interpretación y comparación de resultados.

Este valor Probit es lo que se usará para análisis posteriores en el contexto de dosis-respuesta.

En resumen, la Ecuación de Probit transforma una proporción observada en una escala Z de la distribución normal y luego ajusta ese valor para compararlo en una escala estándar que facilita la interpretación en bioensayos.

Tabla 6

Tabla PROBIT. La columna porcentual vertical indica las decenas y la fila porcentual horizontal indica las unidades, con esta doble entrada se construye el valor del porcentaje obtenido experimentalmente de las semillas no germinadas y la intersección es el valor Probit obtenido. Ejemplo: El valor Probit 4,29 corresponde al 24% de semillas no germinadas para cierta concentración del tóxico.

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2,67	2,95	3,12	3,25	3,36	3,45	3,52	3,59	3,66
10	3,72	3,77	3,82	3,87	3,92	3,96	4,01	4,05	4,08	4,12
20	4,16	4,19	4,23	4,26	4,29	4,33	4,36	4,39	4,42	4,45
30	4,48	4,50	4,53	4,56	4,59	4,61	4,64	4,67	4,69	4,72
40	4,75	4,77	4,80	4,82	4,85	4,87	4,90	4,92	4,95	4,97
50	5,00	5,03	5,05	5,08	5,10	5,13	5,15	5,18	5,20	5,23
60	5,25	5,28	5,31	5,33	5,36	5,39	5,41	5,44	5,47	5,50
70	5,52	5,55	5,58	5,61	5,64	5,67	5,71	5,74	5,77	5,81
80	5,84	5,88	5,92	5,95	5,99	6,04	6,08	6,13	6,18	6,23
90	6,28	6,34	6,41	6,48	6,55	6,64	6,75	6,88	7,05	7,33
%	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
99 ^a	7,33	7,37	7,41	7,46	7,51	7,58	7,65	7,75	7,88	9,09

^a Valores entre 99,0 y 99,9.



Los valores obtenidos de Probit se grafican en la ordenada vs. el logaritmo decimal de sus correspondientes concentraciones en la abscisa. Con la ecuación de la recta de regresión se calcula finalmente el CI_{50} .

4.10.8- Expresión de los resultados para la evaluación de los efectos de toxicidad sobre la germinación

La siembra de semillas de *Lactuca sativa* sometidas a distintas soluciones acuosas con o sin presencia de tóxicos permitió el cálculo de distintos índices toxicológicos resumidos en la Tabla 7.

Tabla 7
Efectos toxicológicos determinados para evaluar la toxicidad

	Agua destilada	Diluciones con tóxico de referencia $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	Diluciones de muestras de fluidos de perforación
<i>Objetivo</i>	Control de calidad de los bioensayos de toxicidad. Selección de variedad de semillas	Control de la sensibilidad de las semillas ante un tóxico de referencia	Caracterización toxicológica de muestras de fluidos de perforación
<i>Efectos medidos</i>	Cantidad de semillas no germinadas	Cantidad de semillas no germinadas	Cantidad de semillas no germinadas
	Elongación del Hipocótilo geminado	Elongación del Hipocótilo geminado	Elongación del Hipocótilo geminado
	Elongación de la radícula geminada	Elongación de la radícula geminada	Elongación de la radícula geminada
<i>Parámetros finales para la evaluación de los efectos tóxicos</i>	Porcentaje de germinación	-	-
	Variabilidad en la elongación de la radícula, CV	Variabilidad en la elongación de la radícula, CV	Variabilidad en la elongación de la radícula, CV
		Índice de germinación, IG	Índice de germinación, IG
	-	-	Porcentaje de germinación residual normalizado, IGN
	-	-	Porcentaje de elongación radical residual normalizado, IER
	-	-	Concentración más baja a la que se observa efecto, LOEC
	-	-	Concentración más alta a la cual no se observa efecto, NOEC
	-	-	Inhibición de la elongación, CI_{50}



Para analizar los resultados, se utilizaron métodos estadísticos aplicados a los valores experimentales registrados, lo que facilitó la interpretación de los datos obtenidos. Incluso cuando la germinación fue evidente, es esencial realizar un estudio estadístico para considerar la variabilidad de los resultados y poder elaborar conclusiones sólidas. Al presentar los resultados, se acompañó cada magnitud con su respectiva desviación estándar, y así contar con la precisión del método experimental utilizado.

4.10.8.1- Tratamiento estadístico de los datos experimentales [51, 52]

Promedio o media, \bar{x} : se obtiene al dividir la suma de las medidas por la cantidad de medidas tomadas.

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^N x_i}{N} \quad (\text{Ecuación 9})$$

Donde x_i representa cada uno de los valores unitarios de datos, que componen a la muestra conjunto **N**.

Desviación estándar, **s**: Los resultados experimentales numéricos toman interés cuando se los acompaña de una estimación de los errores inherentes a ellos, dado que siempre que se realiza un bioensayo experimental se suceden errores aleatorios que afectan directamente a la precisión.

Una medida útil es la desviación estándar, que se define como:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}{N-1}} \quad (\text{Ecuación 10})$$

Donde x_i es un valor unitario que compone a la muestra de datos y \bar{x} es la media de todos los datos que integran a dicha muestra.



4.10.9- Cálculo de la regresión lineal:

El análisis de regresión es una técnica estadística para investigar y modelar la relación o dependencia entre variables. Frecuentemente resulta de interés conocer el efecto que una o varias variables pueden causar sobre otra, e incluso predecir en mayor o menor grado valores en una variable a partir de otra. Los métodos de regresión estudian la construcción de modelos para explicar o representar la dependencia entre una variable respuesta o dependiente (**Y**) y la(s) variable(s) explicativa(s) o dependiente(s), **X**. Por costumbre se dice que **x** es la variable independiente e **Y** la variable dependiente. Sin embargo, eso causa confusión con el concepto de la independencia estadística, así que aquí llamaremos a **X** la variable predictora o regresora e **Y** la variable de respuesta. Si las variables se grafican en ejes cartesianos, la gráfica obtenida se llama diagrama de dispersión la cual da la impresión que los datos caen, en general, pero no exactamente, en forma de una línea recta.

La ecuación de una recta que relaciona esas dos variables es:

$$y = \beta_0 + \beta_1 x + \varepsilon \quad (\text{Ecuación 11})$$

Donde β_0 es la ordenada al origen, β_1 es la pendiente y ε un error ante la diferencia entre el valor observado de **y** y el de la línea recta.

Como la Ecuación 11 sólo tiene una variable regresora, se llama modelo de regresión lineal simple.

Se supone que los errores tienen promedio cero y varianza σ^2 desconocida. Además, se suele suponer que los errores no están correlacionados. Esto quiere decir que el valor de un error no depende del valor de cualquier otro error. Conviene considerar que el regresor **x** está controlado por el analista de datos, y se puede medir con error despreciable, mientras que la respuesta **y** es una variable aleatoria.

Con lo que hay una distribución de probabilidades de **y** para cada valor posible de **x**. La media de esta distribución es:

$$E\left(\frac{y}{x}\right) = \beta_0 + \beta_1 x \quad (\text{Ecuación 12})$$



y la varianza es:

$$\text{Var}\left(\frac{y}{x}\right) = \text{Var}(\beta_0 + \beta_1 x + \varepsilon) = \sigma^2 \quad (\text{Ecuación 13})$$

Así, la media de y es una función lineal de x , aunque la varianza de y no depende del valor de x . Además, ya que los errores no están correlacionados, las respuestas tampoco lo están. A los parámetros β_0 y β_1 se les suele llamar coeficientes de regresión. Éstos tienen una interpretación simple y, frecuentemente, útil. La pendiente β_1 es el cambio de la media de la distribución de y producido por un cambio unitario en x . Si el intervalo de los datos incluye a $x = 0$, entonces la ordenada al origen, β_0 , es la media de la distribución de la respuesta y cuando $x = 0$. Si no incluye al cero, β_0 no tiene interpretación práctica.



5- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1- Parámetros fisicoquímicos de los filtrados formulados con agua destilada y agua dulce para el tramo guía:

Los resultados obtenidos de los parámetros fisicoquímicos determinados para los fluidos de perforación formulados con agua destilada se resumen en la Tabla 8, y se compararon con los valores especificados por el decreto N°709/17 de la provincia de Chubut. Ante esto se ve la necesidad de realizar un ajuste en el pH, dado que todas las formulaciones tienen $\text{pH} > 8$. El resto de los parámetros analizados se encuentran dentro de la especificación. Por otro lado, se observa que el cambio de composición entre las formulaciones (Tabla 3) genera variabilidad en los valores de los parámetros fisicoquímicos determinados, lo que explica que la formulación C presente el mayor valor en conductividad y que la formulación A tenga un mayor valor de filtrado API. En consecuencia, la formulación A es la que mayor invasión producirá en la formación geológica.

Tabla 8

Resultados de los parámetros fisicoquímicos de los filtrados formulados con agua destilada.

	A _{AD}	B _{AD}	C _{AD}	Especificaciones según Dto. N° 709/17
Filtrado API, mL	85	20	70	N/A*
pH filtrado	9,31	8,68	11,09	entre 7 y 8
Conductividad, $\mu\text{S}/\text{cm}$	1.391.000	1.333.000	1.516.000	$\gg 5.000$
Dureza total, ppm	520	40	510	$\gg 900$
Cloruros, ppm	90	140	125	N/A*
Turbidez, NTU	4,54	8,44	4,95	N/A*

*N/A = no aplica

AD= agua destilada



Los resultados de los parámetros fisicoquímicos presentados en la Tabla 9, corresponden a cuando se utiliza agua dulce para el tramo guía para formular los fluidos de perforación. Los valores de conductividad son más elevados en comparación con el uso de agua destilada (Tabla 8), lo que demuestra que el agua utilizada ya tenía una carga iónica inicial. Este hecho es consistente con los valores de dureza total y cloruros obtenidos. Los valores de pH, son menores comparados con los formulados con AD, pero igualmente deben ajustarse a las especificaciones del decreto N° 709/17.

Tabla 9

Resultados de los parámetros fisicoquímicos de los filtrados formulados con agua dulce para el tramo guía

	A _{ADTG}	B _{ADTG}	C _{ADTG}	Especificaciones según Dto. N° 709/17
Filtrado API, mL	95	25,5	63	N/A*
pH filtrado	8,77	8,67	10,72	entre 7 y 8
Conductividad, $\mu\text{S}/\text{cm}$	4.510.000	2.010.000	15.190.000	>> 5.000
Dureza, ppm	550	80	536	>> 900
Cloruros, ppm	340	250	260	N/A*
Turbidez, NTU	1,63	249,00	7,56	N/A*

*N/A = no aplica

ADTG = agua dulce para el tramo guía

5.2- Bioensayos de Toxicidad con semillas de *Lactuca sativa* L. de acuerdo a la Norma IRAM 29114

5.2.1- Verificación de viabilidad de las semillas:

Con el fin controlar la sensibilidad de las semillas a utilizar en los bioensayos y considerar válidos los resultados obtenidos, se realizaron controles de calidad a dos lotes disponibles de semillas de *Lactuca sativa* L.: variedad Criolla y variedad Grand rapid.



En el control calidad se debe constatar que el porcentaje de germinación sea mayor al 90%, y una baja variabilidad de la elongación de la radícula (CV) menor al 30%. Los resultados obtenidos de haber expuesto las semillas de *Lactuca sativa* L. en agua destilada, siguiendo las pautas experimentales de la Tabla 4, se aproximan a estos estándares de control de calidad.

De los resultados obtenidos, la variedad de semillas que cumplió con los requisitos fue la variedad criolla, por lo cual se seleccionó para continuar con las experiencias de los bioensayos de toxicidad.

5.2.2- Control de calidad con el tóxico de referencia ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$):

Los bioensayos de toxicidad con el tóxico de referencia representan el control positivo para el caso de evaluación de la elongación y tiene como objetivo evidenciar la sensibilidad de las semillas seleccionadas. La concentración buscada es la correspondiente a la concentración de efecto medio, la cual indica la concentración de efecto para el 50% de los organismos expuestos, CE_{50} , para el lote de semillas en uso, detallado en la Tabla 10. Valor que se obtiene a través de la ecuación a la recta del gráfico 1, a partir de los valores de la Tabla 11. Fueron calculados aplicando el método estadístico Probit.

Los resultados obtenidos de 6 repeticiones por triplicado cada una de ellas, son expuestos en la Tabla 10. Los mismos demuestran que la sensibilidad de las semillas es directamente proporcional al aumento de la concentración del tóxico y se encuentra dentro de los límites permitidos por la carta control (ANEXO A).

Tabla 10

Resultados de los parámetros para determinar sensibilidad de las semillas con el tóxico de referencia $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$

Respuesta	0, 0 ppm	0,1 ppm	1 ppm	10 ppm	100 ppm	1000 ppm
% de Germinación	80,00	71,67	65,56	66,67	70,56	66,78
Variabilidad de la radícula, %	24,63	29,60	26,79	25,21	20,32	31,37
CE_{50} , ppm	0,31 ± 0,28					
$CE_{50} + 2 \sigma$, ppm	0,87					
$CE_{50} - 2 \sigma$, ppm	-0,25					



“Evaluación de ecotoxicidad aguda de fluidos de perforación de la cuenca golfo San Jorge sobre la germinación de semillas de lechuga (*Lactuca sativa*, L.)”

σ = Desviación estándar

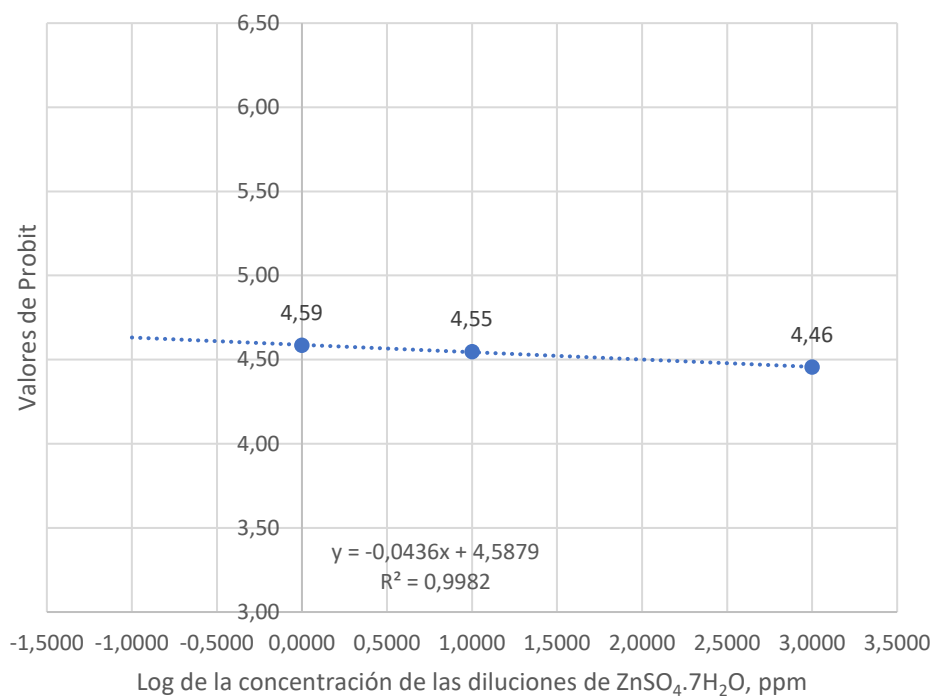
Tabla 11

Valores Probit versus log ppm para diluciones de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$

log ppm	Valor Probit
0,0000	4,59
1,0000	4,55
3,0000	4,46

Gráfico 1

CE_{50} de diluciones de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ preparado en agua destilada



5.2.3- Curva dosis-respuesta:

Con los resultados obtenidos de cada muestra y sus diluciones, aplicando también el método estadístico Probit, se realizaron gráficos de dosis–respuesta, para obtener los correspondientes valores de CI_{50} . A modo de ejemplo se muestra una de las curvas dosis-respuesta (Gráfico 2), obtenida para uno de los triplicados promediados de los bioensayos para el fluido de perforación C formulado en AD (Tabla 12).

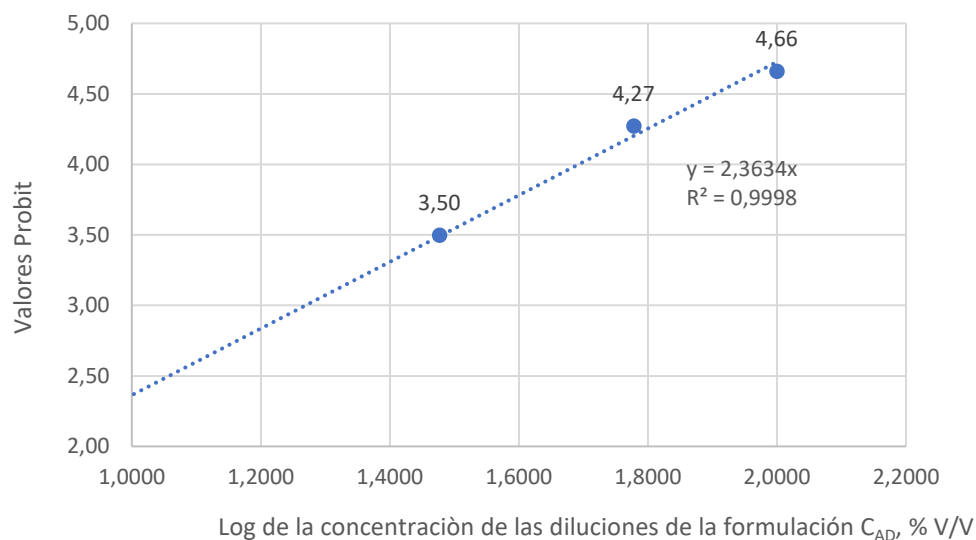
Tabla 12

Valores Probit versus log %V/V de la formulación C_{AD}

log %V/V	Valor Probit
1,48	3,50
1,78	4,27
2,00	4,66

Gráfico 2

CI_{50} Formulación C con agua destilada



5.2.4- Resultados de los bioensayos de toxicidad de los filtrados de los fluidos de perforación: A, B y C formulados con agua destilada y agua dulce para el tramo guía:

5.2.4.1- Bioensayos de toxicidad de inhibición de la germinación: %G, IG y CI_{50}

Con los resultados obtenidos de germinación de las muestras estudiadas, se calcularon los valores de %G e IG; y de las curvas de dosis respuesta, aplicando análisis estadístico Probit, se obtuvieron los valores de CI_{50} para las seis muestras estudiadas. Los resultados obtenidos se muestran en las Tablas 13, 14, 15 para los formulados con AD y en las Tablas 16, 17 y 18 con ADTG.

Tabla 13

Resultados de los bioensayos de germinación de la muestra A formulada con AD

Respuesta	0 % v/v	30 % v/v	60 % v/v	90 % v/v	100 % v/v
%G	76,67	67,50	60,00	63,33	62,50
IG, %	-	98,09	59,04	63,26	62,79
CI_{50} , ppm	-	82,53 ± 77,41			

Tabla 14

Resultados de los bioensayos de germinación de la muestra B formulada con AD

Respuesta	0 % v/v	30 % v/v	60 % v/v	90 % v/v	100 % v/v
%G	20,00	24,17	20,00	20,83	18,33
IG, %	-	105,54	97,68	63,81	68,87
CI_{50} , ppm	-	116,01 ± 83,98			



“Evaluación de ecotoxicidad aguda de fluidos de perforación de la cuenca golfo San Jorge sobre la germinación de semillas de lechuga (*Lactuca sativa*, L.)”

Tabla 15

Resultados de los bioensayos de germinación de la muestra C formulada con AD

Respuesta	0 % v/v	30 % v/v	60 % v/v	90 % v/v	100 % v/v
%G	81,67	62,50	55,83	61,67	42,50
IG, %	-	63,09	49,11	42,77	22,62
Cl ₅₀ , ppm	-	60,72 ± 65,44			

Con respecto a la concentración inhibitoria al 50% (Cl₅₀), comparando con los resultados en AD, podemos ver el siguiente orden: Cl₅₀ C_{AD} < Cl₅₀ A_{AD} < Cl₅₀ B_{AD}, evidenciando que el fluido C formulado con agua destilada es significativamente menos tóxico que sus análogos A_{AD} y B_{AD}.

Tabla 16

Resultados de los bioensayos de germinación de la muestra A formulada con ADTG

Respuesta	0 % v/v	30 % v/v	60 % v/v	90 % v/v	100 % v/v
%G	83,33	66,67	53,33	25,56	36,67
IG, %	-	56,81	35,51	5,2	13,11
Cl ₅₀ , ppm	-	56,66 ± 24,38			

Tabla 17

Resultados de los bioensayos de germinación de la muestra B formulada con ADTG

Respuesta	0 % v/v	30 % v/v	60 % v/v	90 % v/v	100 % v/v
%G	73,33	56,67	46,67	37,78	26,67
IG, %	-	74,62	37,38	21,61	7,67
Cl ₅₀ , ppm	-	68,64 ± 21,70			



Tabla 18

Resultados de los bioensayos de germinación de la muestra C formulada con ADTG

Respuesta	0 % v/v	30 % v/v	60 % v/v	90 % v/v	100 % v/v
%G	67,78	63,33	38,89	26,67	25,56
IG, %	-	56,74	15,81	8,1	4,95
Cl ₅₀ , ppm	-	1,65 ± 0,10			

En cuanto a las formulaciones con ADTG, con los valores de Cl₅₀, podemos ver el siguiente orden: Cl₅₀ C_{ADTG} << Cl₅₀ A_{ADTG} < Cl₅₀ B_{ADTG}, evidenciando que el fluido B formulado con agua dulce del tramo guía es menos tóxico que sus análogos A_{ADTG} y C_{ADTG}.

Además, podemos ver que los Cl₅₀ de las formulaciones preparadas en ADTG son mucho menores que los Cl₅₀ de las formulaciones preparadas en AD, esto puede estar relacionado con las cargas iónicas de cada tipo de agua, ya que los valores de los parámetros fisicoquímicos como, el contenido de cloruros y la conductividad, son sustancialmente diferentes.

La formulación C presenta la peculiaridad que formulada en agua destilada es la menos tóxica, lo que se invierte cuando se formula con agua dulce para tramo guía, siendo así la más tóxica. Este efecto se puede relacionar a la concentración de cal hidratada, quien aporta carga iónica, que, junto a otros analitos de este último tipo de agua, generan un incremento a la fitotoxicidad. Es de denotar que lo mismo es coincidente a la formulación C_{ADTG} es quien presenta el mayor valor de conductividad.

5.2.4.2 Signos de germinación anormal

En la Imagen 10 se observan radículas con deformaciones significativas, caracterizadas por diámetros reducidos y la presencia irregular de vellosidades, ya sea en forma de ausencia total o en exceso. Estas anomalías pueden ser indicativas de una exposición a agentes tóxicos, alteraciones genéticas o condiciones ambientales adversas que afectan el desarrollo normal de las radículas.

En la Imagen 11 se observa presencia de hongos sobre el papel y las semillas.



Imagen 10

Anormalidades en la fisonomía de la radícula en A y B

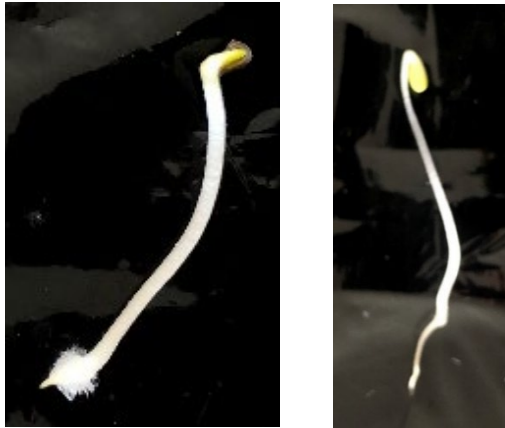


Imagen 11

Presencia de hongos formados durante la incubación



5.2.4.3 Bioensayos de toxicidad de inhibición de radícula e hipocótilo:

Con los resultados de los ensayos de germinación y con las medidas de longitud de radícula e hipocótilo de las diluciones de las muestras y el control negativo se calcularon los valores de: GRR, CRR, IGN e IER.

En las Tablas 19,20,21 se expresan los resultados obtenidos para los fluidos A, B y C en AD

Respuesta	0 % v/v	30 % v/v	60 % v/v	90 % v/v	100 % v/v
Longitud promedio del hipocótilo, cm	1,21 ± 0,91	1,68 ± 0,48	1,35 ± 0,66	1,53 ± 0,50	1,66 ± 0,77
Longitud promedio de la radícula, cm	1,73 ± 0,79	1,93 ± 0,91	1,31 ± 0,74	1,33 ± 0,50	1,33 ± 0,70
Variabilidad de la radícula (CV), %	24,45	28,34	52,70	43,81	37,45
GRS	-	88,04	78,26	82,61	81,52
CRR	-	94,97	64,31	65,28	65,66
IGN	-	-0,72	-0,75	-0,74	-0,74
		Muy tóxico	Muy tóxico	Muy tóxico	Muy tóxico
IER	-	-0,05	-0,36	-0,35	-0,34
		Baja toxicidad	Toxicidad Moderada	Toxicidad Moderada	Toxicidad Moderada



“Evaluación de ecotoxicidad aguda de fluidos de perforación de la cuenca golfo San Jorge sobre la germinación de semillas de lechuga (*Lactuca sativa*, L.)”

Tabla 20

Resultados de los ensayos de elongación de radícula y valores de: GRS, CRR, IGN e IER de la muestra B en AD

Respuesta	0 % v/v	30 % v/v	60 % v/v	90 % v/v	100 % v/v
Longitud promedio del hipocótilo	1,21 ± 0,42	1,57 ± 0,68	1,58 ± 0,68	1,50 ± 0,59	1,56 ± 1,16
Longitud promedio de la radícula	1,50 ± 0,55	1,66 ± 1,11	1,74 ± 1,02	1,38 ± 0,88	1,36 ± 1,22
Variabilidad de la radícula (CV), %	30,13	16,44	45,83	48,71	69,51
GRS	-	95,51	84,27	69,66	76,4
CRR	-	110,5	115,91	91,6	90,14
IGN	-	-0,04	-0,16	-0,30	-0,24
		Baja toxicidad	Baja toxicidad	Toxicidad Moderada	Baja toxicidad
IER	-	0,11	0,16	-0,08	-0,1
		Crecimiento de la radícula	Crecimiento de la radícula	Baja toxicidad	Baja toxicidad

Tabla 21

Resultados de los ensayos de elongación de radícula y valores de: GRS, CRR, IGN e IER de la muestra C en AD

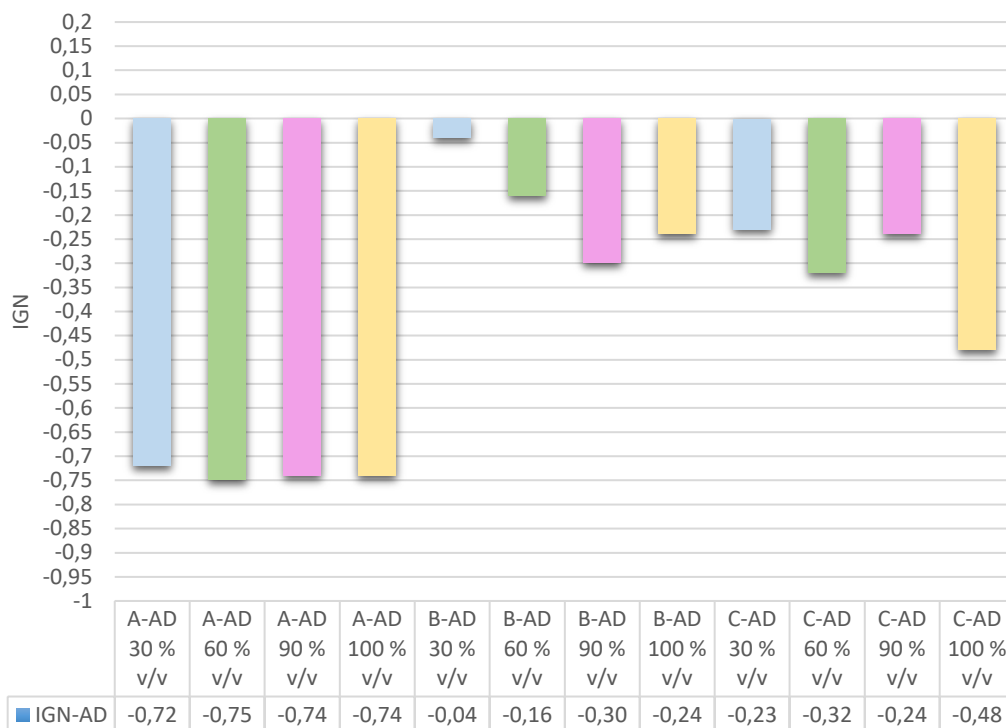
Respuesta	0 % v/v	30 % v/v	60 % v/v	90 % v/v	100 % v/v
Longitud promedio del hipocótilo	1,28 ± 0,43	1,39 ± 0,64	1,45 ± 0,74	1,23 ± 0,87	1,09 ± 0,89
Longitud promedio de la radícula	1,78 ± 0,78	1,47 ± 0,76	1,28 ± 0,90	1,01 ± 0,87	0,77 ± 0,66
Variabilidad de la radícula (CV), %	18,70	45,25	53,91	70,48	77,80
GRS	-	76,53	68,37	75,51	52,04
CRR	-	82,43	71,83	56,65	43,47
IGN	-	-0,23	-0,32	-0,24	-0,48
		Baja toxicidad	Toxicidad Moderada	Baja toxicidad	Toxicidad Moderada
IER	-	-0,18	-0,28	-0,43	-0,57
		Baja toxicidad	Toxicidad Moderada	Toxicidad Moderada	Muy tóxico



Al analizar las formulaciones de fluidos de perforación según el IGN, siguiendo la clasificación de toxicidad expresada en Tabla 5, podemos decir que el Gráfico 3, muestra cómo las diluciones preparadas con la formulación A_{AD} de los fluidos de perforación exhiben un efecto tóxico uniforme en la germinación y son las más tóxicas en comparación con sus análogas B_{AD} y C_{AD}. Este hallazgo sugiere que el Tensoactivo 1 podría tener una participación significativa como agente tóxico, inhibiendo la germinación debido a sus características hidrofílicas, en contraste con los Tensoactivos 2 y 3 de carácter oleofílico, presentes en las formulaciones B_{AD} y C_{AD} respectivamente. Además, se observa que la formulación B_{AD} muestra la menor potencialidad tóxica de las tres formulaciones.

Gráfico 3

Índice del porcentaje de germinación residual normalizado, IGN para las diluciones de las muestras A, B y C de los fluidos de perforación formuladas con agua destilada.



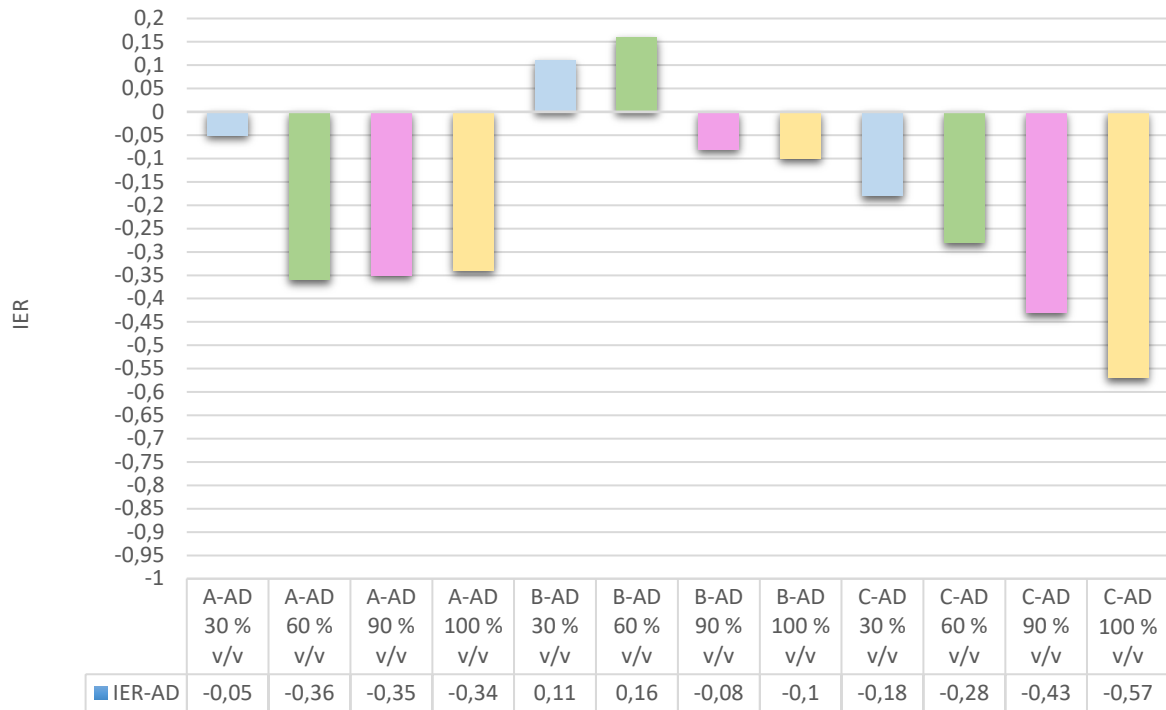
Al observar el efecto sobre la elongación de la radícula utilizando el índice IER, la formulación B_{AD}, preparada con agua destilada, exhibe la menor toxicidad respecto a A_{AD} y C_{AD}, lo mismo que se observó para IGN. Las dos diluciones de menor concentración de B_{AD} muestran valores positivos, indicando el efecto de estimulación de elongación de la radícula, representado en el Gráfico 4.



“Evaluación de ecotoxicidad aguda de fluidos de perforación de la cuenca golfo San Jorge sobre la germinación de semillas de lechuga (*Lactuca sativa*, L.)”

Gráfico 4

Índice del porcentaje de elongación radical residual normalizado, IER para las diluciones de las muestras A, B y C de los fluidos de perforación formuladas con agua destilada.



Si la información la representamos de la siguiente forma:

IGN: $A_{AD} \gg C_{AD} > B_{AD}$

IER: $C_{AD} > A_{AD} > B_{AD}$,

observamos que con ambos índices se evidencia que la formulación de fluido de perforación preparado con agua destilada es el de menor toxicidad, pero el orden de A y C se invierten.

También vemos que el orden creciente de toxicidad que presenta IER es el mismo que se presentó con Cl_{50} .



“Evaluación de ecotoxicidad aguda de fluidos de perforación de la cuenca golfo San Jorge sobre la germinación de semillas de lechuga (*Lactuca sativa*, L.)”

En las Tablas 22, 23 y 24 se expresan los resultados obtenidos para los fluidos A, B y C en ADTG.

Tabla 22

Resultados de los ensayos de elongación de radícula y valores de: GRS, CRR, IGN e IER de la muestra A en ADTG

Respuesta	0 % v/v	30 % v/v	60 % v/v	90 % v/v	100 % v/v
Longitud promedio del hipocótilo, cm	1,65 ± 0,63	1,94 ± 0,80	1,58 ± 0,79	0,79 ± 0,88	1,16 ± 1,07
Longitud promedio de la radícula, cm	1,95 ± 0,60	1,39 ± 0,49	1,08 ± 0,50	0,33 ± 0,30	0,58 ± 0,54
Variabilidad de la radícula (CV), %	14,70	18,37	35,08	76,06	54,55
GRS	-	80	64	30,67	44
CRR	-	71,01	55,49	16,94	29,79
IGN	-	-0,2	-0,36	-0,69	-0,56
		Baja toxicidad	Toxicidad Moderada	Muy tóxico	Muy tóxico
IER	-	-0,29	-0,45	-0,83	-0,7
		Toxicidad Moderada	Toxicidad Moderada	Toxicidad Muy alta	Muy tóxico

Tabla 23

Resultados de los ensayos de elongación de radícula y valores de: GRS, CRR, IGN e IER de la muestra B en ADTG

Respuesta	0 % v/v	30 % v/v	60 % v/v	90 % v/v	100 % v/v
Longitud promedio del hipocótilo, cm	1,32 ± 0,49	1,65 ± 0,66	1,59 ± 0,56	1,17 ± 0,33	0,83 ± 0,55
Longitud promedio de la radícula, cm	1,65 ± 0,74	1,59 ± 0,68	0,97 ± 0,40	0,69 ± 0,37	0,35 ± 0,25
Variabilidad de la radícula (CV), %	16,70	37,50	23,96	32,64	82,05
GRS	-	77,27	63,64	51,52	36,36
CRR	-	96,56	58,73	41,94	21,11
IGN	-	-0,23	-0,36	-0,48	-0,64
		Baja toxicidad	Toxicidad Moderada	Toxicidad Moderada	Toxicidad Moderada
IER	-	-0,03	-0,41	-0,58	-0,79
		Baja toxicidad	Toxicidad Moderada	Muy tóxico	Toxicidad Muy alta



“Evaluación de ecotoxicidad aguda de fluidos de perforación de la cuenca golfo San Jorge sobre la germinación de semillas de lechuga (*Lactuca sativa*, L.)”

Tabla 24

Resultados de los ensayos de elongación de radícula y valores de: GRS, CRR, IGN e IER de la muestra C en ADTG

Respuesta	0 % v/v	30 % v/v	60 % v/v	90 % v/v	100 % v/v
Longitud promedio del hipocótilo, cm	1,44 ± 0,33	1,41 ± 0,41	0,76 ± 0,58	0,52 ± 0,37	0,38 ± 0,31
Longitud promedio de la radícula, cm	1,58 ± 0,45	0,96 ± 0,38	0,44 ± 0,27	0,33 ± 0,30	0,21 ± 0,20
Variabilidad de la radícula (CV), %	26,37	30,58	73,23	72,62	48,37
GRS	-	93,44	57,38	39,34	37,7
CRR	-	60,72	27,55	20,59	13,14
IGN	-	-0,07	-0,43	-0,61	-0,62
		Baja toxicidad	Toxicidad Moderada	Muy tóxico	Muy tóxico
IER	-	-0,39	-0,72	-0,79	-0,87
		Toxicidad Moderada	Toxicidad Moderada	Toxicidad Muy alta	Toxicidad Muy alta

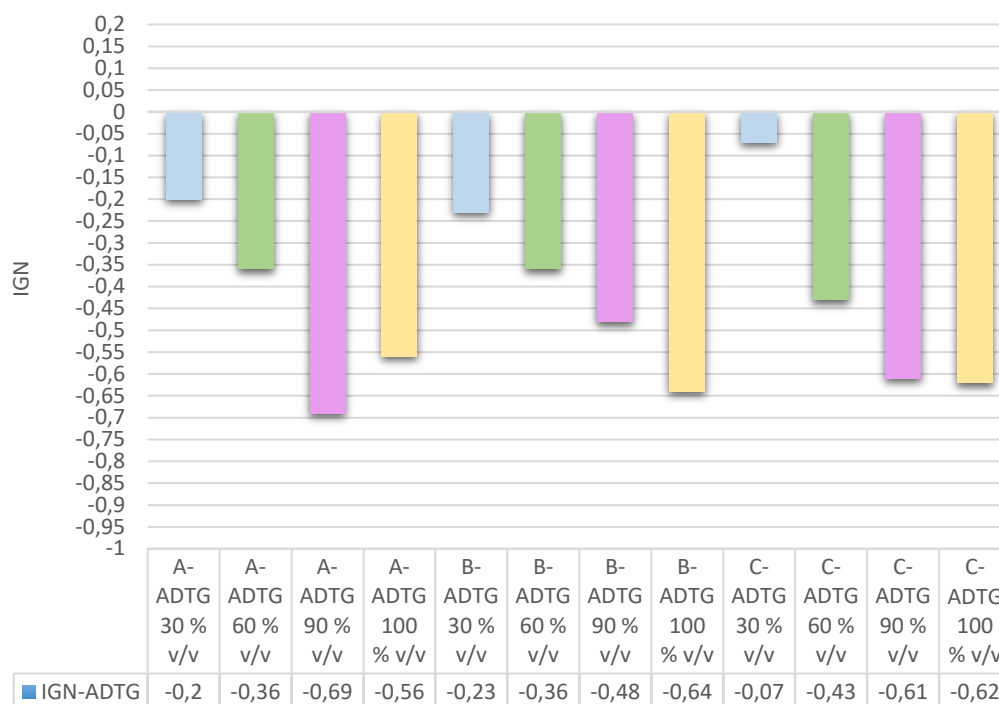
Cuando analizamos el IGN en las formulaciones preparadas con agua dulce para el tramo guía, considerando la clasificación de categorías de toxicidad de la Tabla 5, observamos que la formulación A_{ADTG}, presenta el mayor efecto tóxico de las tres formulaciones estudiadas. Además, se observa una tendencia uniforme del efecto tóxico en la germinación de las semillas para las tres formulaciones. Esto sugiere que, en el agua dulce utilizada hay presencia de sustancias solubles, que originan los efectos tóxicos (Gráfico 3) y, al mismo tiempo, hay otras sustancias que favorecen la germinación de las semillas de *Lactuca sativa* L. (Gráfico 5), considerando la diferencia en la composición química entre los tipos de agua dulce usadas en la preparación de las tres formulaciones ensayadas.



“Evaluación de ecotoxicidad aguda de fluidos de perforación de la cuenca golfo San Jorge sobre la germinación de semillas de lechuga (*Lactuca sativa*, L.)”

Gráfico 5

Índice del porcentaje de germinación residual normalizado, IGN para las diluciones de las muestras A, B y C de los fluidos de perforación formuladas con agua dulce para el tramo guía.



En el Gráfico 6 se evidencia un incremento en la toxicidad al utilizar agua dulce para el tramo guía, manteniéndose la formulación B_{ADTG} como la menos tóxica y la formulación C_{ADTG} como la más tóxica. Este hallazgo resalta la importancia del tipo de agua utilizada en la evaluación de la toxicidad de las formulaciones, ya que puede influir significativamente en los resultados obtenidos.

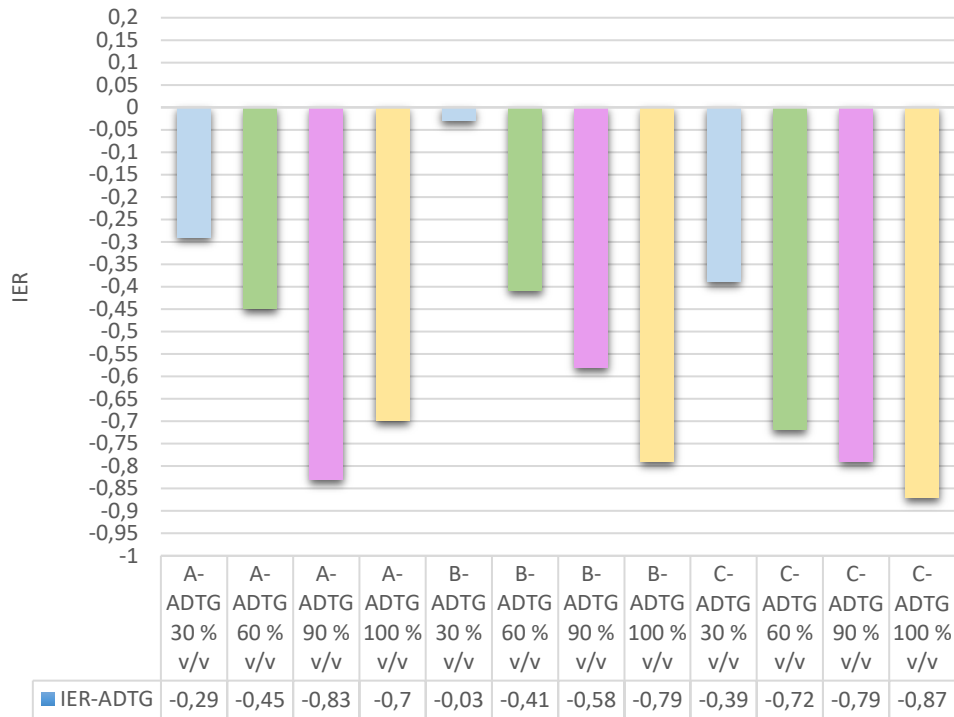
Si a esto lo relacionamos con los valores fisicoquímicos registrados en las Tablas 8 y 9 se observa una correlación entre el orden de toxicidad de las formulaciones con los valores de conductividad, a mayor conductividad mayor toxicidad.



“Evaluación de ecotoxicidad aguda de fluidos de perforación de la cuenca golfo San Jorge sobre la germinación de semillas de lechuga (*Lactuca sativa*, L.)”

Gráfico 6

Índice del porcentaje de elongación radical residual normalizado, IER para las diluciones de las muestras A, B y C de los fluidos de perforación formuladas con agua dulce para el tramo guía.



Observamos que con ambos índices se evidencia que la formulación de fluido de perforación preparada con agua destilada es la de menor toxicidad, pero el orden de A y C se invierten.

También vemos que el orden creciente de toxicidad que presenta IER es el mismo que se presentó con Cl_{50} .

Lo que podemos resumirlo en:

IGN: $A_{ADTG} > C_{ADTG} > B_{ADTG}$

IER: $C_{ADTG} > A_{ADTG} > B_{ADTG}$

No fue posible estimar los valores de LOEC y NOEC, ya que, en todas las diluciones de las seis formulaciones ensayadas, incluyendo la del 0 %, se observaron efectos de germinación.



6- CONCLUSIONES

Se ha determinado la toxicidad aguda de seis (6) muestras de fluidos de perforación aplicados en la cuenca GSJ sobre semillas de *Lactuca sativa* L, variedad Criolla y se relacionaron con las características fisicoquímicas de cada tipo de agua con las cuales se prepararon las distintas muestras identificadas como formulaciones A, B y C.

Se determinó que la formulación A mantiene una toxicidad aguda intermedia con sus análogos B y C, comportamiento que se sostiene en los dos tipos de aguas utilizadas para las preparaciones de los fluidos de perforación.

La formulación del fluido de perforación B, preparada, con agua destilada es la que presenta menor toxicidad y es quien no tiene en su formulación adición de yeso deshidratado y cal hidratada.

La conductividad demuestra ser un parámetro fisicoquímico influyente en la toxicidad aguda que los fluidos de perforación estudiados ejercen sobre las semillas de *Lactuca sativa* L, variedad Criolla.

La calidad fisicoquímica de los dos tipos de agua utilizadas contribuye a la fitotoxicidad sobre las semillas de *Lactuca sativa* L. variedad Criolla, dado que la toxicidad aguda se incrementa en las tres formulaciones preparadas con agua dulce para tramo guía.

En cuanto a los productos químicos que conforman a cada formulación de fluidos de perforación, se puede interpretar que el aumento de la concentración de Bentonita no aporta a la fitotoxicidad.

La formulación A genera el mayor valor de filtrado API, lo que provoca una mayor invasión hacia la formación geológica que se perforaría y, por ende, una mayor migración por capilaridad hacia las napas freáticas a quienes debemos proteger de cualquier contaminación.






La integración de las diversas respuestas biológicas observadas en los bioensayos con semillas de *Lactuca sativa* L. ha permitido correlacionar los aportes tóxicos de los productos químicos presentes



en las formulaciones de los fluidos de perforación, como también el de la calidad del agua dulce utilizada para el tramo guía.

La elección de los índices de toxicidad utilizados en la clasificación de los resultados es crucial para concluir sobre los objetivos de investigación planteados. Se recomienda el uso conjunto de los índices IGN e IER ya que, proporcionan respuestas diferentes, lo que permite un análisis toxicológico más completo y preciso. Con estos índices, se ha constatado que la radícula constituye el elemento más sensible como indicador de toxicidad.

Sugerencias para un futuro avance de esta investigación:

-  Realizar una caracterización fisicoquímica completa del agua dulce utilizada en yacimiento, considerando la determinación metales pesados e hidrocarburos livianos.
-  Probar otros tipos de agua de yacimiento: es importante evaluar la fitotoxicidad utilizando diferentes muestras de agua de yacimiento, ya que la composición química y los niveles de contaminantes pueden variar significativamente entre diferentes fuentes. Esto permitirá identificar las variaciones en la toxicidad y su impacto en los bioindicadores.
-  Realizar bioensayos de fitotoxicidad con especies vegetales autóctonas de la región GSJ: al utilizar plantas nativas, que están mejor adaptadas a las condiciones locales, pueden ofrecer una representación más precisa de la respuesta del ecosistema a los agentes tóxicos.
-  Realizar los bioensayos con más de un bioindicador: utilizar múltiples bioindicadores proporcionará una visión más completa y robusta de la fitotoxicidad presente. Diferentes bioindicadores pueden reaccionar de manera distinta a los mismos agentes tóxicos, permitiendo una evaluación más detallada y precisa.
-  Realizar el análisis de las características fisicoquímicas y de fitotoxicidad empleando técnicas multivariadas, debido a que las pruebas univariadas utilizadas en esta investigación no permiten analizar simultáneamente las similitudes o diferencias de los datos obtenidos experimentalmente.



7- BIBLIOGRAFÍA

- [1] Arévalo Peña, J. J. (2018). Valoración de alternativas de tratamiento de fluidos de perforación en la industria petrolera (Trabajo de grado). Universidad Militar Nueva Granada, Facultad de Ingeniería, Especialización en Planeación Ambiental y Manejo Integral de los Recursos Naturales, Bogotá D.C. Recuperado de:
<https://repository.unimilitar.edu.co/bitstream/handle/10654/17707/Ar%C3%Agvalo%20Pe%C3%B1a%20Jhon%20Jairo%202018.pdf?sequence=2&isAllowed=y>
- [2] Méndez, J., Otahola, V., Rodríguez, M., Simosa, J., Tellis, L., & Zabala, E. (2009). Comparación de un fluido de perforación con la fertilización química en el cultivo de maíz (*Zea mays* L.). I. Caracteres de la germinación y crecimiento de plántulas. *Revista Tecnológica ESPOL – RTE*, 22(1), paginas 29-35.
- [3] Lyons, W. C. (2010). *Working guide to drilling equipment and operations*. Gulf Professional Publishing.
- [4] Diseño de la Perforación de Pozos. Recuperado de: <https://es.slideshare.net/wsah1954/diseño-de-perforacion-230166099>
- [5] Bazzara H., Miguel A., Boscato P., Uhrig J., Breuer D., Legaz D., & Massolini R.. Aprobado por Sotomayor M.. *Exploración & Producción* (1999). Perforación. Módulo 2: Perforación de la guía. YPF S.A.
- [6] PDVSA. (2002). *Fluidos de perforación*. Primera versión, agosto 2002. Centro Internacional de Educación y Desarrollo (CIED).
- [7] M-I SWACO. (2001). *Manual de ingeniería de fluidos de perforación* (Capítulo 10). Revisión A-1, Fecha de revisión: 14-02-01. Houston, TX: M-I SWACO.
- [8] Caenn, R., Darley, H. C. H., & Gray, G. R. (Eds.). (2016). *Composition and properties of drilling and completion fluids* (7th ed.). Gulf Publishing Company.
- [9] Programas de diseño de fluidos de perforación. MARBAR. 2023. Confidencial
- [10] Sylwan, C., Droeven, C., Iñigo, J., Mussel, F., & Padvá, D. (s.f). Cuenca del Golfo San Jorge. En VIII Congreso de Exploración y Desarrollo de Hidrocarburos: Simposio Cuencas Argentinas: Visión actual. Pan American Energy L.L.C. Recuperado de:
https://www.researchgate.net/publication/316789117_Cuenca_del_Golfo_San_Jorge



- [11] Dans, S., Cefarelli, A., Galván, D., Gongora, M. E., Martos, P., Varisco, M., Alvarez Colombo, G., Blanc, S., Bos, P., Bovcon, N., Charo, M., Cinquini, M., Derisio, C., Dogliotti, A., Ferreyra, G., Funes, M., Giberto, D., Halm, C., Hozbor, C., Irigoyen, A., Lewis, M., Macchi, G., Maenza, R., Nocera, A., Papparazzo, F., Parma, A., Pisoni, J. P., Prario, I., Sánchez-Carnero, N., Sastre, V., Segura, V., Silva, R., Schiariti, A., Temperoni, B., Tonini, M., Tolia, A., Trobbiani, G., Venerus, L., Vernet, M., Vinuesa, J., Villanueva Gomila, L., Williams, G., Yorio, P., & Zárata, M. (2021). El Golfo San Jorge como área prioritaria de investigación, manejo y conservación en el marco de la iniciativa Pampa Azul. *Ciencia e Investigación*, tomo 71 N° 2, páginas 21-43. Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/353634699_El_Golfo_San_Jorge_como_area_prioritaria_de_investigacion_manejo_y_conservacion_en_el_marco_de_la_iniciativa_Pampa_Azul
- [12] Figari, E. G., Strelkov, E., Laffitte, G., Cid de la Paz, M. S., Courtade, S. F., Celaya, J., Vottero, A., Lafourcade, P., Martínez, R., & Villar, H. J. (1999). Los sistemas petroleros de la cuenca del Golfo San Jorge: Síntesis estructural, estratigráfica y geoquímica. En *Actas del IV Congreso de Exploración y Desarrollo de Hidrocarburos* (pp. 197-237). Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/285749431_Los_Sistemas_Petroleros_de_la_Cuenca_del_Golfo_San_Jorge_Sintesis_Estructural_Estratigrafica_y_Geoquimica
- [13] Cabanillas, L., Carstens, G., Lovecchio, J. P., Marshall, P. A., Rebori, L., Soldo, J. C., Vallejo, E., & Vergani, G. (2013). Petróleo y gas en la Argentina: Cuencas productivas. *Petróleo y gas en la Argentina*, 23(134), agosto-septiembre. Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/282859330_Petroleo_y_gas_en_la_Argentina_cuencas_productivas
- [14] Hechem, J. J. (2015). Cien años de modelos geológicos en la cuenca del Golfo San Jorge. *Revista de la Asociación Geológica Argentina*, 72(1), 1-11.
- [15] Grizinik, M., & Correia, P. (2022). Análisis hidrogeológico del acuífero Multiunitario superior y su relación con la explotación intensiva de agua, Chubut, Argentina. *Revista Argentina de Hidrogeología*, 1, páginas 31-46. Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/378333411_El_recurso_hidrico_subterraneo_y_su_explotacion_en_la_region_de_Bahia_Blanca_provincia_de_Buenos_Aires_Argentina
- [16] Hernández I., Hernandez M. (2013). *Características hidrolíticas de las formaciones Patagonia y Santa Cruz. Cuenca Golfo San Jorge. (Provincias de Chubut y Santa Cruz)*. Agua subterránea recurso estratégico. Tomo 1. EDULP. Recuperado de:



<https://libros.unlp.edu.ar/index.php/unlp/catalog/book/230>

- [17] Manzano Iturra, K. I. (2024). Geopolítica del agua y Heartland blue: Patagonia y acuífero Guaraní (1990-2012). Ariadna Ediciones.
- [18] Griznik, M., & Sonntag, C. (1994). Sobre algunas edades de aguas subterráneas del sistema acuífero Multiunitario del sureste de Chubut, Argentina. En H. E. Zaixo (Ed.), *Naturalia Patagónica: Serie: Ciencias de la Tierra* (Vol. 2, pp. 91-92). Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de la Patagonia S. J. Bosco.
- [19] Bork, M. A. (2020). Responsabilidad de las empresas hidrocarburíferas por daño ambiental en la legislación nacional argentina y en la provincia de Chubut (Trabajo final de grado). Universidad Siglo 21, sede Puerto Madryn, Chubut.
Recuperado de: <https://repositorio.21.edu.ar/handle/ues21/21644>.
- [20] Declaración de Reserva Hidrogeológica a la Zona de Meseta Espinosa y el Cordón, Ley N.º 2185 (30 de agosto de 1990). Boletín Oficial, 23 de octubre de 1990.
- [21] Ley de Aguas, Ley N.º 1451 (17 de mayo de 1982). Boletín Oficial, 27 de mayo de 1982. Recuperado de: <http://www.saij.gob.ar/home>
- [22] Ley Evaluación de Impacto Ambiental N.º 2658. Recuperado de: Ley Evaluación de Impacto Ambiental N.º 2658.
- [23] Ley N.º 3122 (2010). El Poder Legislativo de la Provincia de Santa Cruz. Recuperado de: <http://saludsantacruz.gob.ar/secretariadeambiente/marco-legal-anexo/>
- [24] Decreto N.º 709-17. (2017). Provincia de Chubut. Recuperado de: <https://aldiaargentina.microjuris.com/2017/12/18/decreto-n-709-2017-ambiental-provincia-del-chubut-operaciones-con-hidrocarburos-uso-de-aguas/>
- [25] Decreto N.º 185/09. (2009). Provincia de Chubut. Recuperado de: <https://www.ambiente.chubut.gov.ar/wp-content/uploads/2014/05/Decreto-185.pdf>
- [26] Gobierno de la Provincia de Chubut. (n.d.). Consulta de normas. Recuperado de: <https://sistemas.chubut.gov.ar/digesto/sistema/consulta.php?hb=hb&tipo=o&cualnro=&cualtit=&Submit26=Buscar>
- [27] Secretaría de Ambiente de la Provincia de Santa Cruz. (n.d.). Marco legal - Anexo. Recuperado de: <http://saludsantacruz.gob.ar/secretariadeambiente/marco-legal-anexo/>
- [28] Provincia de Chubut. (n.d.). Legislación. Ministerio de Ambiente y Control del Desarrollo Sustentable. Recuperado de: <https://ambiente.chubut.gov.ar/legislacion/>



- [29] Sitio oficial del Gobierno de Comodoro Rivadavia. (n.d.). Legislación. Recuperado de: <https://ambientecomodoro.gob.ar/legislacion/?dir=8958content/uploads/2017/02/Acuifero-Patagoniano.pdf>
- [30] Sitio Argentino de Información Jurídica. (n.d.). Inicio. <http://www.saij.gob.ar/home>
- [31] Universidad Nacional de Cuyo. (2018). Producción de hidrocarburos en reservorios no convencionales en Mendoza: Consideraciones sobre el método de estimulación hidráulica. Universidad Nacional de Cuyo.
- [32] Johanis Pablo, Dalponte Marcelo, Juárez Pablo y Giacosa Raúl, 2022. Recursos minerales industriales, rocas de aplicación y gemas de la provincia de Río Negro. Servicio Geológico Minero Argentino. Serie Contribuciones Técnicas - Recursos minerales N° 49, 97 pp. Buenos Aires. Recuperado de: <https://repositorio.segemar.gov.ar/handle/308849217/4249?show=full>
- [33] Anhidrita. (n.d.). Geology Science. <https://es.geologyscience.com/minerales/anhidrita/>
- [34] American Public Health Association, American Water Works Association, & Water Environment Federation. (2017). Standard methods for the examination of water and wastewater (23rd ed.). American Public Health Association.
- [35] Hojas con datos de productos Baroid. Baroid, Product Service line, Halliburton
- [36] Cámara Argentina de Empresas Mineras. (2018). Minerales. Cal. Cámara Argentina de Empresas Mineras. Recuperado de: <https://caem.com.ar/minerales/#1570619526827-5d748b6d-006a>
- [37] Fichas técnicas de los tensiactivos 1, 2 y 3. OLEOMUD. Confidencial.
- [38] Planes, E., & Fuchs, J. (2015). ¿Cuáles son los aportes de la ecotoxicología a las regulaciones ambientales? Ciencia e Investigación, tomo 65 N° 2, paginas 103-115. Recuperado de: <https://aargentinapciencias.org/wp-content/uploads/2018/01/RevistasCel/tomo65-2/5-Planes-cei65-2-5.pdf>.
- [39] Carriquiriborde, P. (Coordinador). (2021). Principios de ecotoxicología. Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata / Edulp. Libro digital, PDF - (Libros de cátedra). Recuperado de: <https://libros.unlp.edu.ar/index.php/unlp/catalog/book/1663>
- [40] Castillo Morales, G. (Ed.). (2004). Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas: Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo y el Instituto Mexicano de Tecnología del Agua.



- [41] Instituto Argentino de Normalización y Certificación (IRAM). (2008). IRAM 29114: Calidad ambiental - Métodos biológicos: Método de toxicidad aguda con semilla de lechuga *Lactuca sativa* L. (Método papel). IRAM.
- [42] Instituto Argentino de Normalización y Certificación (IRAM). (2016). IRAM 29118: Calidad ambiental - Métodos biológicos - Determinación de los efectos de los contaminantes sobre la flora del suelo. IRAM.
- [43] Características filtro prensa. Recuperado de: <https://www.ofite.com/products/drilling-fluids/filtration>
- [44] Ramos Aguirre, F., Chadrina, O., Freire Carrera, F., Guaquipana Paredes, J., & Romero Cortez, H. (2023). Control de filtrado de fluidos de perforación petrolero de bajo impacto ambiental mediante el uso de almidón de yuca. Ingeniare. Revista chilena de ingeniería, 31
- [45] American Petroleum Institute. (2009). Recommended practice for field testing water-based drilling fluids (ANSI/API Recommended Practice 13B-1, 4th ed.). American Petroleum Institute.
- [46] González Pérez, Y., Marcos Albear, E., Pérez Garrido, N., Marín Sánchez, D., & Argota Pérez, G. (2012). Aplicación de un bioensayo ecotoxicológico en la evaluación de una mezcla compleja ambiental. Higiene y Sanidad Ambiental, 12(1), 839-845. Recuperado de: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-61852020000200226
- [47] García González, V., Sánchez Meza, J. C., Pacheco Salazar, V. F., Ávila González, C. de J., Pavón Silva, T. B., & Guerrero González, P. (s.f). Respuestas de toxicidad de bioensayos empleados en la evaluación de aguas residuales de la industria. Facultad de Química, Universidad Autónoma del Estado de México. Planta de Tratamiento de Aguas RECICLAGUA S.A. de C.V.
- [48] Rodríguez Romero, Alexis Joseph, Robles Salazar, Cristopher Alberto, Ruíz Picos, Ricardo Arturo, López López, Eugenia, Sedeño Díaz, Jacinto Elías, Rodríguez Dorantes Angélica. Índices de germinación y elongación radical de *Lactuca sativa* en el biomonitoreo de la calidad del agua del río Chalma. Revista Internacional de Contaminación Ambiental. 2014, 30(3), 307-316. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=37031522007>
- [49] StatPoint, Inc. (2006). Análisis Probit (Rev. 4/25/2007). StatPoint, Inc. Recuperado de: <https://www.statgraphics.net/wp-content/uploads/2011/12/tutoriales/Analisis%20Probit.pdf>
- [50] Miller, J. (2002). Estadística y Quimiometría para la química analítica (4ª ed.). Pearson Educación.
- [51] Montgomery, D. C., Peck, E. A., & Vining, G. G. (2006). Introducción al análisis de regresión lineal (3ª reimp.). Compañía Editorial Continental.
- [52] Skoog, D. A. (2005). Fundamentos de química analítica (8ª ed.). Thomson.



ANEXO A

CARTA CONTROL DEL TÓXICO DE REFERENCIA: Sulfato de cinc heptahidratado ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$)

Tabla 1

Carta de control con el tóxico de referencia.

Dilución de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, ppm	Promedio de N° semillas germinadas en cada réplica realizada por triplicado						Promedio semillas germinadas	Promedio % germinación
	R1	R2	R3	R4	R5	R6		
0	22,00	19,00	21,00	29,00	24,00	29,00	24,00	80,00
0,1	15,00	20,00	16,00	26,00	27,00	25,00	21,50	71,67
1	16,00	18,00	17,00	21,00	23,00	23,00	19,67	65,56
10	21,00	14,00	18,00	20,00	25,00	22,00	20,00	66,67
100	22,00	19,00	22,00	20,00	21,00	23,00	21,17	70,56
1000	12,00	21,00	15,00	25,00	21,00	28,00	20,33	67,78



ANEXO B

1- CÁLCULO DE CONCENTRACIÓN DE EFECTO MEDIO, LA CUAL INDICA LA CONCENTRACIÓN DE EFECTO PARA EL 50% DE LOS ORGANISMOS EXPUESTOS CE_{50} CON EL TÓXICO DE REFERENCIA: Sulfato de cinc heptahidratado ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$)

1.1- Siembras con tóxico de referencia: Sulfato de cinc heptahidratado ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$)

Tabla 1

Cantidad de placas de Petri sembradas con tóxico de referencia: Sulfato de cinc heptahidratado ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$)

Cantidad de ensayos	6
Cantidad de placas de Petri replicadas por ensayo	3
Cantidad de diluciones ensayadas	6
Total de placas de Petri sembradas	108

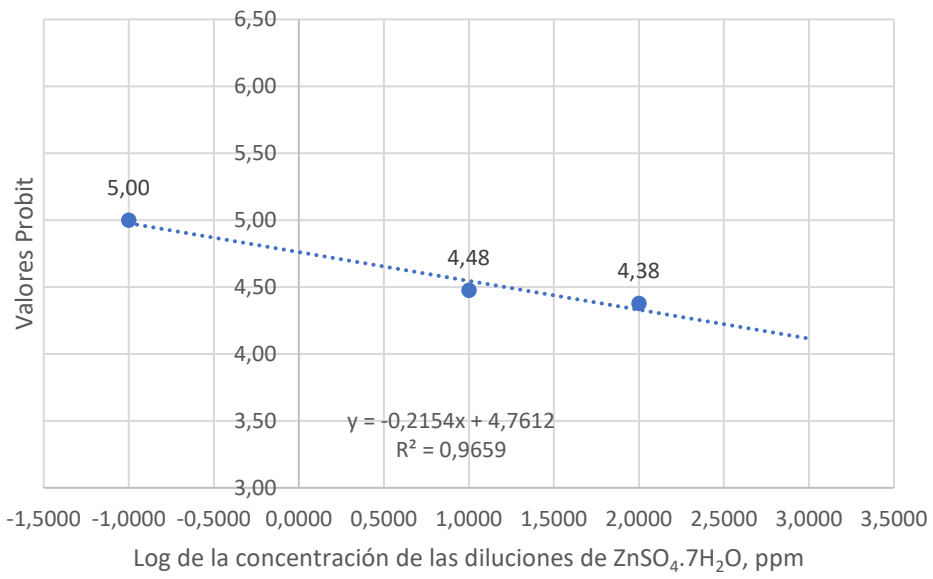
Gráfico 1

Grafica para estimar el valor de CE_{50} para diluciones de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ preparado con agua destilada.

Primer Triplicado



"Evaluación de ecotoxicidad aguda de fluidos de perforación de la cuenca golfo San Jorge sobre la germinación de semillas de lechuga (*Lactuca sativa*, L.)"



“Evaluación de ecotoxicidad aguda de fluidos de perforación de la cuenca golfo San Jorge sobre la germinación de semillas de lechuga (*Lactuca sativa*, L.)”

Gráfico 2

Grafica para estimar el valor de CE_{50} para diluciones de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ preparado con agua destilada.

Segundo Triplicado

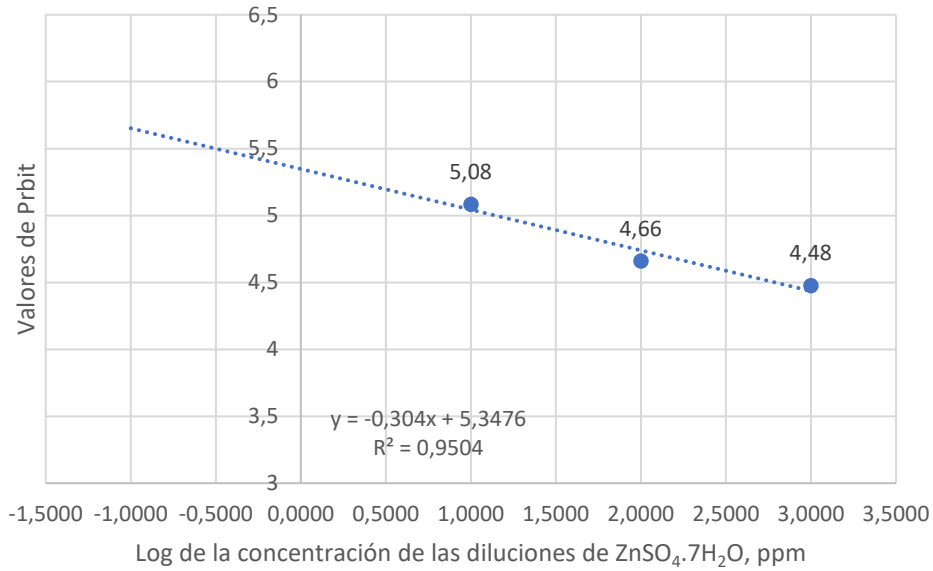


Gráfico 3

Grafica para estimar el valor de CE_{50} para diluciones de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ preparado con agua destilada.

Tercer Triplicado

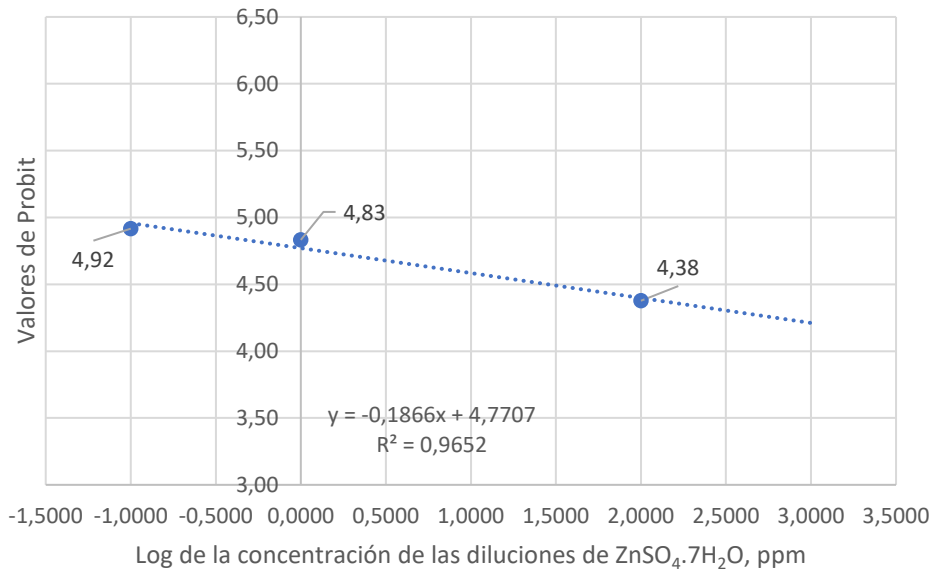


Gráfico 4

Gráfica para estimar el valor de CE_{50} para diluciones de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ preparado con agua destilada.

Cuarto Triplicado

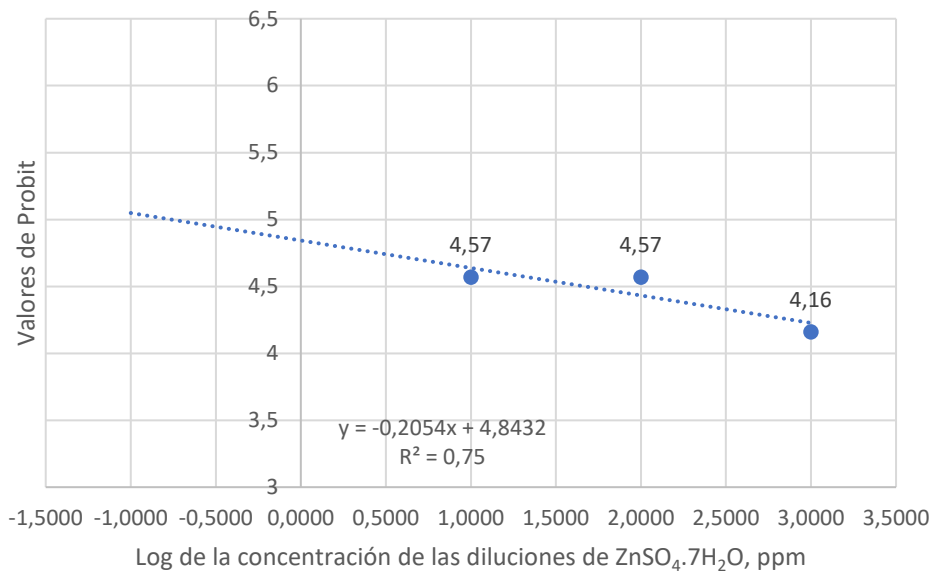


Gráfico 5

Gráfica para estimar el valor de CE_{50} para diluciones de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ preparado con agua destilada.

Quinto Triplicado

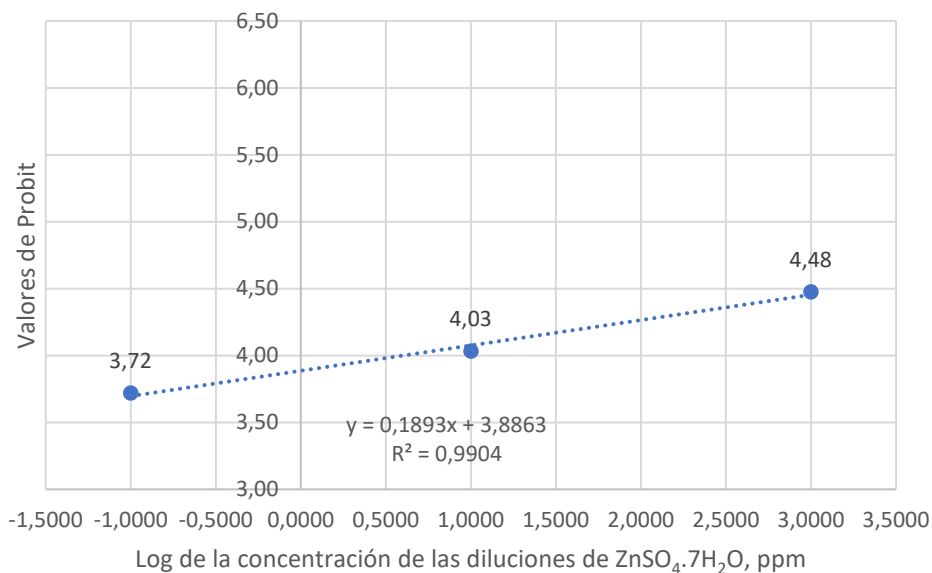
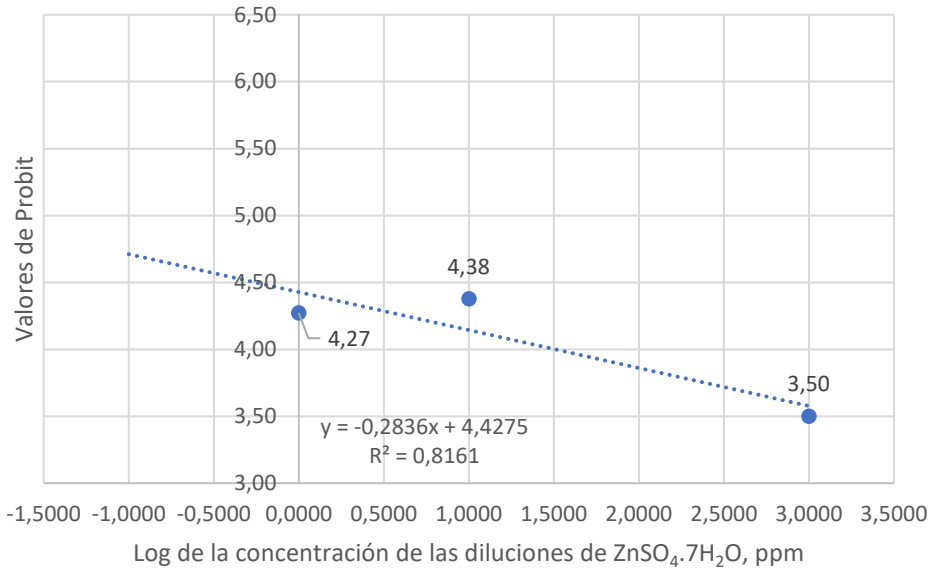


Gráfico 6

Gráfica para estimar el valor de CE_{50} para diluciones de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ preparado con agua destilada.

Sexto Triplicado



2- CÁLCULO DE CONCENTRACIÓN INHIBITORIA 50% DE LA GERMINACIÓN, CI_{50} , CON LAS FORMULACIONES DE FLUIDOS DE PERFORACIÓN A, B Y C PREPARADAS CON AGUA DESTILADA Y AGUA DULCE PARA GUÍA

2.1- Siembras con formulaciones de fluidos de perforación A, B y C preparadas con agua destilada

Tabla 2

Cantidad de placas de Petri sembradas con fluidos de perforación preparadas con agua destilada

Cantidad de ensayos	4
Cantidad de placas de Petri replicadas por ensayo	3
Cantidad de diluciones ensayadas	5
Cantidad de formulaciones de fluidos de perforación	3
Total de placas de Petri sembradas	180



2.1.1- Formulación A con agua destilada

Gráfico 7

Gráfica para estimar el valor de Cl_{50} para la solución A de fluido de perforación preparado con agua destilada.

Primer Triplicado

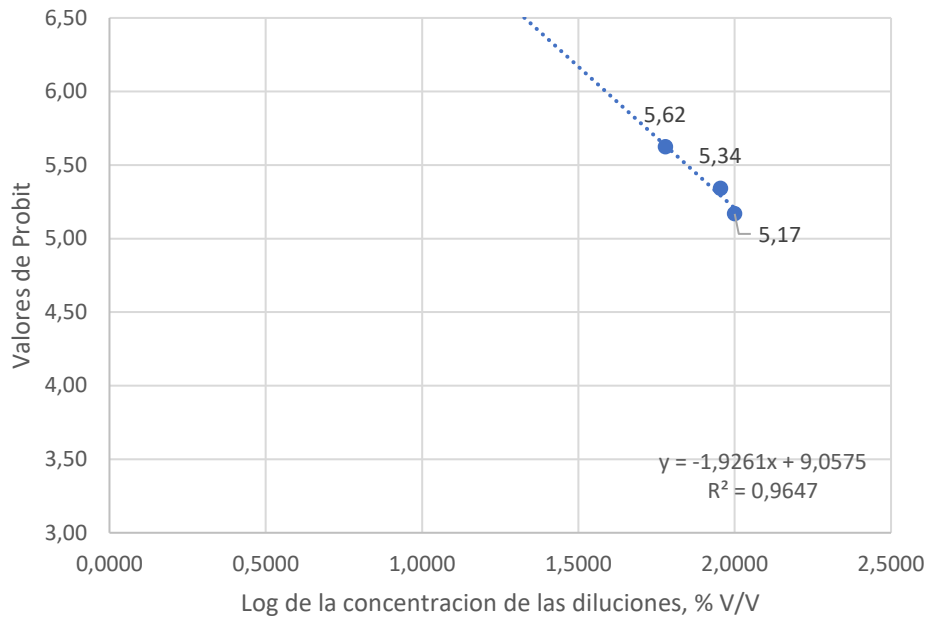
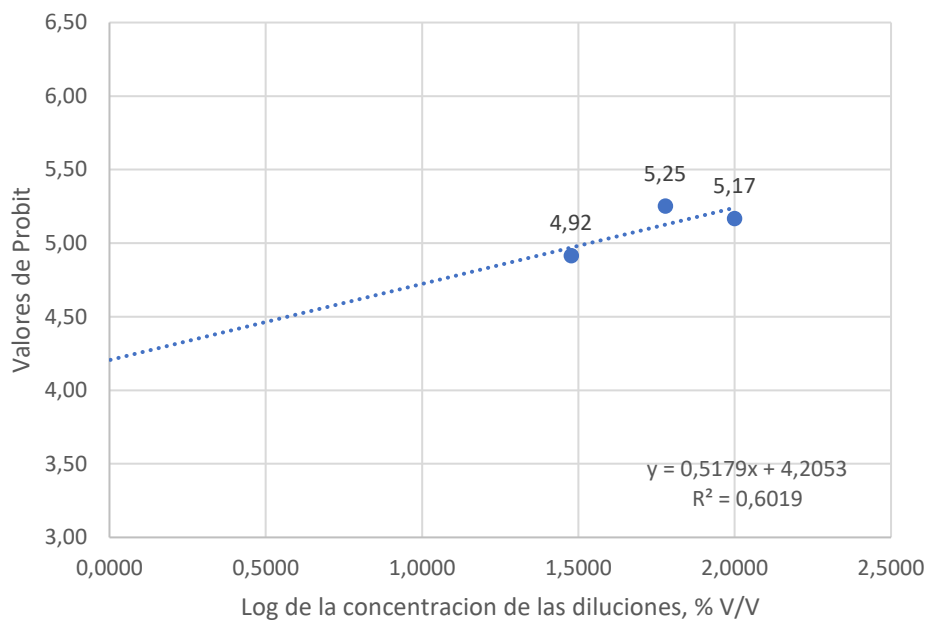


Gráfico 8

Gráfica para estimar el valor de Cl_{50} para la solución A de fluido de perforación preparado con agua destilada.

Segundo Triplicado



“Evaluación de ecotoxicidad aguda de fluidos de perforación de la cuenca golfo San Jorge sobre la germinación de semillas de lechuga (*Lactuca sativa*, L.)”

Gráfico 9

Grafica para estimar el valor de CI_{50} para la solución A de fluido de perforación preparado con agua destilada.

Tercer Triplicado

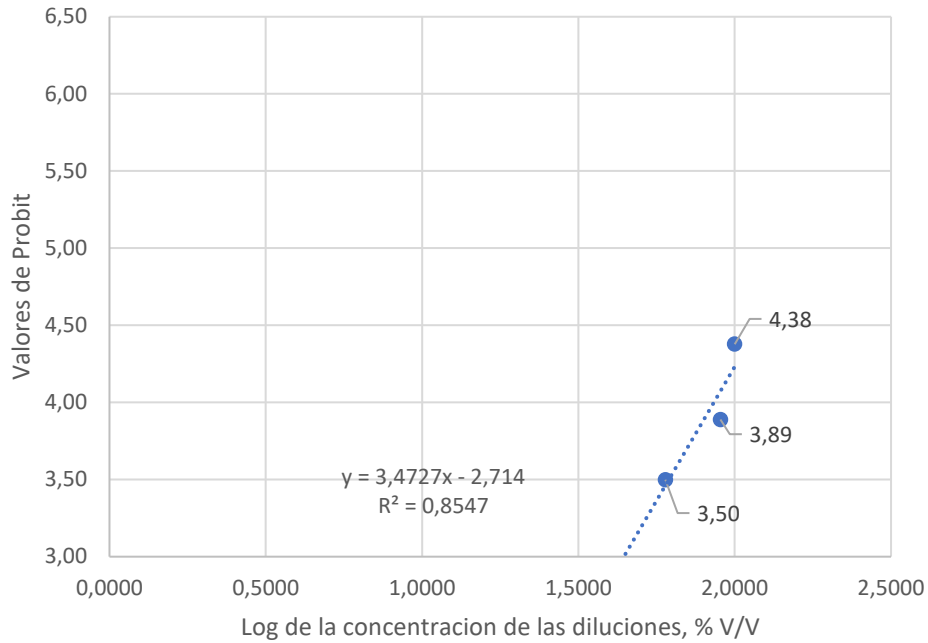
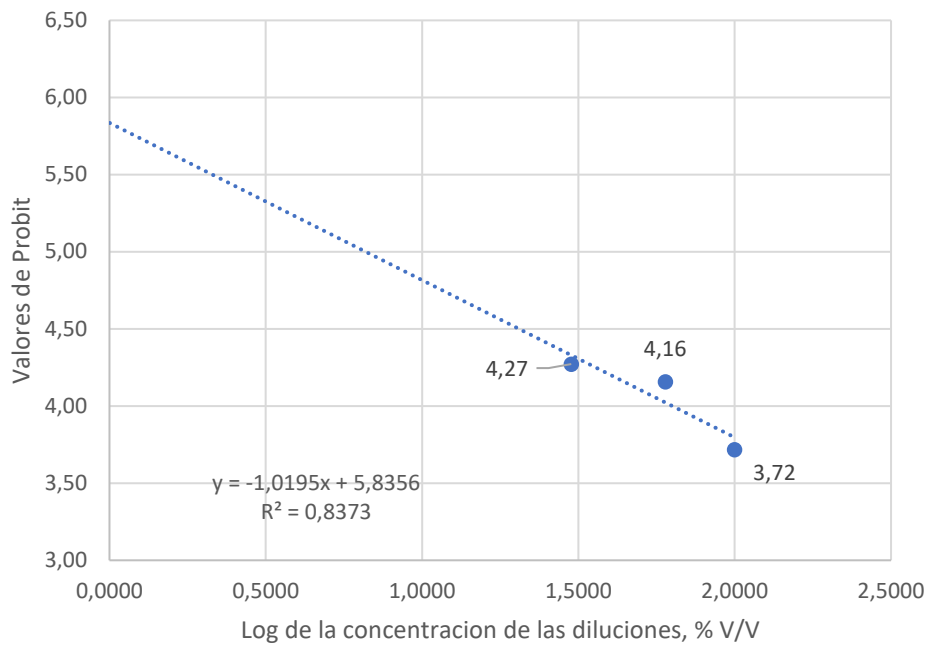


Gráfico 10

Grafica para estimar el valor de CI_{50} para la solución A de fluido de perforación preparado con agua destilada.

Cuarto Triplicado



2.1.2- Formulación B con agua destilada

Gráfico 11

Grafica para estimar el valor de CI_{50} para la solución B de fluido de perforación preparado con agua destilada.

Primer Triplicado

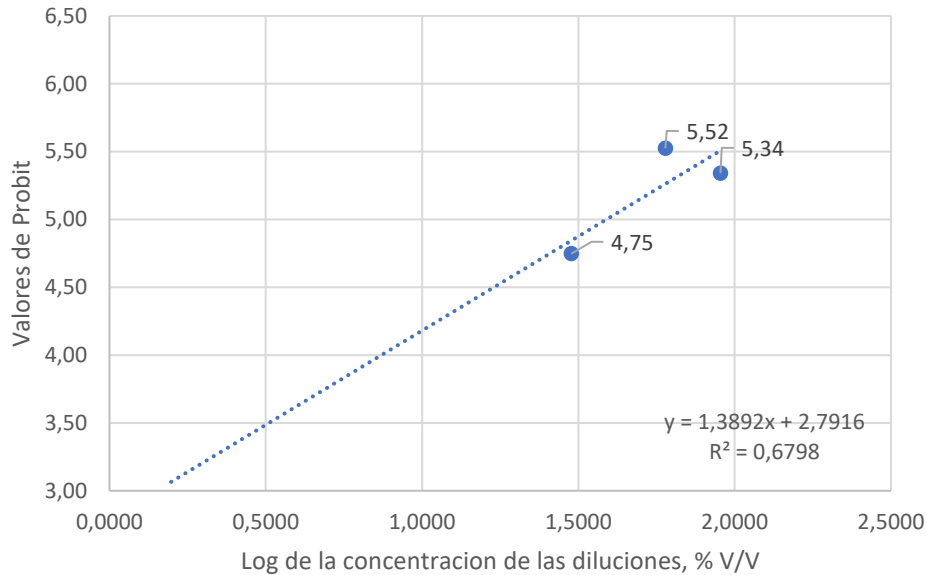


Gráfico 12

Grafica para estimar el valor de CI_{50} para la solución B de fluido de perforación preparado con agua destilada.

Segundo Triplicado

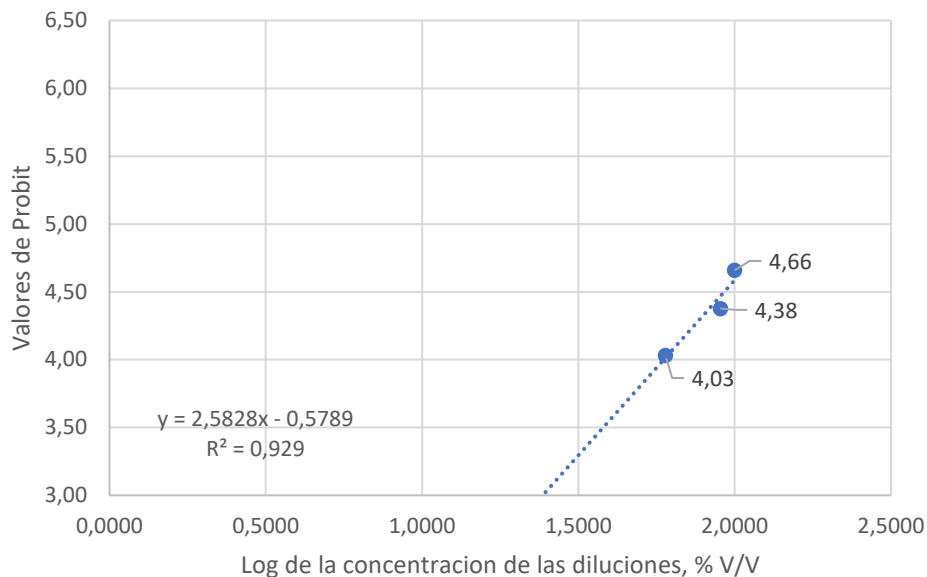


Gráfico 13

Grafica para estimar el valor de Cl_{50} para la solución B de fluido de perforación preparado con agua destilada.

Tercer Triplicado

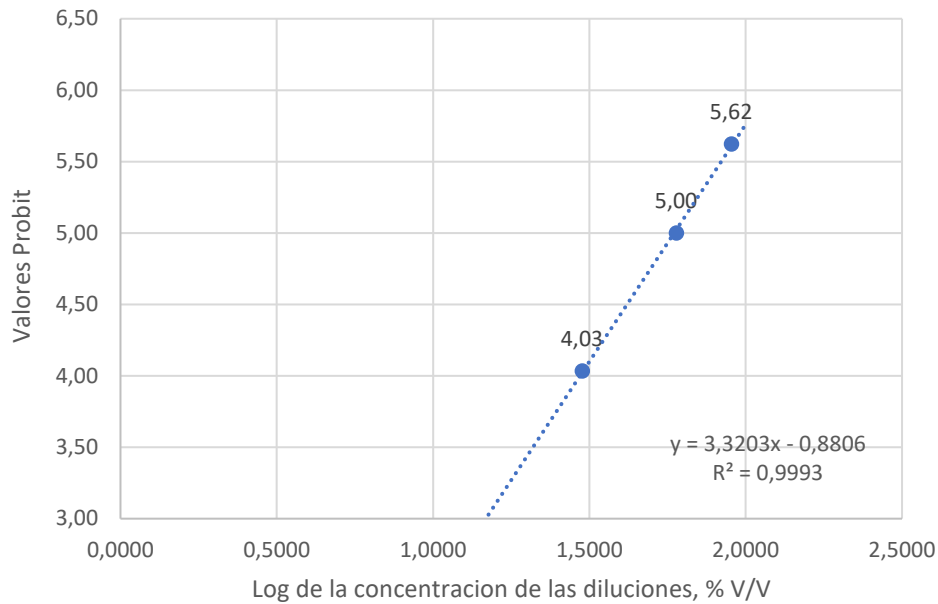
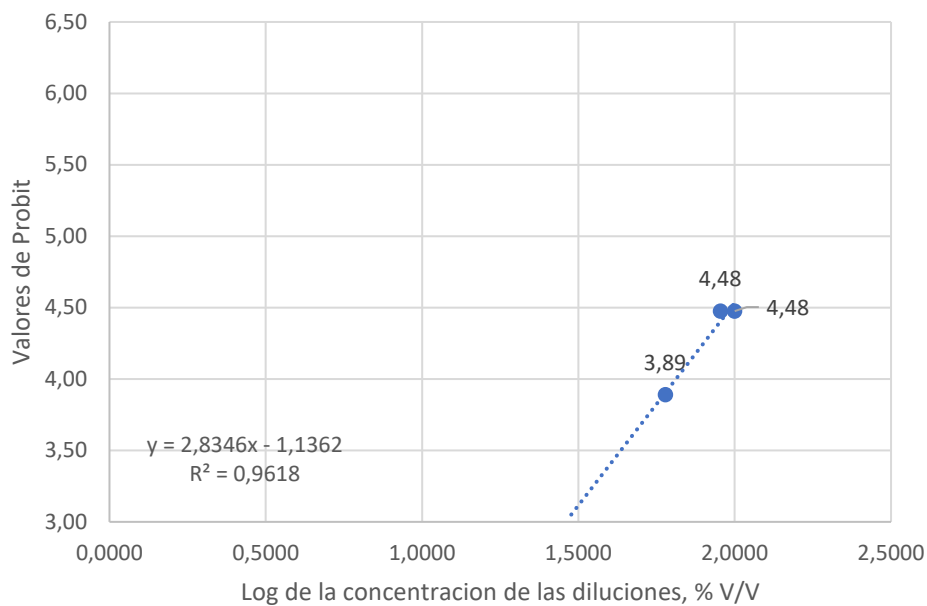


Gráfico 14

Grafica para estimar el valor de Cl_{50} para la solución B de fluido de perforación preparado con agua destilada.

Cuarto Triplicado



2.1.3- Formulación C con agua destilada

Gráfico 15

Grafica para estimar el valor de CI_{50} para la solución C de fluido de perforación preparado con agua destilada.

Primer Triplicado

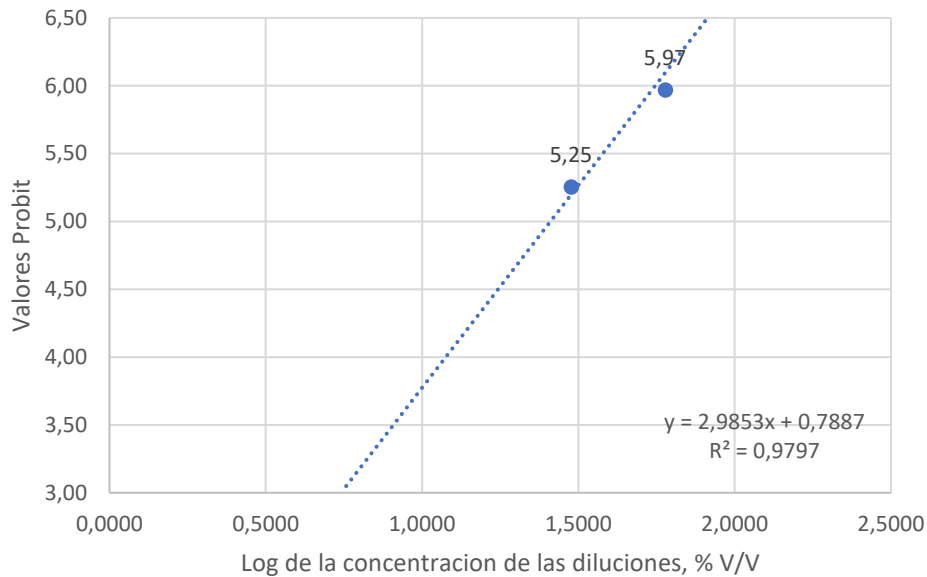
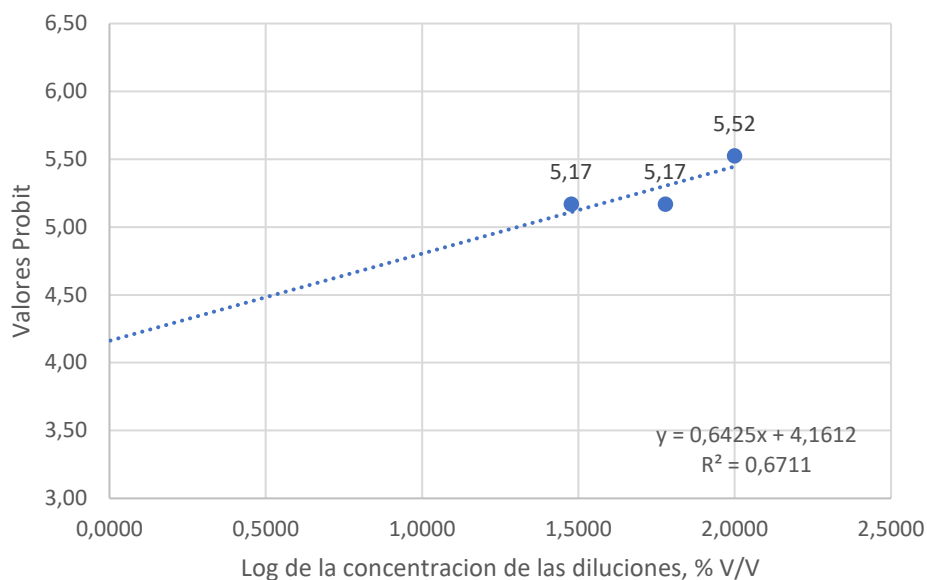


Gráfico 16

Grafica para estimar el valor de CI_{50} para la solución C de fluido de perforación preparado con agua destilada.

Segundo Triplicado



“Evaluación de ecotoxicidad aguda de fluidos de perforación de la cuenca golfo San Jorge sobre la germinación de semillas de lechuga (*Lactuca sativa*, L.)”

Gráfico 17

Gráfica para estimar el valor de CI_{50} para la solución C de fluido de perforación preparado con agua destilada.

Tercer Triplicado

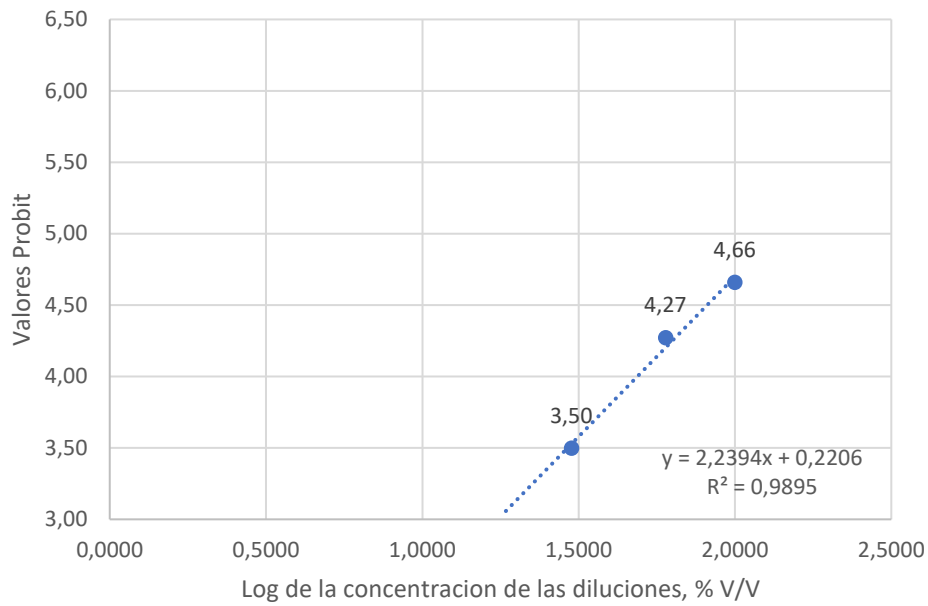
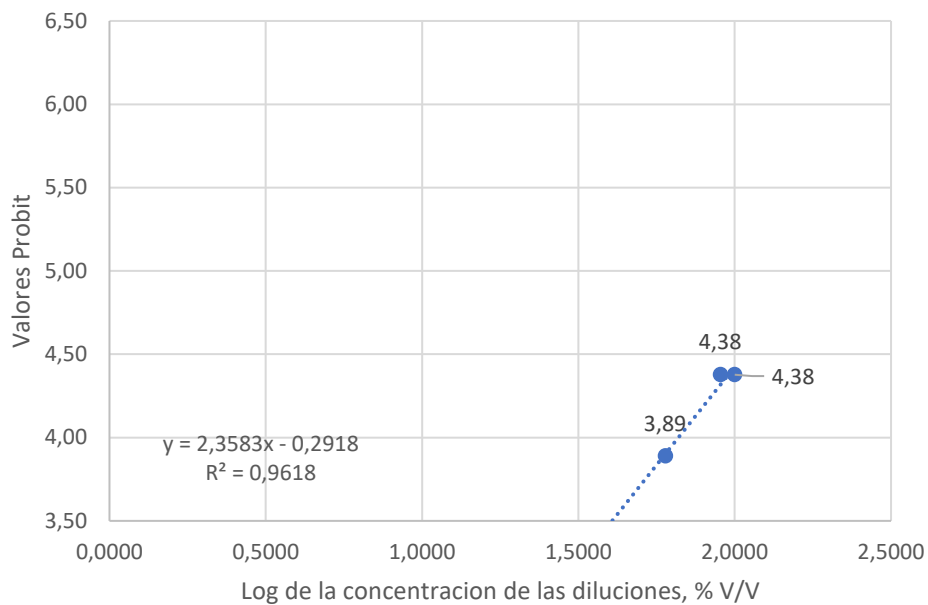


Gráfico 18

Gráfica para estimar el valor de CI_{50} para la solución C de fluido de perforación preparado con agua destilada.

Cuarto Triplicado



2.2- Siembras con formulaciones de fluidos de perforación preparadas con agua dulce para el tramo guía

Tabla 3

Cantidad de placas de Petri sembradas con fluidos de perforación preparadas con agua dulce para tramo guía

Cantidad de ensayos	3
Cantidad de placas de Petri replicadas por ensayo	3
Cantidad de diluciones ensayadas	5
Cantidad de formulaciones de fluidos de perforación	3
Total de placas de Petri sembradas	135

2.2.1. Formulación A con agua dulce para tramo guía

Gráfico 19

Grafica para estimar el valor de CI_{50} para la solución A de fluido de perforación preparado con agua dulce para tramo guía. Primer Triplicado

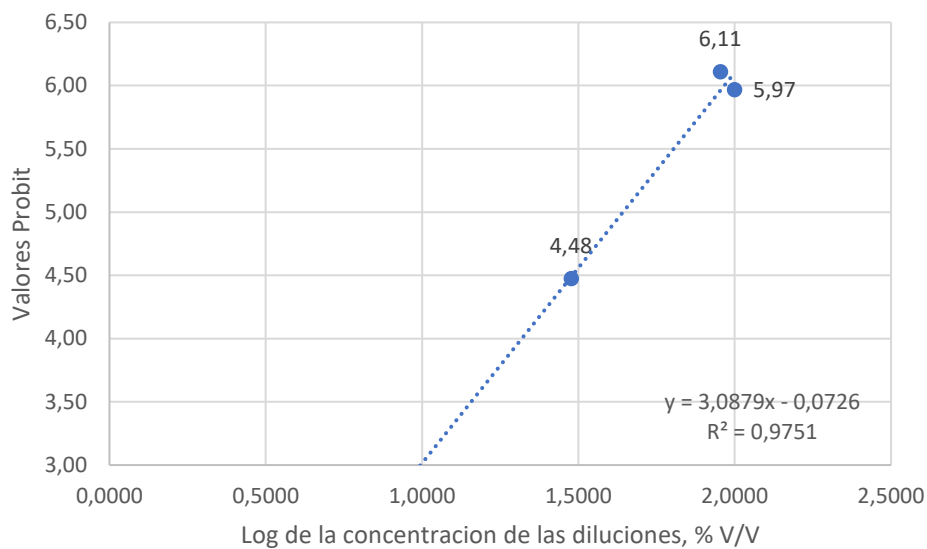


Gráfico 20

Grafica para estimar el valor de Cl_{50} para la solución A de fluido de perforación preparado con agua dulce para tramo guía. Segundo Triplicado

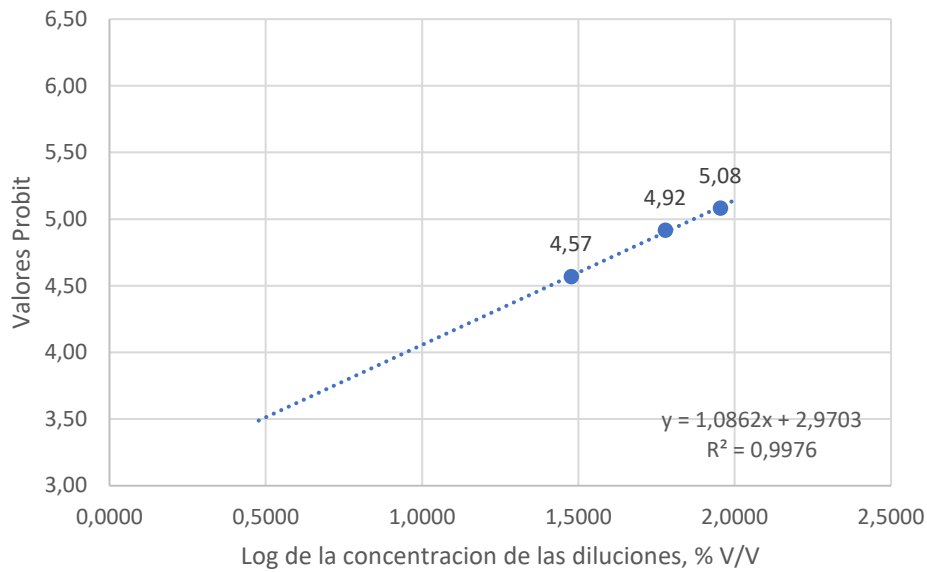
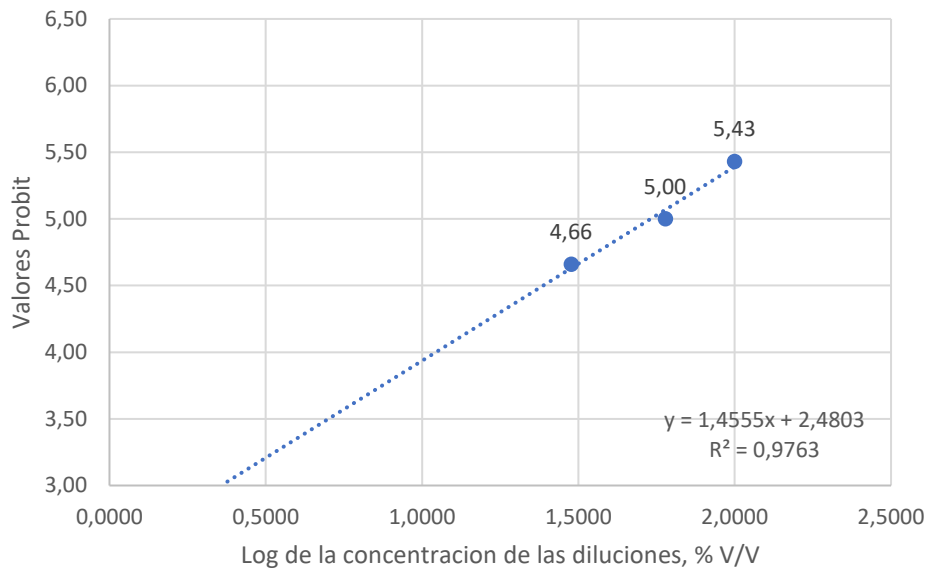


Gráfico 21

Grafica para estimar el valor de Cl_{50} para la solución A de fluido de perforación preparado con agua dulce para tramo guía. Tercer Triplicado



2.2.2. Formulación B con agua dulce para tramo guía

Gráfico 22

Grafica para estimar el valor de Cl_{50} para la solución B de fluido de perforación preparado con agua dulce para tramo guía.

Primer Triplicado

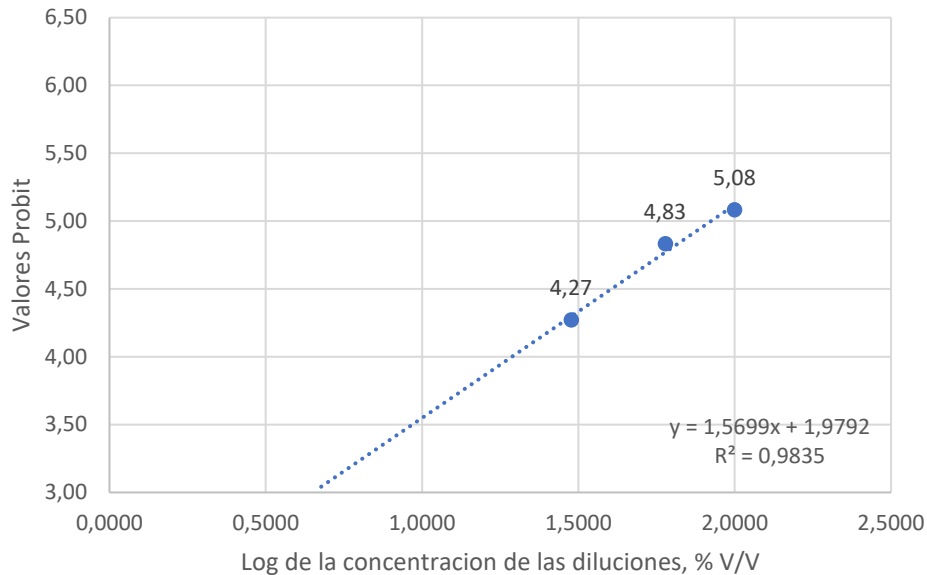


Gráfico 23

Grafica para estimar el valor de Cl_{50} para la solución B de fluido de perforación preparado con agua dulce para tramo guía.

Segundo Triplicado

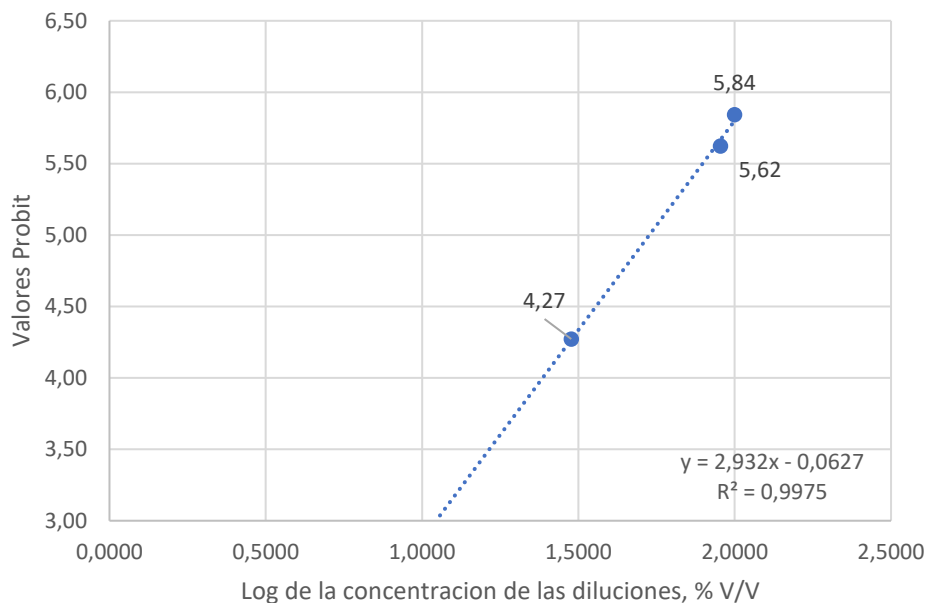
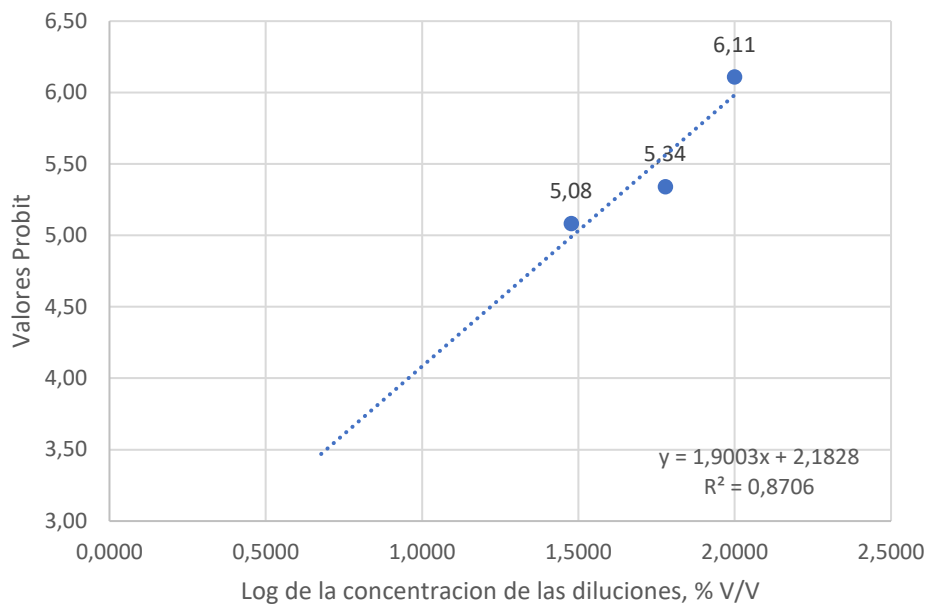


Gráfico 24

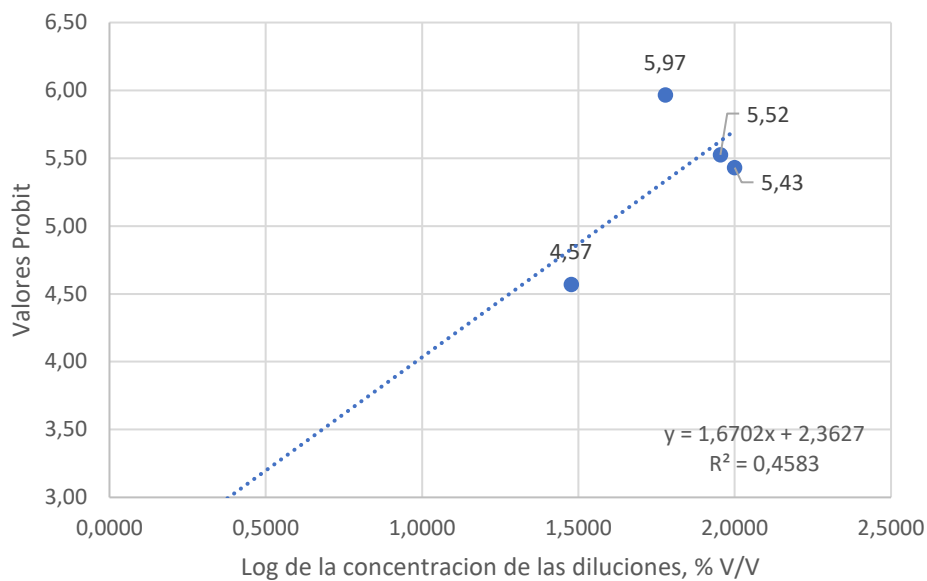
Grafica para estimar el valor de Cl_{50} para la solución B de fluido de perforación preparado con agua dulce para tramo guía. Tercer Triplicado



2.2.3- Formulación C con agua dulce para tramo guía

Gráfico 25

Grafica para estimar el valor de Cl_{50} para la solución C de fluido de perforación preparado con agua dulce para tramo guía. Primer Triplicado



“Evaluación de ecotoxicidad aguda de fluidos de perforación de la cuenca golfo San Jorge sobre la germinación de semillas de lechuga (*Lactuca sativa*, L.)”

Gráfico 26

Grafica para estimar el valor de CI_{50} para la solución C de fluido de perforación preparado con agua dulce para tramo guía. Segundo Triplicado

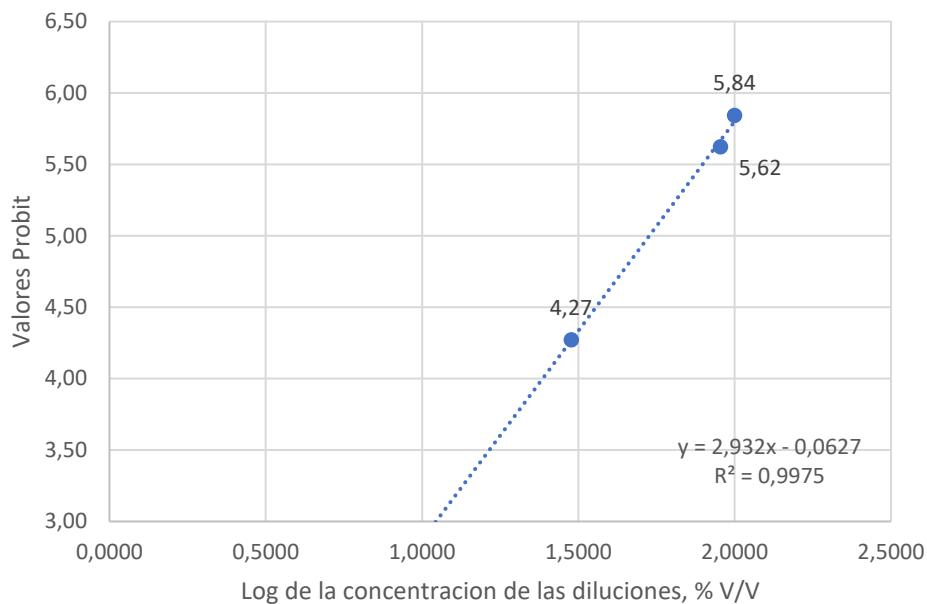
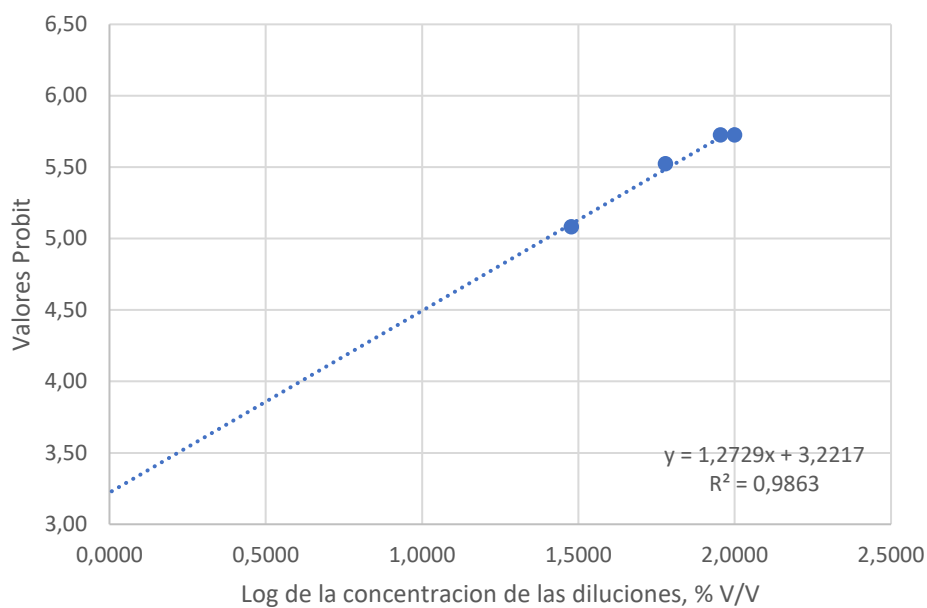


Gráfico 27

Grafica para estimar el valor de CI_{50} para la solución C de fluido de perforación preparado con agua dulce para tramo guía. Tercer Triplicado



ANEXO C

Instrumentos legales de aplicación a Medio Ambiente – Jurisdicción Nacional



Normativa: **Constitución Nacional Argentina**

Art. 41 - Derecho a gozar a ambiente sano. Daño ambiental obligación de recomponer. Nación debe dictar normas de presupuestos mínimos.

Corresponde a la Nación dictar las normas que contengan los presupuestos mínimos de protección, y a las provincias, las necesarias para complementarlas, sin que aquéllas alteren las jurisdicciones locales.

Art. 124 - Corresponde a las provincias el dominio originario de los recursos naturales existentes en su territorio.



Normativa: **Ley general del ambiente N° 25.675**

Artículo 1 - La presente ley establece los presupuestos mínimos para el logro de una gestión sustentable y adecuada del ambiente, la preservación y protección de la diversidad biológica y la implementación del desarrollo sustentable.

Artículo 4 - Principio precautorio: Cuando haya peligro de daño grave o irreversible la ausencia de información o certeza científica no deberá utilizarse como razón para postergar la adopción de medidas eficaces, en función de los costos, para impedir la degradación del medio ambiente.

Artículo 6 - Se entiende por presupuesto mínimo, establecido en el artículo 41 de la Constitución Nacional, a toda norma que concede una tutela ambiental uniforme o común para todo el territorio nacional, y tiene por objeto imponer condiciones necesarias para asegurar la protección ambiental. En su contenido, debe prever las condiciones necesarias para garantizar la dinámica de los sistemas ecológicos, mantener su capacidad de carga y, en general, asegurar la preservación ambiental y el desarrollo sustentable.



Normativa: **Régimen de gestión ambiental de aguas N° Ley 25.688**

Artículo 2 - A los efectos de la presente ley se entenderá: Por agua, aquélla que forma parte del conjunto de los cursos y cuerpos de aguas naturales o artificiales, superficiales y subterráneas, así como a las contenidas en los acuíferos, ríos subterráneos y las atmosféricas.

Artículo 7 - a) Determinar los límites máximos de contaminación aceptables para las aguas de acuerdo a los distintos usos. b) Definir las directrices para la recarga y protección de los acuíferos.



Normativa: **Ley régimen de libre acceso a la información pública ambiental N° 25831**

Artículo 2.- Se entiende por información ambiental toda aquella información en cualquier forma de expresión o soporte relacionada con el ambiente, los recursos naturales o culturales y el desarrollo sustentable. En particular:

a) El estado del ambiente o alguno de sus componentes naturales o culturales, incluidas sus interacciones recíprocas, así como las actividades y obras que los afecten o puedan afectarlos significativamente;

b) Las políticas, planes, programas y acciones referidas a la gestión del ambiente.



Instrumentos legales de aplicación a Medio Ambiente – Jurisdicción Provincia de Chubut

Autoridad en la Provincia de Chubut: MINISTERIO DE AMBIENTE Y CONTROL DEL DESARROLLO SUSTENTABLE



Normativa vigente: **Constitución Provincial de Chubut (Ley V - N° 67)**

Artículo 101.- Son de dominio del Estado las aguas públicas ubicadas en su jurisdicción que tengan o adquieran aptitud para satisfacer usos de interés general. La ley regla el gobierno, - administración, manejo unificado e integral de las aguas superficiales y subterráneas, la participación directa de los interesados y el fomento de aquellos emprendimientos y actividades calificadas como de interés social. La Provincia concierta con las restantes jurisdicciones el uso y el aprovechamiento de las cuencas hídricas comunes.

Artículo 109.- Toda persona tiene derecho a un medio ambiente sano que asegure la dignidad de su vida y su bienestar y el deber de su conservación en defensa del interés común. El Estado preserva la integridad y diversidad natural y cultural del medio, resguarda su equilibrio y garantiza su protección y mejoramiento en pos del desarrollo humano sin comprometer a las generaciones futuras. Dicta legislación destinada a prevenir y controlar los factores de deterioro ambiental, impone las sanciones correspondientes y exige la reparación de los daños.



Normativa vigente: **LEY XI N° 35 Código Ambiental del Chubut (Antes Ley 5439)**

Libro primero - del régimen general - título I de la política ambiental - capítulo V de los instrumentos de la política ambiental.

Artículo 9°. - Información ambiental: se instrumentará, a través de la Autoridad de Aplicación, el Sistema Provincial de Información Ambiental (S.P.I.A.), coordinando su implementación con los municipios y demás organismos de la administración provincial y con el Sistema Nacional de Información Ambiental, coordinado por la Secretaría de Recursos Naturales y Desarrollo Sustentable de la Nación, o el que lo reemplace.

Libro segundo. - del régimen especial

Título I.- del estudio del impacto ambiental capítulo I.- de la degradación

Artículo 31.- Se consideran actividades degradantes o susceptibles de degradar el ambiente:

- a) Las que contaminan directa o indirectamente el suelo, agua, aire, flora, fauna, paisaje y otros componentes, tanto naturales como culturales del ecosistema.
- d) Las que modifiquen las márgenes, cauces, caudales, régimen y comportamiento de las aguas superficiales y subterráneas.

Título II.- de la protección de las aguas y el aire capítulo I.- de las medidas protectivas.

Artículo 33- El estudio de impacto ambiental deberá ser suscripto por un responsable técnico. Podrán ser responsables técnicos de los estudios de impacto ambiental los siguientes profesionales: licenciados en biología, química, recursos naturales, geología o edafología o equivalentes, ingenieros en recursos hídricos, agrónomos, químicos e ingenieros especializados u otros cuyos títulos, con diferentes denominaciones, tengan el mismo objeto profesional o desglose del área de aplicación de los citados.



Artículo 38.- Declárese obligatoria la adopción de las medidas necesarias para la preservación de las condiciones naturales de las aguas superficiales y subterráneas, del aire y la lucha contra la polución de los mismos.

Artículo 40.- A los efectos de la presente ley, entiéndase por:

c) Cuerpo Receptor: El suelo, agua o atmósfera donde se evacuan elementos o sustancias de cualquier naturaleza.

d) Evacuar: Acto de arrojar, descargar, volcar o incorporar una cosa al medio: suelo, agua o atmósfera.

f) Aguas Subterráneas: Toda agua quieta o móvil bajo la superficie de la tierra.

i) Polución: Cualquier desmedro que se ocasione en la calidad del aire o de las aguas superficiales o subterráneas o del suelo como consecuencia de la acción del hombre, produciendo efectos perjudiciales para la salud humana, ecología y los intereses públicos y privados.

j) Cuenca: Territorio en que todas las aguas afluyen a un mismo cuerpo de agua.

k) Recursos Hídricos: Bienes en agua que dispone la Provincia.

Título V.- de la gestión ambiental de la actividad petrolera

Artículo 64.- Créase el Registro de Gestión Ambiental de la Actividad Petrolera, en el cual deberán inscribirse las empresas radicadas en la Provincia de Chubut, dedicadas a las actividades de: exploración, perforación, explotación petrolera, almacenamiento y/o transporte, operadores de terminales de embarque o descarga de petróleo crudo o derivados.



Normativa vigente: **Código de aguas de Chubut Ley XVII-Nº 53** (Antes Ley 4148)

TITULO III.- del Registro y censo de las aguas.

Capítulo I - Del Registro. Artículo 12.- La autoridad de aplicación habilitará y llevará los siguientes registros públicos. c) De las empresas dedicadas a la perforación del subsuelo y de toda información relacionada con aguas subterráneas y las estructuras geológicas que las contenga.

Capítulo II.- Contaminación. Artículo 153.- Queda prohibido todo hecho o la realización de cualquier obra que pueda producir o facilitar que las aguas subterráneas se contaminen o se tornen no aptas para el consumo humano, para abreviar ganado o para irrigación. La reglamentación establecerá las normas para asegurar la efectiva vigencia de esta prohibición.



Normativa vigente: **Creación del "programa provincial de perforaciones hídricas del Chubut" Ley XVII-Nº 66** (Antes Ley 4896)

Artículo 3 - Afectación al pago de los análisis de las muestras de aguas obtenidas en las perforaciones, para la confección del mapa hídrico de aguas subterráneas.



Normativa vigente: **Ley de política hídrica provincial. Nº XVII - Nº 88** (Antes Ley 5850)

Título II de los instrumentos de la política hídrica.

Capítulo I Instrumentos. Artículo 3º: Son instrumentos de la Política Hídrica Provincial: 2. El sistema de control, prevención y mitigación de la contaminación hídrica.

Capítulo III del sistema de control, prevención y mitigación de la contaminación hídrica.

Artículo 9º: Queda prohibido en el territorio de la Provincia: a) Toda contaminación, alteración o degradación de las aguas superficiales y subterráneas. c) La acumulación de sustancias no autorizadas, basura o residuos, escombros, desechos domésticos, químicos o industriales, o de



cualquier otro material en áreas o zonas que pueda implicar un riesgo o peligro para el recurso hídrico.

Artículo 17°. - La Autoridad de Aplicación podrá imponer zonas o áreas de protección hídrica en el perímetro de los cursos naturales o artificiales de aguas, lagos, lagunas, diques y embalses o determinadas zonas de acuíferos subterráneos, a los efectos de la regulación de las actividades que allí se realicen y con el objetivo de evitar alteraciones o degradaciones de las aguas, y así procurar la protección y calidad de las mismas. Asimismo, se podrán imponer restricciones o la adopción de medidas preventivas o correctoras a todas aquellas actividades que, atento a su inmediatez o cercanías, puedan en forma directa o indirecta causar deterioros o daños a las aguas o al ecosistema implicado.

Artículo 18°. - La Autoridad de Aplicación podrá imponer restricciones y vedas en aquellos cuerpos receptores naturales de aguas, o tramos o sectores de los mismos, y en determinados acuíferos subterráneos, que a juicio del organismo merezcan una protección especial y determinada.



Verificación cumplimiento legal: **Decreto N° 185/09** - Resolución N° 70/15

k) Análisis fisicoquímico de laboratorio, contemplando como mínimo los siguientes parámetros: pH, conductividad, temperatura (en campo), SDT, carbonato, bicarbonato, sulfato, cloruro, fluoruro, nitrato, calcio, sodio, potasio, magnesio, arsénico, boro, bario, cromo, plomo, cadmio, HTP y BTEX



Normativa vigente: **Ley Provincial de Hidrocarburos N° XVII N° 102**

Capítulo III Recurso Hídrico

Artículo 11.- Las personas físicas o jurídicas, públicas o privadas, que realicen actividades de exploración o explotación hidrocarburífera, deberán dar cumplimiento al Decreto N° 1567/09 "Registro Hidrogeológico Provincial" y a la normativa que en el futuro la reemplace o complemente. Todo emprendimiento hidrocarburífero a implantarse en el territorio de la Provincia de Chubut deberá contar con un estudio hidrogeológico detallado de búsqueda, identificación y captación del recurso hídrico, de manera previa a cualquier tarea prospectiva, exploratoria o de explotación, en el marco del Plan de Manejo de la Cuenca Hidrográfica. El recurso hídrico subterráneo deberá ser cuantificado como reserva.

La autoridad de aplicación en materia de agua, definirá las pautas para su potencial utilización, y reglamentará lo atinente para el caso de yacimientos en operación, debiendo respetar las prioridades establecidas por el Código de Aguas de la Provincia



Verificación cumplimiento legal: **Decreto 709/17 – Regulación del uso del agua coproducida en actividades hidrocarburíferas**

Artículo 1°. - Prohíbese en los procesos, operaciones o actividades desarrolladas dentro de las tareas de exploración, explotación, producción, transporte y almacenaje de hidrocarburos, dentro de la Provincia del Chubut, el uso de aguas que contengan una concentración de sólidos totales disueltos menores o iguales a 1500 mg/l, en construcción de locaciones, mantenimiento de caminos, superficies de apoyo, control de taludes, y/o cualquier otro uso técnicamente viable, debiéndose reemplazar por agua coproducida con aditivos biodegradables, sin excepción y cumpliendo con los valores umbrales y condiciones operativas establecidos en los artículos subsiguientes.



Artículo 4º. - El agua coproducción a ser empleada, no podrá en ningún caso superar los valores umbrales que a continuación se establecen, sin excepción:

1. Conductividad eléctrica: d» 5000 ($\mu\text{s}/\text{cm}$)
2. HTP: <15 ppm.
3. Dureza total: d» 900 mg/l
4. pH: entre 7 y 8
5. Aceites y Grasas: d» 25 mg/l
6. Sulfures: d» 0.5 mg/l.



Normativa vigente: **Código ambiental de la provincia de Chubut Ley XI Nº 35** (Antes Ley 5439)

Artículo 31.- Se consideran actividades degradantes o susceptibles de degradar el ambiente: d) Las que modifiquen las márgenes, cauces, caudales, régimen y comportamiento de las aguas superficiales y subterráneas.

Artículo 38.- Declárese obligatoria la adopción de las medidas necesarias para la preservación de las condiciones naturales de las aguas superficiales y subterráneas, del aire y la lucha contra la polución de los mismos.

Artículo 40.- A los efectos de la presente ley, entiéndese por:

f) Aguas Subterráneas: Toda agua quieta o móvil bajo la superficie de la tierra.

i) Polución: Cualquier desmedro que se ocasione en la calidad del aire o de las aguas superficiales o subterráneas o del suelo como consecuencia de la acción del hombre, produciendo efectos perjudiciales para la salud humana, ecología y los intereses públicos y privados.

Instrumentos legales de aplicación a Medio Ambiente – Jurisdicción Provincia de Santa Cruz



Normativa: **Constitución Provincial de Santa Cruz**

Artículo 73.- Toda persona tendrá derecho a disfrutar de un ambiente adecuado para su desarrollo personal.

El Estado y los particulares estarán obligados al cuidado y a la preservación del medio ambiente, así como a una explotación racional de los recursos naturales, para que las actividades productivas satisfagan las necesidades presentes sin comprometer las de las generaciones futuras.

Por ley se reglarán las acciones tendientes a impedir toda agresión contra el medio ambiente y se crearán los organismos a los que se encomendará la aplicación de estos preceptos. El daño ambiental generará prioritariamente la obligación de recomponer según lo establezca la ley y se asegurarán estudios del impacto ambiental en los emprendimientos que se realicen.



Normativa: **Ley de Aguas Nº 1451**

Título I - Disposiciones generales

Capítulo único

Artículo 6.- Queda prohibido verter en las aguas públicas, superficiales o subterráneas, sustancias sólidas, líquidas o gaseosas que puedan contaminarlas o alterar su calidad, salvo permiso de la autoridad competente, la que fijará las condiciones, requisitos y cargas financieras que deberán cumplir los usuarios. Los permisos serán precarios y estarán sujetos a las modificaciones que



establezca la Autoridad. Los vertidos mencionados en el presente artículo, ocurridos tanto por dolo o negligencia, constituyen igualmente una contravención, quedando tales situaciones sujetas a lo establecido en la presente Ley y a las disposiciones que las autoridades competentes dicten al efecto. Cuando se trate de infracciones referentes a la alteración del recurso hídrico superficial o subterráneo, por parte de persona física o jurídica, sea o no ésta usuario de aguas públicas, el funcionario designado de acuerdo al Artículo 124 de la presente, podrá requerir o realizar los estudios necesarios para la correcta caracterización de la alteración, a cuenta del causante. En caso de que la contaminación pueda poner en peligro la salud humana como la vida animal o vegetal, la autoridad competente podrá disponer la clausura o suspensión del establecimiento causante. La Autoridad de Aplicación está facultada para entrar en terrenos privados, sin necesidad de orden judicial, a los fines de verificar o controlar las condiciones del uso del agua pública. Los vertidos mencionados en el presente artículo constituyen una contaminación directa. Los vertidos realizados en suelo, que produzcan los mismos efectos descriptos en el presente Artículo, en aguas superficiales o subterráneas, por filtración, lixiviado o percolación constituyen una contaminación indirecta la que será regida en un todo bajo lo estipulado en el presente Artículo.

Capítulo VIII - Aguas subterráneas

Artículo 74.- Son aguas subterráneas las que se encuentren bajo la superficie del suelo, en acuíferos libres o confinados, y para cuyo alumbramiento se requiere la ejecución de alguna obra.

Artículo 75.- La autoridad de aplicación tendrá a su cargo la promoción y realización de los estudios y trabajos, incluso perforaciones, relacionados con el conocimiento, uso y control de las aguas subterránea y de supervisar los que fueran realizados por particulares.

Artículo 76.- El Estado Provincial, por sí o por contratistas, con intervención de la autoridad de aplicación y organismos que resulten competentes en el caso podrá:

- a) Explorar y alumbrar aguas subterráneas en predios fiscales desocupados o con ocupación precaria, y realizar las obras necesarias para su aprovechamiento, con fines de interés público.
- b) Conceder el uso de estas aguas a entes públicos o consorcios de usuarios, por períodos de hasta diez años, renovables.
- c) Otorgar permisos de explotación y perforación en terrenos fiscales desocupados o con ocupación precaria. El alumbrador tendrá derecho a una concesión para el uso del agua alumbrada que se regirá por la reglamentación que se dicte al efecto.
- d) Realizar, con fines de estudio, tareas de explotación y perforación en predios privados, indemnizando los perjuicios que se causaren.
- e) Promover la expropiación de bienes en los casos del artículo 80º, segunda parte.
- f) Dictar medidas de fomento para la explotación y exploración de aguas subterráneas.
- g) Fijar zonas de reserva dentro de cuyos límites no se autorizará la extracción de aguas subterráneas, salvo para uso común.
- h) Ejercer el control de las obras y medidas de perforación, extracción y aprovechamiento del agua subterránea, a los efectos de su debido uso y preservación.

Artículo 77.- Salvo prohibición expresa y fundada de la autoridad, cualquier persona puede explorar, con el objeto de alumbrar aguas subterráneas, en predio de su dominio o del cual tenga la posesión o tenencia legítima. Para hacer pozos o perforaciones deberá requerir permiso de la autoridad, salvo el caso del artículo siguiente. La autoridad reglamentará todo lo relativo a estos permisos.

Artículo 78.- El alumbramiento y extracción de aguas subterráneas es considerado uso común, y por ende no requiere permiso o concesión, cuando se destine a uso doméstico y su extracción se haga sin empleo de fuerza industrial.

Artículo 79.- Salvo el caso del artículo precedente, se requiere permiso o concesión para la extracción o uso del agua subterránea.

Artículo 80.- Constatada la existencia de agua subterránea en propiedad privada; o en predio fiscal adjudicado o cuya tenencia ha sido legalmente otorgada, el dueño del inmueble o el adjudicatario



o tenedor tendrá prioridad para el otorgamiento del permiso o concesión. Si no hiciera uso de este derecho, dentro del término que fije la reglamentación y si el uso del agua respondiera al interés general, la autoridad de aplicación promoverá las expropiaciones necesarias para el emplazamiento y conducción del agua.

Artículo 82.- Todo alumbramiento de aguas subterráneas debidamente autorizado gozará de una zona de protección, fijada por la autoridad del agua, dentro de la cual no se autorizarán perforaciones para extracción de agua subterránea.



Normativa: **Ley Declaración de reserva hidrogeológica a la zona de meseta espinosa y el Cordón N° 2185**

Artículo 1.- Declarase área de reserva hidrogeológica, la zona comprendida entre los niveles terrazados denominados "Meseta Espinosa" y "El Cordón" que queda delimitado por la cota IGM de trescientos metros por el norte hasta el eje del valle actual del Río Deseado al Sur; por el Este el límite está dado por el meridiano 67° 30 de longitud oeste, mientras que el límite Oeste es de 69° de longitud oeste.



Normativa: **Ley Evaluación de Impacto Ambiental N° 2658**

De las actividades comprendidas

Artículo 7.- Se consideran actividades capaces de modificar directa o indirectamente el ambiente del territorio provincial: d) Las que modifiquen las márgenes, cauces, caudales, régimen y comportamiento de las aguas superficiales y subterráneas



Normativa: **Disposición N° 135 - Establece las normas y procedimientos técnicos para la práctica de recuperación secundaria en la extracción de hidrocarburos**

En todo pozo nuevo que se perfore, la cañería guía deberá extenderse por debajo de los acuíferos de interés, ofreciendo una eficaz aislación con cemento entre el casing y la formación desde el fondo de pozo hasta superar la base de cañería guía.

