



FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES

CARRERA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL

**“EVALUACIÓN DEL RIESGO AMBIENTAL ACUÁTICO DE
PETRÓLEO CRUDO EN: *Lemna minor* (GRIFF), *Daphnia magna*
(STRAUS) y *Danio rerio* (HAMILTON-BUCHANAN)”**

Tesis para optar el título profesional de:

INGENIERA AMBIENTAL

Presentado por:

Bach. Alisson Valeska Caja Molina (ORCID: 0000-0003-3761-4498)

Asesor:

Dr. José Alberto Iannacone Oliver (ORCID: 0000-0003-3699-4732)

Lima – Perú

2020

COPIA DE ACTA DE SUSTENTACIÓN

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Lima, 14 de octubre de 2020.

Los integrantes del Jurado de tesis:

Presidente: Mg. Damaso Wilfredo Ramirez Huaroto	<input type="checkbox"/>
Miembro: Ing. Melissa Giovanna Olivera Huamán	
Miembro: Ing. Juan Alberto Palomino Vega	

Se reúnen para evaluar la tesis titulada:

“EVALUACIÓN DEL RIESGO AMBIENTAL ACUÁTICO DE PETRÓLEO CRUDO EN: *Lemna minor* (GRIFF), *Daphnia magna* (STRAUS) y *Danio rerio* (HAMILTON-BUCHANAN)”

Presentada por el bachiller:

- Alisson Valeska Caja Molina

Para optar el Título Profesional de Ingeniero Ambiental

Asesorada por:

- Dr. José Alberto Iannacone Oliver

Luego de haber evaluado el informe final de tesis y evaluado el desempeño de los estudiantes de la carrera de Ingeniería Ambiental en la sustentación, concluyen de manera unánime (X) por mayoría simple () calificar a:

Tesisista: Alisson Valeska Caja Molina		Nota (en letras): Diecisiete	
Aprobado ()	Aprobado - Muy buena (X)	Aprobado - Sobresaliente ()	Desaprobado ()
	17		

Los miembros del jurado firman en señal de conformidad.



Mg. Damaso Wilfredo Ramirez Huaroto
Presidente del Jurado



Dr. José Alberto Iannacone Oliver
Asesor



Ing. Melissa Giovanna Olivera Huamán
Miembro del jurado



Ing. Juan Alberto Palomino Vega
Miembro del jurado

DEDICATORIA

El presente trabajo se lo dedico a la persona más importante en mi vida: mi madre Emma por los consejos, confianza y constante apoyo que me brindó, durante toda mi vida y etapa profesional, para poder lograr mis metas. A mis hermanas, Sheyla y Yeira, por ser un ejemplo a seguir y por apoyarme en todas mis decisiones y a Paul, por brindarme apoyo y consejos durante toda mi etapa universitaria.

AGRADECIMIENTOS

Al Doctor José Iannacone por su constante orientación y asesoramiento para el desarrollo del presente estudio.

A la Dirección General de Investigación, Desarrollo e Innovación de la Universidad Científica del Sur por hacer posible la realización de la presente tesis.

Por último, a la Facultad de Ciencias ambientales por brindar las instalaciones de los laboratorios y los equipos necesarios para los experimentos.

INDICE GENERAL

COPIA DE ACTA DE SUSTENTACIÓN	2
DEDICATORIA.....	3
AGRADECIMIENTOS.....	4
RESUMEN.....	7
ABSTRACT	8
INTRODUCCIÓN	9
MATERIALES Y MÉTODOS.....	12
RESULTADOS.....	19
DISCUSIONES	22
CONCLUSIONES.....	34
RECOMENDACIONES	35
AGRADECIMIENTOS.....	35
REFERENCIAS	36
ANEXOS.....	66
EVIDENCIA DEL ENVÍO A REVISTA CIENTÍFICA.....	66
COPIA DE RESOLUCIÓN DE APROBACIÓN DEL PROYECTO DE TESIS.....	67

**“EVALUACIÓN DEL RIESGO AMBIENTAL ACUÁTICO DE
PETRÓLEO CRUDO EN: *Lemna minor* (GRIFF), *Daphnia magna*
(STRAUS) Y *Danio rerio* (HAMILTON-BUCHANAN)”**

Valeska Caja-Molina¹, José Alberto Iannacone Oliver²

1 Bachiller en Ingeniería Ambiental. Laboratorio de Ingeniería Ambiental. Facultad de Ingeniería ambiental. Universidad Científica del Sur. Lima, Perú, Correo electrónico: alissonvaleska@gmail.com, ORCID: 0000-0003-3761-4498

2 Biólogo, Doctor en Ciencias Biológicas, Docente-Investigador, Laboratorio de Ingeniería Ambiental. Facultad de Ingeniería ambiental. Universidad Científica del Sur. Lima, Perú. Laboratorio de Invertebrados. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Ricardo Palma. Lima, Perú. Laboratorio de Ecología y Biodiversidad Animal (LEBA) Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas. Universidad Nacional Federico Villarreal. Lima, Perú, joseiannaconeoliver@gmail.com, ORCID: 0000-0003-3699-4732.

Autor para correspondencia, José Alberto Iannacone Oliver, E-mail: joseiannaconeoliver@gmail.com

RESUMEN

Los derrames de petróleo por lo general, ocasionan contaminación de los sistemas acuáticos, generándose un grave problema ambiental. El objetivo del estudio fue evaluar el riesgo ambiental acuático del petróleo crudo mediante bioensayos de toxicidad letal y subletal en *Lemna minor* L. (GRIFF 1851), *Daphnia magna* (Straus 1820) y *Danio rerio* (Hamilton-Buchanan 1922). Se determinó la toxicidad de los hidrocarburos totales de petróleo en la fracción acomodada de petróleo evaluándose el peso seco y clorosis (*L. minor*), mortalidad e inmovilidad (*D. magna*), hipoactividad, escape hacia el fondo e hipoventilación (*D. rerio*). Se obtuvo para la *L. minor*, una NOEC de <0.4 y 3.22 mg/L en los parámetros de clorosis y peso seco. Para el caso de *D. magna*, se obtuvo una CE_{50-48h} 2.74 mg/L y CL_{50-48h} de 6.22 mg/L. Del bioensayo que se realizó con el pez, el parámetro hipoactividad dio una NOEC y LOEC de 14.28 y 28.61 mg/L respectivamente para las 96 h. El 100 por ciento mostró respuesta de escape a una concentración de 3.58 mg/L. Para el parámetro de hipoventilación los valores obtenidos a las 96 h de NOEC y LOEC fueron 7.15 y 14.31 mg/L. Todos los parámetros analizados presentaron un cociente de riesgo mayor a 1, por lo que se evidenció un riesgo acuático ambiental. El orden de toxicidad decreciente fue: *L. minor* (<0.40 mg/L – Clorosis 168 h) > *D. magna* (1.61 mg/L – inmovilidad 48 h) > *D. rerio* (<3.58 mg/L – escape hacia el fondo 96 h).

Palabras claves: Bioindicadores, ecotoxicidad, fracción acumulada de petróleo, lenteja de agua, pez cebrá, pulga de agua.

ABSTRACT

Oils spills cause aquatic pollution, which generates serious environmental problems. This study aims to assess the crude oil's aquatic environmental risk by determining lethal and sub lethal effects in *Lemna minor* (GRIFF 1851), *Daphnia magna* (Straus 1820) and *Danio rerio* (Hamilton-Buchanan 1922). It was determined that the toxicity of total petroleum hydrocarbons (TPH), which is contained in water accumulate fraction of petroleum, through parameters measured like dry weight and chlorosis (*L. minor*), mortality and immobility (*D. magna*), hypoactivity, bottom scape, and hypoventilation (*D. rerio*). It was obtained a NOEC of <0.4 and 3.22 mg/L for chlorosis and dry weight for *L. minor*. In the case of water flea, it was obtained an EC_{50-48h} of 2.74 mg/L and LC_{50-48h} of 6.22 mg/L. For fish bioassays, NOEC and LOEC of hypoactivity parameter were 14.28 y 28.61 mg/L respectively. Also, bottom scape shows 100% of effect at 3.58 mg/L. For hypoventilation, NOEC and LOEC were 7.15 y 14.31 mg/L measured at 96 h. The risk quotient was higher than 1. Therefore, there is evidence of environmental aquatic risk. The decreasing ecotoxicity order was: *L. minor* (<0.40 mg/L – chlorosis 168 h) > *D. magna* (1.61 mg/L – immobility 48 h) > *D. rerio* (<3.58 mg/L – bottom scape 96 h).

Keywords: Bioindicator, duckweed, ecotoxicity, water accommodated fraction, water flea and zebra fish.

INTRODUCCIÓN

El petróleo crudo es una mezcla compleja de productos, principalmente de hidrocarburos, donde el carbono está en un rango de 83 y 87 % y el hidrogeno, entre 10 y 14 % (Hsu y Robinson 2019). Además; contiene azufre, compuestos de nitrógeno, oxígeno, níquel, vanadio, hierro, aluminio, cobre y gases incondensables como metano, etano y ácido sulfúrico; y agua; los que están formados en depósitos subterráneos de roca sedimentaria y están constituidos por productos más pesados como asfaltenos (Wauquier 2004, Feijoo 2012, Speight 2014, Tamayo et al. 2015).

El mal manejo del recurso, manejo inadecuado de los residuos y los derrames accidentales o imprudenciales generados por las actividades de explotación, refinación, distribución y almacenamiento generan impactos sanitarios, sociales y ambientales como destrucción de los recursos naturales, trastornos al ecosistema; contaminando los recursos hídricos por incorporación de sedimentos que alteran a las comunidades bentónicas e ingresan a las cadenas alimenticias a través del zoo y fitoplancton (SCT 2004, Bravo 2007, Becerra 2013).

El petróleo crudo, si bien en su mayor composición es un compuesto insoluble, presente una pequeña proporción soluble el cual se le conoce como fracción acumulada de petróleo (FAP). Este es el componente es el más tóxico del crudo el cual se incorpora en el agua después de un derrame de petróleo, por lo que los organismos acuáticos están más expuestos a este componente que a los demás componentes del crudo (Abbriano et al. 2011, Wilson y Ralph 2008, Wang et al. 2018). La FAP consta de componentes alifáticos, nafténicos,

aromáticos, como benceno, tolueno (presente en mayor proporción que el benceno), etilbenceno, xileno y fenoles (Wilson y Ralph 2008, Salaberria et al. 2014); siendo los hidrocarburos aromáticos policíclicos de mayor peso molecular los que presentan un coeficiente de reparto elevado, por lo que solo están presentes en concentraciones trazas (Neff et al. 2000).

Para determinar el grado de contaminación del agua y los efectos tóxicos que generan los contaminantes al ambiente, actualmente se hace uso de diversas especies de organismos acuáticos denominados “bioindicadores” (Kern et al 2015). Estos organismos pueden detectar cambios en el ambiente ocasionado por la presencia de contaminantes debido a su resistencia a la variabilidad ecológica siendo sus ventajas el determinar los efectos tóxicos a nivel individual y a niveles superiores de la organización biológica (Hallmann et al. 2014, Parmar et al. 2016). Por lo que es recomendable el uso de diversos bioindicadores de los diferentes niveles de la cadena trófica para obtener una mejor evaluación de las consecuencias ecológicas generadas por los contaminantes (Silva et al. 2017).

Uno de los bioindicadores utilizado para determinar los efectos tóxicos de los contaminantes en los cuerpos de agua es la “lenteja de agua”, *Lemma minor* (Griff 1851). Es una planta vascular macrófita, angiosperma, monocotiledónea flotante ampliamente distribuida en agua dulce, proveniente de zonas tropicales hasta zonas templadas (Baird y Bridgewater 2017). Son utilizadas para realizar bioensayos de toxicidad debido a su fácil recolección, cultivo y manipulación en el laboratorio; pequeño tamaño, rápida tasa de crecimiento y bajo costo (Zhang et al 2013, Fekete-Kertész et al 2015).

La “pulga de agua”, *Daphnia magna* (Straus 1820), es otro buen bioindicador de la alteración del ecosistema presente en cuerpos de agua dulce (Arndt et al 2014, Yang et al. 2014). Es una especie partenogenética usada comúnmente para pruebas de toxicidad por ser sensible a muchos contaminantes ambientales, amplia distribución geográfica, alta fecundidad y por cumplir un papel importante en la comunidad zooplanctónica actuando como consumidor primario de fitoplancton y siendo alimento para los consumidores secundarios (Iannacone et al 2012, Miner 2012, Pérez et al 2015).

El “pez cebra”, *Danio rerio* (Hamilton-Buchanan 1822), es un ciprínido que habita en lugares tropicales dulceacuícolas y salobres con abundante vegetación, tolerantes a grandes cambios del medio ambiente como salinidad, pH y temperatura (Quintero 2017). Asimismo, estos organismos se desarrollan a una temperatura de 26°C siendo su ciclo de vida es de tres meses y se alimentan generalmente de peces, crustáceos del fondo marino, gusanos y larvas de insectos (UBA 2006, Quintero 2017). Ésta especie es utilizada como bioindicador para ensayos ecotoxicológicos por su pequeño tamaño, alta fecundidad y rápido crecimiento, características que lo representan como un organismo complejo y fácil para evaluar los efectos ecotóxicos (UBA 2006, agudos (Martínez-Jerónimo et al. 2005, Brugman 2016, Quintero 2017).

El objetivo del presente estudio fue evaluar el riesgo ambiental acuático de petróleo crudo a través de los efectos letales y subletales en *L. minor*, *D. magna* y *D. rerio*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Fracción acumulada de petróleo (FAP)

El petróleo crudo se suministró por la refinería de La Pampilla – Repsol (Lima – Perú). Éste presenta una densidad de 0.8 g/cm³. Siguiendo la metodología de Anderson et al. (1974), se mezcló petróleo crudo y agua de mesa en un matraz Erlenmeyer en las siguientes proporciones de V:V (volumen:volumen) expresadas: 1:80 (lenteja de agua) (Wilson y Ralph 2008), 1:20 (pulga de agua) determinado por un ensayo preliminar y 1:9 (pez cebra). La solución fue sellada con papel aluminio para evitar evaporación y se agitó en un agitador magnético sin formar un vórtice mayor a 25% verticalmente para evitar la formación de gotas suspendidas en el agua (Salaberria et al. 2014), por un periodo de 20 h, a temperatura de 20°C y en oscuridad para posteriormente ser dejada en una pera de decantación por un periodo de 3 h. Se obtuvo dos fases y se usó la fase acuosa obtenida de la parte inferior de la pera de decantación que representó el 100% de la FAP. No se requirió realizar ajuste de pH ya que la FAP se mantuvo entre el valor de 7 y 8. Las concentraciones diluidas con agua embotellada para cada bioensayo fue de 6.25, 12.5, 25, 50 y 100%.

Determinación de concentración de hidrocarburos totales de petróleo (HTP) en la fracción acumulada de petróleo

Los datos obtenidos de hidrocarburos totales de petróleo se calcularon en base a Albers (2003) quien asevera que el petróleo crudo presenta aproximadamente 75% de HTP. Éste valor está en el rango del estudio de Neff et al. (2000), quienes determinan la cantidad de HTP en 4 tipos de crudos siendo el rango de 47 – 81 % del peso. Por lo que en el presente estudio, se

determinó el valor de masa convirtiendo el volumen de crudo utilizado en masa mediante su densidad para luego determinar el 75% de HTP. Para determinar la cantidad de HTP presentes en la fracción acumulada de petróleo, se multiplicó el valor obtenido en el petróleo crudo por un factor. Éste factor fue determinado mediante la proporción de la cantidad de HTP presentes en la FAP de varios estudios que poseían una densidad similar a la del presente estudio para posteriormente realizar un promedio de éstos obteniéndose el factor de 0.00085833 (Avila et al. 2010, Bonucci et al. 2014, Karam et al. 2014, Lari et al. 2015a, Philibert et al. 2016). Las diferentes concentraciones de HTP en la FAP calculadas para los ensayos fueron: 0.40 – 6.44 mg/L para la lenteja de agua; 1.61 – 25.75 mg/L para la pulga de agua y 3.58 – 57.22 mg/L para el pez cebra.

Diseño experimental

Los bioensayos se realizaron según las guías de ensayo de la Organización para la Cooperación y Desarrollo Económico [OCDE] los cuales fueron para *L. minor* (OCDE 2006), *D. rerio* (OCDE 2018) y *D. magna* (OCDE 2004).

Para los tres experimentos, se midieron los parámetros físico-químicos al inicio y final del bioensayo. Se midió el pH, conductividad eléctrica y temperatura con un medidor de pH / CE / TDS / Temperatura marca Hanna® HI98130. Además, se midió el oxígeno disuelto con el medidor de oxígeno disuelto Hanna® HI9146.

***Lemna minor* (L.) GRIFF, 1851**

Las lentejas de aguas fueron adquiridas en el acuario “Pet Shop” ubicado en Barranco, Lima, Perú. No se requirió una aclimatación debido a que el proveedor las mantuvo aclimatadas previamente con agua de clorada y nutrientes esenciales “Plant Gro” Nutrafin® el cual contiene nitrógeno, boro, cobre, hierro, manganeso, molibdeno y zinc. Asimismo, se mantuvo con una iluminación constante de 2800 lux durante dos semanas. Las lentejas mostraron un aspecto saludable sin presencia de clorosis, necrosis ni forma irregular (OECD, 2006).

El bioensayo consistió en adicionar 10 colonias de *L. minor* conformado por dos hojas del mismo tamaño, en un envase de plástico con capacidad de 250 mL y se le adicionó 100 mL de la solución con hidrocarburo. El ensayo se realizó con el diseño de bloques completamente al azar: 6x4 con 4 repeticiones y cinco concentraciones más el control: 0, 10.40, 0.80, 1.61, 3.22 y 6.44 mg/L. La temperatura del ensayo se mantuvo a 24 ± 2 °C y con iluminación de 4200 lux constante. La duración de la prueba fue de 168 h y los parámetros finales de lectura fueron: formación de hojas nuevas, número total de frondas, peso seco, peso húmedo, clorosis (50% de pérdida de pigmento) y necrosis (50% de tejido muerto).

***Daphnia magna* STRAUS, 1820**

Las hembras adultas fueron obtenidas del acuario “Cleo” proveniente del distrito de Lince, Lima, Perú y se transportaron en envases de plástico al Laboratorio de Larvicultura Experimental, Facultad de Biología marina, Universidad Científica del Sur, Lima, Perú para su aclimatación.

La aclimatación de las hembras partenogénicas se realizó en contenedores de plástico de 7 L con 3 L de agua embotellada, conteniendo cada envase 30 pulgas. Se les suministró de alimento, el microalga *Chlorella vulgaris* (Beijerinck) diariamente (Ha et al. 2019). La aclimatación se mantuvo a una temperatura de 20 ± 2 °C, a un pH de 7, constante aireación siendo el oxígeno disuelto (OD) de 7 - 8 mg/L y a un fotoperiodo de 12 h luz: 12 h oscuridad por un período de 14 días (Iannacone y Alvariño 2009). Cada semana se realizó un recambio de 2/3 de agua (Jiang et al. 2012) y diariamente se removió las pulgas muertas. Para el desarrollo de la prueba se empleó neonatos (<24 h de nacido) obtenidos hembras adultas partenogénicas.

La prueba se realizó con un diseño de bloques completamente al azar: 6x4 que consistió de 4 repeticiones y cinco concentraciones más el control: 0, 1.61, 3.22, 6.44, 12.87, 25.5 mg/L. Se realizó en envases circulares de plástico con capacidad de 60 mL adicionando 40 mL del contaminante y 10 neonatos de *D. magna* a cada envase.

La prueba fue válida ya que en el control no se registró mortalidad. La duración de la prueba fue de 48 h, tomando como puntos de lectura mortalidad e inmovilización a las 24 y 48 h. Los organismos no fueron alimentados durante el ensayo. Para la lectura de los parámetros, se agitó previamente para reactivar el movimiento de los organismos. El criterio de inmovilidad fue la ausencia de movimiento por 15 s y para la mortalidad, la ausencia de ritmo cardiaco a los 15 s a través del microscopio estereoscopio (Jiang et al. 2012). Después de las 24h de lectura, se removieron los organismos muertos.

***Danio rerio* HAMILTON-BUCHANAN, 1822)**

Se obtuvieron 300 peces del acuario “Z’acuarios” de Puente Piedra, Lima, Perú y se transportaron en envases de plástico al Laboratorio de Larvicultura Experimental, Facultad de Biología marina, Universidad Científica del Sur, Lima, Perú. Se acondicionó en un acuario de 70 cm de largo x 30 de ancho x 40 de alto el cual fue llenado hasta el 90% de capacidad con agua de mesa. Además se le incorporó un termómetro, termostato y piedra difusora para proporcionar oxígeno constantemente. La aclimatación se mantuvo por 2 semanas a una temperatura de 23 ± 2 °C, pH de 7, aireación constante siendo el oxígeno disuelto de 7 - 8 mg/L y a un fotoperiodo de 12 h luz: 12 h oscuridad suministrándose diariamente alimento para peces tropicales Nutrafin Max®. Cada 3 días se realizó un recambio de la tercera parte del agua y diariamente se monitoreó los parámetros oxígeno disuelto, pH, temperatura así como también se sifoneó diariamente el agua del acuario para eliminar los restos de comida para evitar el aumento de amonio (NH₄), nitritos (NO₂) y nitratos (NO₃) (Ubong *et al.* 2014, Baird y Bridgewater 2017). Durante el desarrollo de la aclimatación no se observó enfermedades, signos de estrés, daño físico ni mortalidad.

Los peces mostraron una apariencia saludable requisito indispensable para el inicio del bioensayo. La prueba se realizó con un diseño de bloques completamente al azar: 6x4 que consistió de 4 repeticiones y cinco concentraciones más el control: 0, 3.58, 7.15, 14.31, 28.61 y 57.22 mg/L. La prueba se realizó en envases de plástico de 1L y se adicionó 10 peces colocados al azar a cada envase de aproximadamente 2.5 cm de longitud.

La duración de la prueba fue de 96 h tomando como puntos de lectura a las 24, 48, 72 y 96 h. Los parámetros como punto finales de lectura fueron: hipoactividad, escape hacia el fondo e hipoventilación (determinado mediante el conteo del movimiento del opérculo por 30 seg). Los peces no se alimentaron durante todo el ensayo.

Evaluación del Riesgo Ambiental (ERA)

La estimación de la ERA se basó en la Guía de la OCDE (2011). Para evaluar el riesgo ambiental se emplearon escenarios de mayor exposición utilizando 3 organismos representativos de la cadena trófica acuática como la lenteja de agua representando a los productores primarios, la pulga de agua como consumidor primario y el pez cebra como consumidor secundario.

La estimación del coeficiente de riesgo se calculó mediante la división de la concentración ambiental prevista (PEC) de hidrocarburos totales de petróleo de los estándares de calidad ambiental (ECA) de agua - categoría 4: Conservación del ambiente acuático (MINAM 2017), entre la concentración esperada sin efecto en el ambiente (PNEC) estimada. Se calculó PNEC dividiendo NOEC (concentración en la que no se observa efecto por exposición del contaminante) entre un factor de seguridad de 100. Este factor se determinó según la guía de OCDE (2011) basándose en el uso de tres especies de la cadena trófica y tomándose como parámetro a evaluar NOEC. Si el coeficiente de riesgo obtenido es inferior a 1, representa un riesgo aceptable mientras que un coeficiente superior a 1 representa un riesgo significativo.

Así mismo, se evaluó el riesgo ambiental según la guía del MINAM (2010) para determinar si existe un riesgo leve, moderado o alto en base al entorno natural, humano y socioeconómico.

Análisis estadístico

Las pruebas de toxicidad aguda de la FAP sobre los organismos acuáticos, se evaluaron en cinco concentraciones (6.25%, 12.5%, 25%, 50% y 100%) más el control, con cuatro repeticiones, en un diseño de Bloque Completo al Azar: 6 x 4. Cada parámetro se analizó por la prueba de normalidad y la prueba de homogeneidad de varianzas mediante la prueba de Shapiro-Wilk y prueba de Levene, respectivamente. Si los datos cumplen con los supuestos de normalidad y homogeneidad, se evalúa la eficacia de los tratamientos a través de un análisis de varianza (ANOVA). En el caso que no cumpla con lo supuesto, se somete a la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis (K-W). Si existen diferencias significativas entre los tratamientos y entre las repeticiones se realizó la prueba de Tukey ($p= 0.05$) la cual obtuvo los datos de LOEC (Concentración más baja en la que se observan efectos por exposición al Contaminante) y NOEC. Todos los datos se analizaron mediante el programa de cómputo IBM SPSS Statistical (IBM Corp., 2013) considerando un nivel de significancia de 0,05. Las concentraciones letales y subletales medias se obtuvieron a partir de una hoja de cálculo del programa de cómputo Excel®, Probit versión (Finney 1952). Los cálculos del porcentaje de inhibición de los parámetros estudiados comparados con el control se transformaron mediante la fórmula de Schneider-Orelli's (Püntener 1981) cuya fórmula consiste:

$$\% \text{ corregido} = \left(\frac{(\% \text{ mortalidad en el tratamiento} - \% \text{ mortalidad en el control})}{100 - \% \text{ mortalidad en el control}} \right) * 100$$

RESULTADOS

Lemna minor

De los parámetros analizados expuestos a la FAP; número de frondas totales, peso húmedo, ruptura y formación de hojas nuevas; no se observó diferencia estadísticamente significativa entre las concentraciones de FAP y el control (**Cuadro I**).

A las 168 h de exposición para la lenteja de agua, se determinaron los valores de NOEC y LOEC observándose una mayor toxicidad en el efecto subletal porcentaje de clorosis que en peso seco. Los datos obtenidos para el parámetro peso seco muestran valores superiores al control a 0.81 y 1.61 mg/L; mientras que la concentración más alta de 6.44 mg/L muestra una mayor toxicidad.

Al analizar los parámetros físico-químicos se obtuvieron una disminución de pH en todas las concentraciones de FAP mientras que en el control, el valor final superó al inicial. El valor de pH en el control no aumentó más de 1.5, rango impuesto por la guía de ensayo, el cual determina la validez del ensayo (OCDE 2006). En cuanto a los datos de conductividad eléctrica y oxígeno disuelto, mostraron un incremento. Con respecto a la temperatura, no disminuyó significativamente (**Cuadro II**).

Daphnia magna

Se evaluó el efecto ecotoxicológico agudo de la FAP sobre los neonatos de *D. magna* a las 24 y 48 h de exposición (**Cuadro III**) observándose un mayor efecto de la FAP a las 48 h que a las 24 h en los dos parámetros evaluados: porcentaje de inmovilidad y mortalidad. Los valores obtenidos en ambos parámetros analizados, demostraron que existe mayor toxicidad para la pulga con el aumento de concentración a medida que transcurre el tiempo expuesto al contaminante. La concentración letal media (CL₅₀) determinada a las 48 h para la inmovilización y mortalidad fue de 3.22 y 6.44 mg/L respectivamente.

Con respecto al parámetro físico-químico pH, no se observó un cambio significativo. El pH se mantuvo dentro del rango de 6 – 9 impuesto por la OCDE (2004), sin variar en más de 1.5 de unidad demostrando la validez del ensayo. En cuanto a la conductividad eléctrica, los datos finales se mantuvieron similares a los valores iniciales. Los valores de oxígeno disuelto y temperatura disminuyeron no significativamente. Estos valores se mantuvieron dentro del rango impuestos por la guía OCDE (2004) de 18 – 22° C y el oxígeno se mantuvo cerca del 100% de saturación validando el ensayo (**cuadro IV**).

Danio rerio

De los parámetros evaluados, no se observó afectación en el parámetro de mortalidad ni inmovilización.

En el **cuadro V** se muestran los porcentajes de hipoactividad evaluados a 24, 48, 72 96 h de exposición. Se obtuvo un decrecimiento de la actividad natatoria con el aumento de la concentración de FAP en comparación con el

control. Los valores de NOEC, LOEC y CE_{50} más tóxicos fueron a las 72 h analizadas. Por otro lado, a las 96 h se observó una recuperación sin determinarse la CE_{50} debido a que no hubo afectación mayor al 50% en comparación con el control. El orden de toxicidad en cuanto a la CE_{50} fue de 12.95, 27.48 y 34.79 mg/L para las 72, 24 y 48 h respectivamente.

De igual manera para el parámetro porcentaje de escape hacia el fondo se determinó una mayor toxicidad comparado con los parámetros hipoactividad e hiperventilación. La toxicidad evaluada mostró mayor afectación desde las primeras 24 h y desde la concentración más baja de FAP. NOEC analizada para las 4 lecturas fueron todas menores a 3.58 mg/L y se determinó la CE_{50} a las 48 y 72 h de exposición siendo los valores 3.59 y 2.38 respectivamente (**Cuadro VI**).

El parámetro de hipoventilación mostrado en el **cuadro VII** registró valores de NOEC de 3.58 y 7.15 mg/L para las 48 y 96 h de exposición. En cuanto a las diferentes concentraciones, se observa una disminución de la frecuencia respiratoria, excepto para las concentraciones 7.15 mg/L (48h y 96 h) y 14,31 mg/L (96 h) el cual se registra un aumento significativo.

El **cuadro VIII** muestra los parámetros fisicoquímicos analizados. El pH y la conductividad eléctrica no mostraron un cambio significativo. Además, se observó una disminución en el oxígeno disuelto y la temperatura al final del ensayo. Los valores de pH y temperatura se mantuvieron dentro del rango de la guía, validando el ensayo (OCDE 2018).

Evaluación de riesgo ambiental

En el **cuadro IX** se muestra el resumen de la evaluación de riesgo ambiental de la fracción soluble de petróleo en los 3 organismos acuáticos. Los valores obtenidos del cociente de riesgo siendo mayor a uno, indican que la FAP en el ambiente acuático genera riesgo acuático ambiental.

DISCUSIONES

Las concentraciones de petróleo presentes en el ecosistema acuático, ocasionado por derrames, y los efectos tóxicos va a depender de diferentes factores como la escala temporal y espacial, topografía, dinámica del agua, magnitud del derrame y tipo de petróleo crudo pudiéndose encontrar desde 20 - 40 ppm o más en los metros superiores de la columna de agua (McAuliffe et al. 1981, Almeda et al. 2014). La toxicidad de la FAP se debe principalmente a los hidrocarburos monoaromáticos como benceno, tolueno, etilbenceno y xileno (BTEX) (Neff et al. 2000), así como al naftaleno y a los alcanos presentes en mayor proporción (Omar-Ali et al. 2015). El petróleo crudo de Repsol presentó un grado API de 45.15 lo que corresponde a petróleo ligero, siendo este tipo petróleo tóxico para los ensayos agudos (Martínez-Jerónimo et al. 2005). El petróleo crudo ligero es más tóxico que el pesado pudiendo penetrar en la columna de agua con más eficiencia que el pesado; por otro lado, los crudos ligeros tienden a evaporarse con mayor rapidez por lo que pueden permanecer menor tiempo en el ambiente (Bravo, 2007).

Con respecto al parámetro peso seco evaluado, en las concentraciones más bajas se obtuvo valores similares al control, mientras que en la concentración más alta se observa una inhibición. Este resultado es similar al estudio de

Eshagberi (2017) quien obtiene un aumento en el peso húmedo de una planta acuática *Ceratophyllum Demersum* L. en la concentración más baja (25% FSP) siendo superior al control y una inhibición en la concentración en la concentración más alta (100% de FSP). Este resultado se le puede atribuir a la absorción de metales, nitratos y fósforo como fuente de nutrientes óptimos para la lenteja de agua (Arroyave 2004, Edema et al. 2008, Edema y Okoloko 2008). Esto es aseverado en otros estudios quienes determinan que la FAP contiene nitratos (NO^{-3}) y amonio (NH^{4+}) y el cual se observa una reducción de éstos durante el bioensayo con macrófitas atribuyéndosele a la absorción de estos nutriente y el cual se produzca en el presente estudio, una estimulación de crecimiento de ciertos parámetros analizados en bajas concentraciones; así como también contiene cationes como Ca^{++} , Na^{+} , Mg^{++} , etc. y aniones como Cl^{-} , SO_4^{-2} entre otros que en altas concentraciones y especialmente cuando se produce la formación de sal NaCl , ocasiona estrés a la planta observándose inhibición en el peso seco (Edema et al. 2008, Edema et al. 2007, Hernández et al. 1995).

La disminución del grosor de las hojas y la longitud de las raíces en el presente estudio, probablemente sería la causa de la disminución de la biomasa. De acuerdo con Lopes et al (2009) obtiene una estimulación en la longitud de las raíces en concentraciones medias mientras que en concentraciones altas, se observa una inhibición; de igual modo, se observa un adelgazamiento en las hojas de la macrófita *Eichhornia crassipes* causado por los HTP y se produce por la reducción de absorción de nutrientes en altas concentraciones provocando estrés en la planta y afectando su desarrollo.

Para la clorosis en *L. minor*, se determinó una dependencia con la concentración de FAP. Mientras mayor fue la concentración analizada, se obtuvo un mayor porcentaje de clorosis. Esto es debido a que los componentes como iones presentes en la FAP, causan estrés provocando degradación en la clorofila (Edema et al. 2007, Edema y Okoloko, 2008). La clorosis también se evidenció por la presencia de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) en la FAP que al entrar en contacto con la luz, aumentan la toxicidad de los hidrocarburos debido a que éstos compuestos fotomodificados, son más solubles en el agua presentando una mayor biodisponibilidad para la lenteja de agua (Huang et al., 1993).

Con respecto al parámetro de pH de *L. minor*, Edema et al. (2007) reportaron en su estudio la presencia de amonio en la FAP. Las macrofitas liberan oxígeno lo que promueve el proceso de nitrificación que a su vez, liberan iones de hidrógeno. Los iones de hidrógeno son neutralizados por los iones de bicarbonato pero este proceso no se cumple con totalidad, obteniéndose mayor cantidad de los iones de hidrógeno que los de bicarbonato, produciéndose la disminución de pH (Lee y Scholz 2007, Sekomo et al. 2012).

En cuanto a la conductividad eléctrica si se observa resultados similares a Edema y Okoloko (2008), lo cual es un indicador de contaminación. Estos autores reportaron una alta concentración de iones en la FAP, debido a esto se produce la destrucción de la pared celular por KCl y NaCl ocasionando lixiviación de iones en el agua, lo que ocasiona estrés a la planta y por lo tanto aumenta la conductividad eléctrica al final del ensayo (Edema et al. 2007).

En cuanto a la pulga de agua *D. magna*, estos crustáceos muestran inhibición en la actividad natatoria frente a la FAP. La FAP fue tóxica para la pulga de agua observándose una afectación cerca del 100% de mortalidad y de inmovilización a las 48 h de exposición. El parámetro de inmovilización fue más sensible que mortalidad, esto es complementado por Blewett et al. (2018) quienes determinaron mayor toxicidad en el parámetro inmovilización de la pulga de agua expuesta a efluentes de la fractura hidráulica de hidrocarburos. Del mismo modo, los efectos negativos se puede atribuir a la presencia de HAP en la FAP provocando acumulación de éstos en la bicapa lipídica de la célula, especialmente el naftaleno presente en mayor proporción que son altamente tóxicos, aumentando ésta toxicidad si son expuestos a la luz llegando a bioacumularse en los organismos e incrementando la mortalidad y alteraciones subletales (Arfsten et al. 1996, Almeda et al. 2013, Almeda et al. 2014, Blinova et al. 2016, Ha et al. 2019).

La mortalidad de la pulga de agua está en función a la concentración de hidrocarburos totales de petróleo; mientras mayor sea la concentración de petróleo, mayor será el porcentaje de mortalidad. Estos resultados fueron similares a estudio de Hansen et al. (2011) y Ndimele (2011) quienes analizaron la toxicidad de la FAP en un crustáceo, demostrando que estos organismos son buenos bioindicadores para determinar la toxicidad del petróleo. Por otro lado, mientras pasan los periodos de exposición, más tóxicos son los valores de CL₅₀ y CE₅₀. La CL₅₀ obtenida a las 96 h de exposición fue de 6.22 mg/L resultado similar obtenido por Almeda et al. (2014) quienes evaluaron al zooplancton *Favella ehrenbergii* (Claparède and Lachmann 1858)

Jørgensen 1924 obteniendo una CL_{50} de 4.87 mg/L de HTP. En otro estudio realizado por Bobra et al. (1989) quienes evaluaron la fracción soluble de petróleo, preparada en la misma proporción de agua y petróleo que en el presente estudio y realizado con la misma condición de temperatura, obtuvo un valor de CL_{50} de 7 mg/L de TPH; efectos causados por HAP y alcanos de bajo peso molecular. Ekanem et al. (2011) atribuye la mortalidad de las pulgas de agua a la incapacidad de las branquias de realizar el intercambio gaseoso debido a la presencia de petróleo en éstas.

Por su parte, Montes (2008) realizó un ensayo con otro crustáceo *Emerita análoga* (Stimpson 1857) usando como tóxico la fracción acumulada de petróleo proveniente de un crudo pesado obtenido en Perú. En este estudio obtuvo una CL_{50} de 1.33 mg/L a las 96 h de exposición, siendo mayor que el obtenido en el presente estudio, a pesar que el crudo pesado es menos tóxico que el crudo ligero. Éste resultado se debería probablemente a que la especie *E. analoga* es más sensible que la *D. magna*. Asimismo, Alayo y Iannacone (2002) obtuvieron una CL_{50} de 0.05 mg/L a las 48 h de exposición analizando dos subespecies de *Brachionus plicatilis* (Müller 1786), siendo éstas especies más sensibles al petróleo que los crustáceos.

La temperatura no cambió significativamente durante el bioensayo con *D. magna*, manteniéndose por los 22°C. Debido a esto, se obtuvo resultados más sensibles ya que la FAP es más tóxica a los 20°C que a los 5°C (Bobra et al. 1989). Además, la concentración de oxígeno disuelto no cambió significativamente. La alta disponibilidad de oxígeno junto con la luz solar, incrementan la toxicidad de los HAP (Kagan et al. 1990, Arfsten et al. 1996).

En los ensayos realizados con los peces *D. rerio*, no se observó efecto letal ni subletal (inmovilización) en ninguna de las concentraciones analizadas probablemente debido a la volatilización de HTP de la FAP lo cual concuerda con Cleveland et al. (2000), quienes evaluaron la concentración de hidrocarburos en la FSP a las 24 h de exposición obteniendo 32 – 40% de reducción. Estos resultados son corroborados por Lari et al. (2015b), quienes también obtuvieron una reducción de 30% de TPH en su FSP cuya preparación está en la misma proporción de petróleo y agua realizada en el presente ensayo. Otro motivo de no ocurrir estos efectos letal y subletal se debe probablemente a que la FAP contiene una baja proporción de BTEX o se volatilizó para el final del ensayo, el cual en grandes cantidades afecta a los organismos (Neff et al. 2000, Vieira et al. 2010).

El uso del pez cebra en etapa juvenil no presenta una gran sensibilidad en cuanto al parámetro de mortalidad hacia ciertos contaminantes como el uso de éstos en etapa embrionaria. Éste resultado es confirmado por Philibert et al. (2016) quienes obtuvieron mortalidad en las larvas del pez cebra a partir de la concentración 80% de FAP; además, la mortalidad está relacionada con el tipo de crudo a ensayar no observándose mortalidad en el estudio de Holth et al. (2014) usando peces adultos y la FAP expuesta en una proporción mayor a la del presente estudio siendo la concentración 1:1 y la duración del ensayo de tres semanas. Asimismo, el pez cebra no presenta sensibilidad en cuanto al parámetro inmovilidad en etapa embrionaria o juvenil hacia la FAP (Wang et al. 2018).

Si bien la FAP no afecta al pez cebra en los parámetros mortalidad e inmovilización, éste organismo es un buen indicador basado en los efectos en el comportamiento observándose otros efectos subletales que afecta a partir de concentraciones muy bajas desde 5 ug/L, el cual alteran la actividad locomotora de los peces cebras en etapa larval (Wang et al. 2018). Un efecto subletal observado en el presente ensayo fue el parámetro escape hacia el fondo el cual a partir de la concentración 3.58 mg/L, se observaron efectos mayores al 50% comparado con el control. En efecto, la afectación de la FSP en el comportamiento de los peces es corroborado por Lari et al. (2015a) y Claireaux et al. (2018) quienes determinaron que el pez evita el contaminante a partir de la concentración 2 mg/L de FSP y 3 a 15 ug/L de HTP. La respuesta de escape hacia el fondo o hacia las esquinas inferiores del envase ocurre como un modo de escape del tóxico lo cual representa un comportamiento de ansiedad de los peces que ocasiona la búsqueda de un refugio (Philibert et al. 2016).

Así mismo, se observó efectos subletales para el pez cebra como hipoventilación en el cual la frecuencia respiratoria disminuyó con las concentraciones más altas mientras que en las concentraciones medias, se observa valores superiores al control. Lari et al. (2015b) quienes evaluaron el efecto subletal de la FSP en peces obtuvieron un aumento en la frecuencia respiratoria con el aumento de la concentración, esto se debe a que la FSP ocasiona disminución de oxígeno y aumento de dióxido de carbono en la sangre de los peces denominado como hipoxia. Adicionalmente en este estudio, determinaron una pérdida de la postura de manera horizontal lo cual

se observó un comportamiento similar en el presente estudio provocando el escape de los peces hacia el fondo del recipiente. Por otro lado, la disminución de la frecuencia respiratoria se puede atribuir al cambio en la tasa del metabolismo o a que el pez reduce el área de las branquias para evitar el paso del contaminante lo que resulta en la reducción de respiración e intercambio iónico (Gabriel et al. 2007, Leadley et al. 2015)

El parámetro de hipoactividad se usa para determinar la toxicidad de los contaminantes en los peces debido a que la locomoción se ve afectada por éstos (Yu et al. 2015). Comparando los resultados de éste parámetro con los estudio de Yu et al. (2015) y Lari et al. (2015b), se obtuvieron resultados similares aumentando el porcentaje de hipoactividad con el aumento de concentración del tóxico, esto es ocasionado por la toxicidad de la FAP y la disminución de oxígeno en el agua. Por otro lado, Gonçalves et al. (2008) aseveran la reducción 12 a 30% en la actividad natatoria de los peces causado por HAP. Esto es comprobado por Wang et al. (2018) el cual indica una disminución en la actividad natatoria de los peces cebras ya sea en etapa larval o juvenil causado por la toxicidad de los HAP presentes en la FAP.

Si bien en los parámetros hipoactividad e hipoventilación demuestran un efecto tóxico ante la FAP, a las 96 h de exposición se observa una ligera recuperación por lo que ésta respuesta se debería a que los peces tienden a depurar los HAP de su sistema con el paso del tiempo (Lee 1975, Djomo et al. 1996). Por otro lado, en los parámetros analizados se observan que los valores aumentan proporcionalmente y en algunos casos se determinó una afectación mayor en concentraciones medias. Ésta variación se debería a que la composición

química de la FAP y su toxicidad varía ligeramente por ciertos factores en el laboratorio como es el caso de la temperatura y la filtración del tóxico lo que se refleja en condiciones ambientales reales (Blinova et al. 2016).

La FAP mostró una toxicidad decreciente en los tres organismos siendo la lenteja de agua más sensible que la pulga de agua y el pez cebra es el menos sensible. Este resultado podría deberse a que el petróleo crudo ligero afecta a nivel celular modificando la permeabilidad de la membrana celular o interrumpiendo los procesos de metabolismo de la planta (Lopes et al 2009). Asimismo, la concentración de FAP contenía menos proporción de petróleo crudo y mayor cantidad de agua en comparación con los otros bioensayos en el cual Blinova et al. (2016) demuestra que mientras mayor es la concentración de petróleo crudo, menos es la eficiencia de extracción de los componentes solubles, como los hidrocarburos, al realizar las diluciones por lo que se observa menor toxicidad. Igualmente, la lenteja de agua es un bioindicador muy sensible a los contaminantes; esto es aseverado por Cleuvers (2003) el cual determina que la lenteja de agua fue la más sensible ante diversos farmacéuticos, que la pulga de agua y la microalga *Desmodesmus subspicatus*. En el presente estudio, la lenteja de agua presentó 2 parámetros afectados por la FAP. Comparando estos resultados con los otros organismos evaluados, se observa que la lenteja de agua presenta un valor de NOEC y LOEC menores que en la pulga de agua y el pez cebra, indicando una mayor toxicidad para el ambiente (Saouter et al. 2017).

Por otro lado, los datos obtenidos en la pulga de agua de CL₅₀ – 96 h, NOEC y LOEC fueron más sensibles en comparación con el pez cebra esto se debe a

que los organismos translúcidos como la pulga y la subclase copepoda, son más vulnerables a la toxicidad ocasionado por HAP y su intensificación con radiación UV (Duesterloh et al. 2002). Asimismo, se obtuvo hasta el 100% de inmovilización y mortalidad, este resultado podría indicar que la pulga es un buen bioindicador ante la FAP. Blinova et al. (2016) en su estudio el cual evalúa la toxicidad de la FAP en varios organismos acuáticos obtiene que la pulga de agua fue más sensible con una CE_{50} de 2.5 mg/L de.

De los parámetros analizados en los tres bioensayos, se obtuvo un coeficiente de riesgo mayor a uno por lo que se determinó que la FAP causa riesgo al ambiente. Estos resultados se realizaron en tres organismos representativos de la cadena trófica por separados, por lo que se podría producir una mayor toxicidad de FAP en el ambiente acuático natural cuando se produzca la interacción con éstas especies y con factores ambientales como pH, luz y temperatura (Wernersson 2004). Las condiciones ambientales del ecosistema acuático aumentan la toxicidad de la FAP provocando un mayor impacto en los organismos acuáticos siendo aseverado por Huang et al. (1993) quienes demuestran que la luz UV aumenta la toxicidad de los HAP cuando realizó bioensayos con la lenteja de agua. De igual manera Blinova et al. (2016) demuestra que el contenido de HTP en la FAP es mayor cuando utiliza agua natural proveniente de un lago que agua reconstruida. En cuanto a los organismos, según el estudio de Berrojalbiz et al. (2009) aseveran que el zooplancton expuesto al petróleo presenta una bioacumulación de este tóxico; asimismo, el fitoplancton presenta un factor de bioacumulación mayor comparado con el zooplancton debido a que éste último lo depura mediante su

metabolismo o por su alta tasa de depuración. Esto indicaría que en el ambiente acuático, probablemente el zooplancton estaría expuesto a una mayor concentración de TPH debido a que podría obtenerlo mediante el fitoplancton contaminado con petróleo y directo de la FAP (Corner et al. 1976). A pesar que el zooplancton y los peces tienden a depurar los HAP en pequeñas concentraciones; éste no lo depura completamente, quedando una parte de éste tóxico almacenado en sus tejidos y el tóxico depurado regresa al ambiente (Lee 1975, Berrojalbiz et al. 2009, Almeda et al. 2013) por lo que el riesgo ambiental de la FAP sería mayor en el medio acuático.

Según la guía de evaluación de riesgo ambiental del MINAM (2010), se identificaron los peligros de petróleo a nivel humano, natural y socioeconómico. Los peligros de nivel antrópico identificados para los 3 niveles son la ruptura de los oleoductos ya se por falta de mantenimiento de éstos, actos delictivos de la misma población; desborde de tanques y de sitios de remediación (Campanario y Doyle 2017). Los peligros de tipo natural son provocados por movimientos sísmicos e inundaciones causadas por las altas precipitaciones durante todo el año lo que ocasiona rebalse de agua contaminada de los diques de contención (Fraser 2017, SENAHMI s.f.). La consecuencia identificada a nivel humano es la afectación a la salud de la población por los componentes de petróleo (Ruiz y Meza 2019). En cuanto a nivel natural, las consecuencias identificadas son la afectación de los servicios ecosistémicos, migración y muerte de la fauna acuática, contaminación de los cuerpos de agua, aire y suelos (Ruiz y Meza 2019). A nivel socioeconómico, los efectos son afectación en la actividad pesquera, ganadería, caza, recolección, agropecuaria y recreativas e

inaccesibilidad al uso de agua para consumo humano (OSINERGMIN 2009, Instituto Chaikuni 2018, Ruiz y meza 2019).

La probabilidad estimada de emisiones de hidrocarburos a cuerpos de agua para los 3 niveles fue considerada altamente probable, mientras que la probabilidad para movimientos sísmicos e inundaciones fue poco probable y probable respectivamente. El riesgo fue estimado en base a una fórmula en el cual la cantidad aproximada de derrame de petróleo fue de 1114.36 Tn (Instituto Chaikuni 2018) lo que representa un valor alto. La peligrosidad fue considerada como muy tóxica y la extensión fue muy extensa considerando un radio de extensión mayor a 1 Km, mientras que la vulnerabilidad fue calificada con el valor más alto para los 3 niveles obteniéndose una gravedad crítica y un riesgo ambiental significativo. Asimismo, el riesgo estimado para los eventos naturales de movimientos sísmicos e inundaciones fue riesgo leve y moderado respectivamente. La caracterización del riesgo final basado en la media de los tres entornos fue de 50% lo que representa un riesgo moderado.

Si bien el riesgo ambiental acuático cualitativo obtenido fue moderado, en el presente estudio se obtuvo una toxicidad muy alta con valores desde <0.4 mg/L por lo que se deben crear manuales cuantitativos nacionales del MINAM para obtener valores de toxicidad con los cuales se pueda comparar los Estándares de Calidad Ambiental. Igualmente; en el presente ensayo se observó toxicidad por los HAP, en especial por el naftaleno y BTEX (Neff et al. 2000, Almeda et al. 2013), por lo que se debe evaluar los ECA de agua debido a que éstos no incluyen estos compuestos a excepción del benceno.

CONCLUSIONES

El presente ensayo indica que los 3 organismos evaluados: *L. minor*, *D. magna* y *D. rerio*, muestran vulnerabilidad diferenciada ante la fracción acumulada de petróleo evidenciándose en los efectos letales y subletales. El parámetro evaluado en la lenteja de agua fue NOEC con un valor de 0.40 y 3.22 mg/L para la clorosis y peso seco respectivamente. La CL₅₀ y CE₅₀ a las 48 h de exposición obtenida para la pulga fue 6.44 y 2.74 mg/L. Por último, se obtuvo NOEC del ensayo con el pez cebra de 14.28, 3.58 y 7.15 mg/L para el parámetro de hipoactividad, escape hacia el fondo e hipoventilación.

Los hidrocarburos totales de petróleo de la fracción soluble de petróleo son altamente tóxicos para el ambiente reflejándose en los resultados de la evaluación de riesgo ambiental acuático, el cual el cociente de riesgo mayor a uno siendo el valor más tóxico el LOEC de la lenteja de agua con un valor de 0.4 mg/L. Por otro lado, el coeficiente de riesgo ambiental final basado en los tres entornos (natural, humano y socioeconómico) fue moderado.

Si bien los tres organismos evaluados fueron sensible ante el tóxico, se determinó un orden de ecotoxicidad decreciente tomando como indicador LOEC: *L. minor* (<0.40 mg/L – Clorosis 168 h) > *D. magna* (1.61 mg/L – inmovilidad 48 h) > *D. rerio* (<3.58 mg/L – escape hacia el fondo 96 h).

RECOMENDACIONES

Se recomienda evaluar de manera experimental la afectación de parámetros ambientales como pH, temperatura, conductividad eléctrica, turbidez del agua y radiación UV debido a que los componentes de la FAP; principalmente los HAP; tienden a aumentar la toxicidad cuando son expuestos a las condiciones ambientales (Wesnersson 2004). Bobra et al. (1989) obtiene mayor toxicidad de la FAP a 20°C que a 5°C. La temperatura en la selva alcanzan los 27°C (SENAHMI s.f.) por lo que la toxicidad del petróleo podría ser mayor en estas zonas. Asimismo, se recomienda evaluar un ensayo de toxicidad con especies nativas de Perú debido a que estas especies nativas de un lugar pueden ser más sensibles (Echols et al. 2016). De igual forma; se recomienda evaluar a través de ensayos mesocosmos, en el cual simula las condiciones reales de entornos naturales acuáticos lóticos o lénticos, para evaluar los efectos directos e indirectos del petróleo en los diferentes niveles de la organización (Caquet et al. 2000).

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al concurso “Fondos Internos” del departamento Dirección General de Investigación – Universidad Científica del Sur. Asimismo, a la compañía Repsol por la donación de petróleo crudo.

Los autores que aparecen en este artículo declaran que no existe ningún potencial conflicto de intereses.

REFERENCIAS

- Abbriano R., Carranza M., Hogle S., Levin R., Netburn A., Seto K., Snyder S., SIO280 y Franks P. (2011). Deepwater Horizon oil spill: A review of the planktonic response. *Oceanography* 24(3), 294–301. DOI: 10.5670/oceanog.2011.80
- Alayo M. y Iannacone J. (2002). Ensayos ecotoxicológicos con petróleo crudo, diesel 2 y diesel 6 con dos subespecies de *Brachionus plicatilis* Müller 1786 (Rotifera: Monogononta). *Gayana (Concepc.)*. 66 (1), 45-58. DOI: 10.4067/S0717-65382002000100007
- Albers P. H. (2003). Petroleum and individual polycyclic aromatic hydrocarbons. En: *Handbook of Ecotoxicology* (2^{da} ed.). (D. J. Hoffman et al., Ed.). CRC Press, Washington D. C., USA, pp. 342-371.
- Almeda R., Wambaugh Z., Wang Z., Hyatt C., Liu Z. y Buskey E. J. (2013). Interactions between zooplankton and crude oil: toxic effects and bioaccumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Plos One* 8 (6), 1-21. DOI: 10.1371/journal.pone.0067212
- Almeda R., Hyatt C. y Buskey E. J. (2014). Toxicity of dispersant Corexit 9500^a and crude oil to marine microzooplankton. *Ecotox. Environ. Safe.* 106, 76-85. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2014.04.028
- Anderson J. W., Neff J. M., Cox B. A., Tatem H. E. y Hightower G. M. (1974). Characteristics of dispersions and water-soluble extracts of crude and refined oils and their toxicity to estuarine crustaceans and fish. *Mar. Biol.* 27 (1), 75-88. DOI: 10.1007/BF00394763

- Arfsten D. P., Schaeffer D. J. y Mulveny D. C. (1996). The effects of near ultraviolet radiation on the toxic effects of polycyclic aromatic hydrocarbons in animals and plants: A review. *Ecotox. Environ. Safe.* 33 (1), 1-24. DOI: 10.1006/eesa.1996.0001
- Arndt D. A., Chen J., Moua M. y Klaper R. D. (2014). Multigeneration impacts on *Daphnia magna* of carbon nanomaterials with differing core structures and functionalizations. *Environ. Toxicol. Chem.* 33 (3), 541-547. DOI: 10.1002/etc.2439
- Arroyave M. D. P. (2004). La lenteja de agua (*Lemna minor* L.): una planta acuática promisoría. *Rev. EIA.* (1), 33-38.
- Avila T. R., Bersano J. G. F. y Fillmann G. (2010). Lethal and sub-lethal effects of the water-soluble fraction of a light crude oil on the planktonic copepod *Acartia tonsa*. *J. Braz. Soc. Ecotoxicol.* 5 (1), 19-25. DOI: 10.5132/jbse.2010.01.004
- Baird R. y Bridgewater L. (2017). Standard methods for the examination of water and wastewater. 23a ed. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation. Washington, EUA, 1544 pp.
- Becerra S., Paichard E., Sturma A., y Maurice L. (2013). Vivir con la contaminación petrolera en el Ecuador: Percepciones sociales del riesgo sanitario y capacidad de respuesta. *Revista LIDER.* 23 (1), 102-120.
- Berrojalbiz N, Lacorte S., Calbet A., Saiz E., Barata C. y Dachs J. (2009). Accumulation and cycling of polycyclic aromatic hydrocarbons in

zooplankton. Environ. Sci. Technol. 43 (7), 2295-2301. DOI: 10.1021/es8018226

Blewett T. A., Delompré P. L. M., Glover C. N. y Goss G. G. (2018). Physical immobility as a sensitive indicator of hydraulic fracturing fluid toxicity towards *Daphnia magna*. Sci. Total Environ. 635, 639-643. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.04.165

Blinova I., Kanarbik L., Sihtmäe M. y Kahru A. (2016). Toxicity of water accommodated fractions of Estonian Shale fuel oils to aquatic organisms. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 70 (2), 383-391. DOI: 10.1007/s00244-015-0242-8

Bobra A. M., Shiu W. Y., Mackay D. y Goodman R. H. (1989). Acute toxicity of dispersed fresh and weathered crude oil and dispersants to *Daphnia magna*. Chemosphere 19 (8-9), 1199-1222. DOI: 10.1016/0045-6535(89)90068-4

Bonucci C., Viera R., Romano L. A., Pereira E., Hartwig B., Sampaio L. A. y Campos K. (2014). Genotoxicity and histological alterations in grey mullet *Mugil liza* exposed to petroleum water-soluble fraction (PWSF). Environ. Sci. Pollut. Res. 21 (8), 5565–5574. DOI: 10.1007/s11356-013-2440-0

Bravo E. (2007). Los impactos de la explotación petrolera en ecosistemas tropicales y la biodiversidad. [en línea]. https://www.inredh.org/archivos/documentos_ambiental/impactos_explotacion_petrolera_esp.pdf 18/11/2016

- Brugman S. (2016). The zebrafish as a model to study intestinal inflammation. *Dev. Comp. Immunol.* 64, 82-92. DOI: 10.1016/j.dci.2016.02.020
- Campanario Y. y Doyle C. (2017). El daño no se olvida - Impactos socioambientales en los pueblos indígenas de la Amazonía Norperuana afectados por las operaciones de la empresa Pluspetrol. Tarea Asociación Gráfica Educativa. Lima, Perú, 225 pp.
- Caquet T., Lagadic L. y Sheffield S. (2000). Mesocosms in Ecotoxicology (1): Outdoor Aquatic Systems. En: *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. (G. Ware, Ed.). Springer, Nueva York, EUA, pp. 1-38. DOI: 10.1007/978-1-4612-1172-3_1
- Claireaux G., Quéau P, Marras S., Le Floch s., Farrell A. P., Nicolas-Kopec A., Lemaire P. y Domenici P. (2018). Avoidance threshold to oil water-soluble fraction by a juvenile marine teleost Fish. *Environ. Toxicol. Chem.* 37 (3), 854-859. DOI: 10.1002/etc.4019
- Cleuvers M. (2003). Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects. *Toxicol. Lett.* 142 (3), 185 – 194. DOI: 10.1016/S0378-4274(03)00068-7
- Cleveland L., Little E. E., Calfee R. D. y Barron M. G. (2000). Photoenhanced toxicity of weathered oil to *Mysidopsis bahía*. *Aquat. Toxicol.* 49 (1-2), 63-76. DOI: 10.1016/S0166-445X(99)00071-5
- Corner E. D. S., Harris R. P., Kilvington C. C. y O'Hara S. C. M. (1976). Petroleum compounds in the marine food web: short-term experiments on

the fate of naphthalene in *Calanus*. J. Mar. Biol. Ass. U.K. 56 (1), 121-133.

DOI: 10.1017/S0025315400020488

Djomo J. E., Garrigues P. y Narbonne J. F. (1996). Uptake and depuration of polycyclic aromatic hydrocarbons from sediment by the zebrafish (*Brachydanio Rerio*). Environ. Toxicol. Chem. 15 (7), 1177-1181. DOI: 10.1002/etc.5620150724

Duesterloh S., Short J. W. y Barron M. G. (2002). Photoenhanced toxicity of weathered Alaska North slope crude oil to the calanoid copepods *Calanus marshallae* and *Metridia okhotensis*. Environ. Sci. Technol. 36 (18), 3853-3959. DOI: 10.1021/es020685y

Echols B., Smith A., Gardinali P. y Rand G. (2016). The use of ephyrae of a scyphozoan jellyfish, *Aurelia aurita*, in the aquatic toxicological assessment of Macondo oils from the Deepwater Horizon incident. Chemosphere 144 (1), 1893-1900. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2015.10.082

Edema N. E., Okoloko E. G. y Agbogidi O. M. (2007). Physico-chemical characteristics of the water-soluble fraction of Ogini well-head crude oil and the effects on *Pristia stratiotes* Linn (Water lettuces). Am. Eurasian. J. Agric. Environ. Sci. 2 (6), 633-638.

Edema N. E., Okoloko E. G. y Agbogidi O. M. (2008). Physical and ionic characteristics in water soluble fraction (WSF) of Olomoro well-head crude oil before and after exposure to *Azolla africana* Desv. Afr. J. Biotechnol. 7 (1), 35-40.

- Edema N. E. y Okoloko E. G. (2008). Composition of the water soluble fraction (WSF) of Amukpe well-head crude oil before and after exposure to *Pristia striatotes* L. Res. J. App. Sci. 3 (2), 143-146.
- Ekanem A. P., Asuquo F. E. y Ndick E. J. (2011). Toxicity of crude oil to fresh water shrimp, *Macrobrachium macrobrachion* and *Macrobrachium vollehovenii* from Nigerian coastal water. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 86 (4), 394-397. DOI: 10.1007/s00128-011-0229-8
- Eshagberi G. O. (2017). Toxic effects of water soluble fractions of crude oil, diesel and gasoline on *Ceratophyllum Demersum*. International Journal of Health and Medicina 2 (2), 6-9. DOI: 10.24178/ijhm.2017.2.2.06
- Feijoo C. D. (2012). Procesamiento de la mezcla crudo y medium distillate for blending stock (MDBS) para aumentar la producción de destilados medios Tesis de licenciatura. Facultad de ingeniería de petróleo y petroquímica. Universidad Nacional de Ingeniería. Lima, Perú, 114 pp.
- Fekete-Kertész I., Kunglné-Nagy Z., Gruiz K., Magyar A., Farkas E. y Molnár M. (2015). Assessing toxicity of organic aquatic micropollutants based on the total chlorophyll content of *Lemna minor* as a sensitive endpoint. Period. Polytech. Chem. Eng. 59 (4), 262-271. DOI: 10.3311/PPch.8077
- Finney D. (1952). Probit analysis (2nd ED), Journal of the institute of actuaries, 78 (3): 388 – 390.
- Fraser B. (2017). Derrames de petróleo en la Amazonía peruana: una herida que sigue abierta [en línea]. <https://es.mongabay.com/2017/07/derrames-petroleo-la-amazonia-peruana-una-herida-sigue-abierta/> 28/07/2020

- Gabriel U., Amakiriand E. y Ezeri G. (2007). Haematology and gills pathology of *Clarias Gariepinus* exposed to refined petroleum oil, kerosene under laboratory conditions. *J. anim. Vet. Adv.* 6 (3), 461-465.
- Gonçalves R., Scholze M., Ferreira A. M., Martins M. y Correia A. D. (2008). The joint effect of polycyclic aromatic hydrocarbons on fish behavior. *Environ. Res.* 108 (2), 205-213. DOI: 10.1016/j.envres.2008.07.008
- Ha H., Park K., Kang G. y Lee S. (2019). QSAR study using acute toxicity of *Daphnia magna* and *Hyaella azteca* through exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Ecotoxicology* 28 (3), 333-342. DOI: 10.1007/s10646-019-02025-1
- Hallmann C. A., Foppen R. P. B., Van Turnhout C. A. M., De Kroon H. y Jongejans E. (2014). Declines in insectivorous birds are associated with high neonicotioid concentrations. *Nature* 511, 341-343. DOI: 10.1038/nature13531
- Hansen B. H., Altin D., Rørvik S. F., Øverjordet I. B., Olsen A. J. y Nordtug T. (2011). Comparative study on acute effects of water accommodated fractions of an artificially weathered crude oil on *Calanus finmarchicus* and *Calanus glacialis* (Crustacea: Copepoda). *Sci. Total Environ.* 409 (4), 704-709. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2010.10.035
- Hernández J. A., Olmos E., Corpas F. J., Sevilla F. y Del Río L. A. (1995). Salt-induced oxidative stress in chloroplasts of pea plants. *Plant sci.* 105 (2), 151-157. DOI: 10.1016/0168-9452(94)04047-8

- Holth T. F., Eidsvoll D. P., Farmen E., Sanders M. B., Martínez-Gomez C., Budzinski H., Burgeot T., Guilherminog L. y Hylland K. (2014). Effects of water accommodated fractions of crude oils and diesel on a suite of biomarkers in Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Aquat. Toxicol.* 154, 240-252. DOI: 10.1016/j.aquatox.2014.05.013
- Hsu C. S. y Robinson P. R. (2019). Chemical Composition. En: *Petroleum science and technology*. (C. S. Hsu y P. R. Robinson, Ed.). Springer, Cham, Suiza, pp. 39-56. DOI: 10.1007/978-3-030-16275-7
- Huang X. D., Dixon D. G. y Greenberg B. M. (1993). Impacts of uv radiation and photomodification on the toxicity of pahs to the higher plant *Lemna gibba* (duckweed). *Environ. Toxicol. Chem.* 12 (6), 1067-1077. DOI: 10.1002/etc.5620120613
- Iannacone J. y Alvariño L. (2009). Evaluación del riesgo acuático de siete productos farmacéuticos sobre *Daphnia magna*. *Ecol. Apl.* 8 (1-2), 71-80.
- Iannacone J., Alvariño-Flores L., Paredes-Espinal C. y Ayala-Oroya H. (2012). Toxicidad aguda y crónica de la quinoleína fenólica sobre la pulga del agua *Daphnia magna*. *Biologist (Lima)* 10 (1), 24-33.
- Instituto Chaikuni. (2018). La serpiente negra de la amazonía peruana: el oleoducto norperuano. [en línea]. <https://chaikuni.org/es/2018/10/31/the-black-snake-of-perus-amazon-the-north-peruvian-pipeline/> 29/07/2020
- Jiang Z., Huang Y., Chen Q., Zeng J. y Xu X. (2012). Acute toxicity of crude oil water accommodated fraction on marine copepods: The relative importance

of acclimatization temperature and body size. Mar. Environ. Res. 81, 12-17.

DOI: 10.1016/j.marenvres.2012.08.003

Kagan J., Wang T. P., Benight A. S., Tuveson R. W., Wang G. y Fu P. P. (1990). The phototoxicity of nitro polycyclic aromatic hydrocarbons of environmental importance. Chemosphere 20 (5), 453-466. DOI: 10.1016/0045-6535(90)90103-Z

Karam Q., Beg M. U., Al-Khabbaz A., Al-Ballam Z., Dakour S. y Al- Abdul K. (2014). Effect of water-accommodated fraction of Kuwait crude oil on developmental stages of orange-spotted grouper hamoor (*Epinephelus coicoides*). Int'l Journal of Advances in Agricultural & Environmental Engg. 1 (1), 05-112. DOI: 10.15242/ijccie.c0114110

Kern D. I., De Oliveira Schwaickhardt R., Lutterbeck C. A., Kist L. T., Lobo E. A. y Machado E.L. (2015). Ecotoxicological and genotoxic assessment of hospital laundry wastewaters. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 68 (1), 64-73. DOI: 10.1007/s00244-014-0072-0

Lari E., Abtahi B., Seyed M., Mohaddes E. y Doving K. D. (2015a). The effect of sublethal concentrations of the water-soluble fraction of crude oil on the chemosensory function of Caspian roach, *Rutilus caspicus* (YAKOVLEV, 1870). Environ. Toxicol. Chem. 34 (8), 1826-1832. DOI: 10.1002/etc.2994

Lari E., Abtahi B. y Hashtroudi M. S. (2015b). The effect of the water soluble fraction of crude oil on survival, physiology and behaviour of Caspian roach, *Rutilus caspicus* (Yakovlev, 1870). Aquat. Toxicol. 170, 330-334. DOI: 10.1016/j.aquatox.2015.09.003

- Leadley T., McLeod A., Johnson T., Heath T. y Drouillard K. (20015).
Uncovering adaptive versus acclimatized alterations in standard metabolic rate in Brown Bullhead (*Ameiurus nebulosus*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 73 (6), 973-981. DOI: 10.1139/cjfas-2015-0375
- Lee R. F. (1975). Fate of petroleum hydrocarbons in marine zooplankton. *IOSC Proceedings.* 1975 (1), 549-553. DOI: 10.7901/2169-3358-1975-1-549
- Lee B. y Scholz M. (2007). What is the role of *Phragmites australis* in experimental constructed wetland filters treating urban runoff?. *Ecol. Eng.* 29 (1), 87 – 95. DOI: 10.1016/j.ecoleng.2006.08.001
- Lopes A., Da Rosa-Osman S. y Fernandez M. (2009). Effects of crude oil on survival, morphology, and anatomy of two aquatic macrophytes from the Amazon floodplains. *Hidrobiología* 636 (1), 295 – 305. DOI: 10.1007/s10750-009-9959-6
- Martínez-Jerónimo F., Villaseñor R., Ríos G. y Espinosa-Chavez F. (2005). Toxicity of the crude oil water-soluble fraction and kaolin-adsorbed crude Oil on *Daphnia magna* (Crustacea: Anomopoda). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 48 (4), 444-449. DOI: 10.1007/s00244-003-0220-4
- McAuliffe C. D., Stellman B. L., Leek W. D., Fitzgerald D. E., Ray J. P. y Barker C. D. (1981). The 1979 southern california dispersant treated research oil spills. *IOSC Proceedings.* 1981 (1), 269-282. DOI: 10.7901/2169-3358-1981-1-269
- MINAM. (2010). Guía de evaluación de riesgos ambientales. Ministerio del Ambiente. Guía, Lima, Perú, 119 pp.

MINAM. (2017). Aprueban estándares de calidad ambiental (ECA) para agua y establecen disposiciones complementarias. Ministerio del Ambiente. Diario Oficial El Peruano. 7 de junio de 2017.

Miner B. E., Meester L. D., Pfrender M. E., Lampert W. y Harrison Jr N. G. (2012). Linking genes to communities and ecosystems: *Daphnia* as an ecogenomic model. Proc. R. Soc. B. 279, 1873–1882. DOI: 10.1098/rspb.2011.2404

Montes R. (2008). Efecto ecotoxicológico del petróleo crudo sobre el primer estadio de *Emerita analoga* Stimpson, 1857 (Decápoda: Anomura). Biologist (Lima) 6 (2), 101-111.

Ndimele P. E. (2011). Acute toxicity of Nigerian crude oil (Bonny Light) to *Desmocariss trispinosa* (Crustacea, Palaemonidae). AACL. Bioflux. 4 (5), 606-610.

Neff J. M., Ostazeski S., Gardiner W. y Stejskal I. (2000). Effects of weathering on the toxicity of three offshore australian crude oils and a diesel fuel to marine animals. Environ. Toxicol. Chem. 19 (7), 1809–1821. DOI: 10.1002/etc.5620190715

OCDE (2004). Guideline for testing of Chemicals. Test No. 202: *Daphnia* sp. Acute Immobilisation Test. Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos. Guía, Paris, Francia, 12 pp. DOI: 10.1787/9789264069947-en

OCDE (2006). Guideline for testing of Chemicals. Test No. 221: *Lemna* sp. Growth Inhibition Test. Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos. Guía, Paris, Francia, 22 pp. DOI: 10.1787/9789264016194-en

OCDE (2011). Manual for the Assessment of Chemicals. Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos [en línea]. <http://www.oecd.org/chemicalsafety/risk-assessment/49188998.pdf>

21/08/2019

OCDE (2018). Guideline for testing of Chemicals. Test No. 203: Fish, Acute Toxicity Test. Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos. Guía, Paris, Francia, 18 pp.

Omar-Ali A., Hohn C., Allen P. J., Rodriguez J. y Petrie-Hanson L. (2015). Tissue PAH, blood cell and tissue changes following exposure to water accommodated fractions of crude oil in alligator gar, *Atractosteus spatula*. Mar. Environ. Res. 108, 33-44. DOI: 10.1016/j.marenvres.2015.04.011

OSINERGMIN (2009). Eliminación del mayor impacto ambiental de los campos petroleros. Organismo Supervisor de la Inversión en Energía y Minería. Informe técnico. Lima, Perú, 173 pp.

Tamayo J., Salvador J., Vásquez A. y De la Cruz R. (2015). La industria de los hidrocarburos líquidos en el Perú: 20 años de aporte al desarrollo del país. Organismo Supervisor de la Inversión en Energía y Minería. Lima, Perú, 119 pp.

- Parmar T., Rawtani D. y Agrawal Y. (2016). Bioindicators: the natural indicator of environmental pollution. *Front. Life. Sci.* 9 (2), 110 – 118. DOI: 10.1080/21553769.2016.1162753
- Pérez S., Rial D. y Beiras R. (2015). Acute toxicity of selected organic pollutants to saltwater (mysid *Siriella armata*) and freshwater (cladoceran *Daphnia magna*) ecotoxicological models. *Ecotoxicology* 24 (6), 1229-1238. DOI: 10.1007/s10646-015-1489-6
- Philibert D. A., Philibert C. P., Lewis C., Tierney K.B. (2016). Comparison of diluted bitumen (Dilbit) and conventional crude oil toxicity to developing zebrafish. *Environ. Sci. Technol.* 50 (11), 6091-6098. DOI: 10.1021/acs.est.6b00949
- Püntener W. (1981). *Manual for field trials in plant protection*. 2ª ed. Ciba-Geigy, Basilea, Suiza, 205 pp.
- Quintero A. Y. (2017). *Evaluación ecotoxicológica de la carbamazepina y los nonilfenoles en agua*. Tesis de maestría. Instituto de ingeniería, Universidad Nacional Autónoma de México. México DF, México, 139 pp.
- Ruiz J. C. y Meza R. (2019). Derrames de petróleo: contaminación del agua y salud humana. En: *La gestión de la calidad del agua en el Perú sextas jornadas de derecho de aguas* (A. Guevara, W. Obando y F. Segura, Ed.). Tarea Asociación Gráfica Educativa, Lima, Perú, pp. 171 – 188.
- Saouter E., Aschberger K., Fantke P., Hauschild M., Bopp S., Kienzler A., Paini A., Secchi M. y Sala S. (2017). Improving substance information in USEtox®, part 1: Discussion on data and approaches for estimating

freshwater ecotoxicity effect factors. *Environ. Toxicol. Chem.* 36 (12), 3450 – 3462. DOI: 10.1002/etc.3889

SCT. (2004). Medidas de mitigación para uso de suelos contaminados por derrames de hidrocarburos en infraestructura de transporte terrestre. Secretaría de comunicaciones y transportes instituto mexicano del transporte. Publicación técnica, México DF, México, 83 pp.

SENAHMI (s.f). Mapa Climático del Perú. (Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú) [en línea].
<https://www.senamhi.gob.pe/main.php?dp=amazonas&p=mapa-climatico-del-peru#:~:text=Humedad%3A-.Muy%20H%C3%BAmedo,julio%20los%20meses%20m%C3%A1s%20secos.> 28/07/2020

Speight J. G. (2014). The chemistry and technology of petroleum. 5^a ed. CRC Press, Florida, EUA, 953 pp. DOI: 10.1201/b16559

Salaberria L., Brakstad O. G., Olsen A. J., Nordtug T. y Hansen B. H. (2014). Endocrine and AhR-CYP1A pathway responses to the water-soluble fraction of oil in zebrafish (*Danio rerio* Hamilton). *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A* 77 (9-11), 506-515. DOI: 10.1080/15287394.2014.886983

Sekomo C., Rousseau D. Saleh S. y Lens P. (2012). Heavy metal removal in duckweed and algae ponds as a polishing step for textile wastewater treatment. *Ecol. Eng.* 44 (1), 102 – 110. DOI: 10.1016/j.ecoleng.2012.03.003

- Silva A., Santos L. H., Antão C., Delerue-Matos C. y Figueiredo S. A. (2017). Ecotoxicological evaluation of chemical indicator substances present as micropollutants in laboratory wastewaters. *Glob. Nest J.* 19 (1), 94-99. DOI: 10.30955/gnj.002051
- UBA (2006). Fish embryo toxicity assays. German federal environment agency. Guía. Dessau, Alemana, 298 pp.
- Ubong G., Sunday U. y Nseabasi E. (2014). Acute toxic effect of Qua Iboe light crude oil on the gills of *Clarias gariepinus* juveniles. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 2 (2), 16-30.
- Vieira R., Campos K., Pereira E., Bonucci C., Romano L y Sampaio L. (2010). Deleterious effects of water-soluble fraction of petroleum, diesel and gasoline on marine pejerrey *Odontesthes argentinensis* larvae. *Sci. Total Environ.* 408 (9), 2054-2059. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2010.01.063
- Wang Y., Shen C., Wang C., Zhou Y., Gao D. y Zuo Z. (2018). Maternal and embryonic exposure to the water soluble fraction of crude oil or lead induces behavioral abnormalities in zebrafish *Danio rerio*, and the mechanisms involved. *Chemosphere* 191 (1), 7-16. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2017.09.096
- Wauquier J. P. (2004). El refinado del petróleo: petróleo crudo, productos petrolíferos, esquemas de fabricación. Ediciones Díaz de Santos, Madrid, España, 453 pp.

- Wernersson A. (2004). Aquatic ecotoxicity due to oil pollution in the Ecuadorian Amazon. *Aquat. Ecosyst. Health Manag.* 7 (1), 127-136. DOI: 10.1080/14634980490281470
- Wilson K. y Ralph P. (2008). A comparison of the effects of Tapis crude oil and dispersed crude oil on subtidal *Zostera capricorni*. *IOSC Proceedings*. 2008 (1), 859-864. DOI: 10.7901/2169-3358-2008-1-859
- Yang S., Ye R., Han B., Wei C. y Yang X. (2014). Ecotoxicological effect of nano-silicon dioxide particles on *Daphnia magna*. *Integr. Ferroelectr.* 154 (1), 64-72. DOI: 10.1080/10584587.2014.904143
- Yu X., Xu C., Liu H., Xing B, Chen L y Zhang G. (2015). Effects of crude oil and dispersed crude oil on the critical swimming speed of puffer fish, *Takifugu rubripes*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 94 (5), 549-553. DOI: 10.1007/s00128-015-1507-7
- Zhang B., Li X., Chen D. y Wang J. (2013). Effects of 1-octyl-3-ethylimidazolium bromide on the antioxidant system of *Lemna minor*. *Protoplasma* 250 (1), 103-110. DOI: 10.1007/s00709-012-0379-5

Cuadro I. Efectos subletales evaluados (número total de frondas, porcentaje de clorosis, peso seco, peso húmedo, ruptura de colonias y formación de hojas nuevas) en el bioensayo con *Lemna minor* expuestos a la fracción acumulada de petróleo crudo expresado en concentraciones de mg/L a las 168 h.

Concentración (mg/L)	N° total de frondas 168 h		% clorosis 168 h		Peso seco (mg) 168 h		Peso húmedo (mg) 168 h		Ruptura de colonias 168 h		Formación de hojas nuevas 168 h	
	Valor (± D.E.)	Sig.	Valor (± D.E.)	Sig.	Valor (± D.E.)	Sig.	Valor (± D.E.)	Sig.	Valor (± D.E.)	Sig.	Valor (± D.E.)	Sig.
0	233.00 ± 4.35	a	0.00 ± 8.97	a	16.2 ± 0.48	b	223.2 ± 14.13	a	16.00 ± 0.82	a	77.00 ± 4.35	a
0.40	245.00 ± 3.20	a	28.54 ± 1.65	b	15.5 ± 0.31	ab	239.5 ± 14.79	a	18.00 ± 1.29	a	82.00 ± 3.11	a
0.80	252.00 ± 2.00	a	22.18 ± 21.98	c	16.9 ± 0.26	b	184.6 ± 16.65	a	22.00 ± 2.65	a	96.00 ± 2.00	a
1.61	240.00 ± 2.16	a	30.31 ± 26.53	d	17.1 ± 0.22	b	251.4 ± 27.29	a	22.00 ± 2.08	a	84.0 ± 2.16	a
3.22	243.00 ± 2.63	a	13.61 ± 30.13	cd	15.2 ± 0.36	ab	149.7 ± 12.32	a	19.00 ± 1.89	a	87.00 ± 2.63	a
6.44	231.00 ± 4.50	a	15.11 ± 28.64	b	11.8 ± 0.84	a	122.5 ± 15.35	a	8.00 ± 1.83	a	75.00 ± 4.50	a
NOEC	6.44		<0.40		3.22		6.44		6.44		6.44	
LOEC	>6.44		0.40		6.44		>6.44		>6.44		>6.44	
CE(L) ₅₀	ND		ND		ND		ND		ND		ND	
LCL	ND		ND		ND		ND		ND		ND	
UCL	ND		ND		ND		ND		ND		ND	
S-W	0.89		0.92		0.85		0.97		0.97		0.91	
Sig.	0.013		0.143		0.002		0.612		0.576		0.042	
Levene	1.88		2.29		1.94		1.30		1.24		1.47	
Sig	0.148		0.111		0.138		0.307		0.333		0.250	

F	6.06*	92.82	12.57*	2.20	1.98	6.23*
Sig	0.194*	0.000	0.014	0.100	0.131	0.182*

Sig.= Significancia. h= horas. D.E.= Desviación estándar.

Las letras que figuran en minúscula para cada columna es la variación de significancia entre los parámetros de los tratamientos (prueba de tukey $p < 0,05$).

NOEC= Concentración en la que no se observa efecto. LOEC= Concentración más baja en la que se observa efecto. CE₅₀= Concentración efectiva media. LCL= Nivel mínimo de confianza. UCL= Nivel máximo de confianza.

ND= Valor no determinado

Los porcentajes de los parámetros analizados corresponden a la suma de las cuatro réplicas. S-W: Prueba de Shapiro-Wilk para evaluar la normalidad. Estadístico de Levene: Prueba para evaluar la homogeneidad de varianzas. F=Estadístico de Fisher del Anova. *: Se utilizó la significancia de Kruskal – Wallis.

Cuadro II. Valores de los parámetros físico-químicos de la fracción acumulada de petróleo medidos al inicio (0 h) y final (168 h) del bioensayo con *Lemna minor*.

Concentración (mg/L)	pH		CE (uS/cm)		OD (ppm)		T° C	
	0 h	168 h	0 h	168 h	0 h	168 h	0 h	168 h
0	7.01	7.42	0.62	0.73	8.18	8.62	22.5	21.1
0.40	7.55	7.46	0.60	0.76	8.12	8.56	22.4	21.2
0.80	7.81	7.45	0.58	0.75	8.09	8.53	22.2	21.1
1.61	7.94	7.43	0.58	0.76	8.05	8.50	22.6	21.2
3.22	8.01	7.44	0.54	0.74	8.01	8.48	22.5	21.4
6.44	8.08	7.47	0.56	0.72	8.01	8.46	22.5	21.3

CE: Conductividad eléctrica. uS/cm: micro siemens por centímetro. OD: Oxígeno disuelto. ppm: Partes por millón. T: temperatura. °C: grados Celsius.

Cuadro III. Efectos subletal (inmovilización) y letal evaluados (mortalidad) en el bioensayo con *Daphnia magna* expuestos a la fracción acumulada de petróleo crudo expresado en concentraciones de mg/L a las 48 h.

Concentración (mg/L)	% Inmovilización				% muerte			
	24 h		48 h		24 h		48 h	
	Valor (± D.E.)	Sig.	Valor (± D.E.)	Sig.	Valor (± D.E.)	Sig.	Valor (± D.E.)	Sig.
Control	0.00 ± 0.0	a	0.00 ± 10.00	a	0.00 ± 0.00	a	0.00 ± 0.0	a
1.61	15.00 ± 5.77	a	28.95 ± 22.17	ab	2.50 ± 5.00	a	10.00 ± 14.14	a
3.22	25.00 ± 12.91	ab	63.16 ± 17.32	bc	5.00 ± 5.77	a	17.50 ± 17.08	a
6.44	42.50 ± 17.08	bc	73.68 ± 25.17	c	22.50 ± 15.00	a	45.00 ± 17.32	b
12.88	57.50 ± 15.00	cd	92.11 ± 5.00	c	55.00 ± 19.15	b	80.00 ± 8.16	c
25.75	77.50 ± 9.57	d	100.00 ± 0.00	c	77.50 ± 9.57	b	95.00 ± 5.77	c
NOEC	3.22		1.61		6.44		3.22	
LOEC	6.44		3.22		12.87		6.44	
CE(L)₅₀	8.68		2.74		12.53		6.22	
LCL	4.84		1.71		8.29		4.25	
UCL	15.55		4.38		18.93		9.10	
S-W	0.92		0.86		0.80		0.86	
Sig.	0.060		0.003		0.000		0.003	
Levene	3.77		2.94		7.12		2.18	
Sig	0.016		0.041		0.001		0.102	
(Chi ²)	20.36		19.82		20.18		20.51	
Sig	0.001*		0.001*		0.001*		0.001*	

Sig.= Significancia. h= horas. D.E.= Desviación estándar.

Las letras que figuran en minúscula para cada columna es la variación de significancia entre los parámetros de los tratamientos (prueba de tukey $p < 0,05$).

NOEC= Concentración en la que no se observa efecto. LOEC= Concentración más baja en la que se observa efecto. CE₅₀= Concentración efectiva media. LCL= Nivel mínimo de confianza. UCL= Nivel máximo de confianza.

ND= Valor no determinado

Los porcentajes de los parámetros analizados corresponden a la suma de las cuatro réplicas. S-W: Prueba de Shapiro-Wilk para evaluar la normalidad. Estadístico de Levene: Prueba para evaluar la homogeneidad de varianzas. Chi²: Chi cuadrado perteneciente a la prueba no paramétrica. * Se utilizó para la significancia de Kruskal – Wallis.

Cuadro IV. Valores de los parámetros físico-químicos de la fracción acumulada de petróleo medidos al inicio (0 h) y final (48 h) del bioensayo con *Daphnia magna*.

Concentración (mg/L)	pH		CE (uS/cm)		OD (ppm)		T° C	
	0 h	48 h	0 h	48 h	0 h	48 h	0 h	48 h
0	6.73	6.79	0.63	0.66	8.28	8.23	22.4	22.3
0.61	7.10	7.00	0.61	0.61	8.29	8.24	22.4	22.2
3.22	7.12	7.14	0.61	0.61	8.30	8.24	22.4	22.2
6.44	7.33	7.31	0.61	0.61	8.30	8.21	22.3	22.1
12.87	7.36	7.35	0.60	0.60	8.30	8.22	22.5	22.1
25.75	7.43	7.43	0.57	0.58	8.30	8.22	22.4	22.2

CE: Conductividad eléctrica. uS/cm: micro siemens por centímetro. OD: Oxígeno disuelto. ppm: Partes por millón. T: temperatura. °C: grados Celsius.

Cuadro V. Efectos subletal hipoactividad evaluados en el bioensayo con *Danio rerio* expuestos a la fracción acumulada de petróleo crudo expresado en concentraciones de mg/L a las 96 h.

Concentración (mg/L)	% Hipoactividad							
	24 h		48 h		72 h		96 h	
	Valor (± D.E.)	Sig.	Valor (± D.E.)	Sig.	Valor (± D.E.)	Sig.	Valor (± D.E.)	Sig.
Control	0.00 ± 0.00	a	0.00 ± 0.00	a	0.00 ± 0.00	a	0.00 ± 0.00	a
3.58	2.50 ± 5.77	a	22.50 ± 20.62	a	20.00 ± 16.33	ab	15.00 ± 19.15	ab
7.15	15.00 ± 12.91	a	30.00 ± 20.00	ab	45.00 ± 12.91	b	22.50 ± 20.62	ab
14.31	22.50 ± 9.57	ab	27.50 ± 20.62	a	37.50 ± 9.57	b	20.00 ± 8.16	ab
28.61	42.50 ± 12.58	b	35.00 ± 12.91	ab	73.33 ± 5.77	c	40.00 ± 8.16	b
57.22	80.00 ± 16.33	c	70.00 ± 0.00	b	83.33 ± 11.55	c	40.00 ± 8.16	b
NOEC	14.31		28.61		3.58		14.28	
LOEC	28.61		57.22		7.15		28.61	
CE₅₀	27.48		34.79		12.95		ND	
LCL	17.67		13.72		7.18		ND	
UCL	42.73		88.23		23.35		ND	
S-W	0.85		0.89		0.93		0.88	
Sig.	0.002		0.023		0.102		0.008	
Levene	1.57		1.80		1.63		2.40	
Sig.	0.220		0.170		0.209		0.078	
F	20.32*		11.40*		28.66		14.02*	
Sig.	0.001*		0.044*		0.000		0.015*	

Sig.= Significancia. h= horas. D.E.= Desviación estándar.

Las letras que figuran en minúscula para cada columna es la variación de significancia entre los parámetros de los tratamientos (prueba de tukey $p < 0,05$).

NOEC= Concentración en la que no se observa efecto. LOEC= Concentración más baja en la que se observa efecto. CE₅₀= Concentración efectiva media. LCL= Nivel mínimo de confianza. UCL= Nivel máximo de confianza.

ND= Valor no determinado

Los porcentajes de los parámetros analizados corresponden a la suma de las cuatro réplicas. S-W: Prueba de Shapiro-Wilk para evaluar la normalidad. Estadístico de Levene: Prueba para evaluar la homogeneidad de varianzas. F=Estadístico de Fisher del Anova. *: Se utilizó la significancia de Kruskal – Wallis.

Cuadro VI. Efectos subletal escape hacia el fondo evaluados en el bioensayo con *Danio rerio* expuestos a la fracción acumulada de petróleo crudo expresado en concentraciones de mg/L a las 96 h.

Concentración (mg/L)	% Escape hacia el fondo							
	24 h		48 h		72 h		96 h	
	Valor	Sig.	Valor	Sig.	Valor	Sig.	Valor	Sig.
Control	0.00 ± 0.00	a	0.00 ± 0.00	a	0.00 ± 0.00	a	0.00 ± 0.00	a
3.58	100.00 ± 0.00	b	50.00 ± 50.00	b	53.33 ± 47.26	b	90.00 ± 14.14	b
7.15	100.00 ± 0.00	b	100.00 ± 0.00	c	95.00 ± 10.00	b	100.00 ± 0.00	b
14.31	100.00 ± 0.00	b	95.00 ± 10.00	c	83.33 ± 28.87	b	75.00 ± 50.00	b
28.61	86.67 ± 23.09	b	100.00 ± 0.00	c	97.50 ± 5.00	b	90.00 ± 20.00	b
57.22	80.00 ± 16.33	b	100.00 ± 0.00	c	100.00 ± 0.00	b	100.00 ± 0.00	b
NOEC	<3.58		<3.58		<3.58		<3.58	
LOEC	3.58		3.58		3.58		3.58	
CE(L)₅₀	ND		3,59		2,38		ND	
LCL	ND		2,31		1,19		ND	
UCL	ND		5,55		4,74		ND	
S-W	0.66		0.59		0.66		0.65	
Sig.	0.000		0.000		0.000		0.000	
Levene	4.93		5.51		11.38		12.66	
Sig	0.008		0.003		0.000		0.000	
F	15.29*		17.37*		15.67*		13.76*	
Sig	0.009*		0.004*		0.008*		0.017*	

Sig.= Significancia. h= horas. D.E.= Desviación estándar.

Las letras que figuran en minúscula para cada columna es la variación de significancia entre los parámetros de los tratamientos (prueba de tukey $p < 0,05$).

NOEC= Concentración en la que no se observa efecto. LOEC= Concentración más baja en la que se observa efecto. CE_{50} = Concentración efectiva media. LCL= Nivel mínimo de confianza. UCL= Nivel máximo de confianza.

ND= Valor no determinado

Los porcentajes de los parámetros analizados corresponden a la suma de las cuatro réplicas. S-W: Prueba de Shapiro-Wilk para evaluar la normalidad. Estadístico de Levene: Prueba para evaluar la homogeneidad de varianzas. F=Estadístico de Fisher del Anova. *: Se utilizó la significancia de Kruskal – Wallis.

Cuadro VII. Efectos subletal hipoventilación evaluados en el bioensayo con *Danio rerio* expuestos a la fracción acumulada de petróleo crudo expresado en concentraciones de mg/L a las 96 h.

Hipoventilación				
48 h			96 h	
Concentración (mg/L)	Valor	Sig.	Valor	Sig.
Control	112.67 ± 1.53	cd	80.00 ± 2.65	ab
3.58	110.00 ± 1.00	c	83.00 ± 1.41	abc
7.15	119.67 ± 4.51	d	93.67 ± 10.41	bc
14.31	99.67 ± 1.53	ab	98.00 ± 4.58	c
28.61	105.30 ± 3.06	bc	93.33 ± 3.51	bc
57.22	95.00 ± 3.00	a	76.33 ± 4.51	a
NOEC	3.58		7.15	
LOEC	7.15		14.31	
CE ₅₀	ND		ND	
LCL	ND		ND	
UCL	ND		ND	
S-W	0.98		0.93	
Sig.	0.922		0.241	
Levene	1.23		2.67	
Sig	0.354		0.081	
F	32.65		7.31	
Sig	0.000		0.003	

Sig.= Significancia. h= horas. D.E.= Desviación estándar.

Las letras que figuran en minúscula para cada columna es la variación de significancia entre los parámetros de los tratamientos (prueba de tukey p< 0,05).

NOEC= Concentración en la que no se observa efecto. LOEC= Concentración más baja en la que se observa efecto. CE₅₀= Concentración efectiva media.

LCL= Nivel mínimo de confianza. UCL= Nivel máximo de confianza.

ND= Valor no determinado

Los porcentajes de los parámetros analizados corresponden a la suma de las cuatro réplicas. S-W: Prueba de Shapiro-Wilk para evaluar la normalidad. Estadístico de Levene: Prueba para evaluar la homogeneidad de varianzas. F=Estadístico de Fisher del Anova.

Cuadro VIII. Valores de los parámetros físico-químicos de la fracción acumulada de petróleo medidos al inicio (0 h) y final (96 h) del bioensayo con *Danio rerio*.

Concentración (mg/L)	pH		CE (uS/cm)		OD (ppm)		T° C	
	0 h	96 h	0 h	96 h	0 h	48 h	0 h	48 h
Control	7.2	6.9	0.7	0.8	5.93	3.32	21.3	19.5
3.58	7.2	6.9	0.6	0.7	5.94	3.47	21.6	19.4
7.15	7.2	6.9	0.5	0.7	5.91	3.37	21.6	19.5
14.31	7.1	6.8	0.5	0.7	5.92	3.21	21.4	19.5
28.61	7.2	6.8	0.4	0.6	5.92	3.20	21.2	19.4
57.22	7.2	6.9	0.4	0.5	5.92	3.14	21.0	19.5

CE: Conductividad eléctrica. uS/cm: micro siemens por centímetro. OD: Oxígeno disuelto. ppm: Partes por millón. T: temperatura. °C: grados Celsius.

Cuadro IX. Resultados de evaluación de riesgo ambiental (ERA) de la fracción acumulada de petróleo sobre 3 especies bioindicadoras del ecosistema acuático.

Especie	Efecto	Periodo (h)	Toxicidad CL(E) ₅₀ (mg/L)	NOEC (mg/L)	PEC (mg/L)	PNEC NOEC /100	Cociente de Riesgo PEC/PNEC	Riesgo
<i>Lemna minor</i>	Clorosis	168	ND	0.40	0.5	0.004	125.00	SI
<i>Lemna minor</i>	Peso seco	168	ND	3.22	0.5	0.032	15.53	SI
<i>Daphnia magna</i>	Inmovilización	24	8.68	3.22	0.5	0.032	15.53	SI
<i>Daphnia magna</i>	Inmovilización	48	2.74	1.61	0.5	0.016	31.06	SI
<i>Daphnia magna</i>	Mortalidad	24	12.53	6.44	0.5	0.064	7.76	SI
<i>Daphnia magna</i>	Mortalidad	48	6.22	3.22	0.5	0.032	15.53	SI
<i>Danio rerio</i>	Hipoactividad	24	27.48	14.31	0.5	0.143	3.49	SI
<i>Danio rerio</i>	Hipoactividad	48	34.79	28.61	0.5	0.286	1.75	SI
<i>Danio rerio</i>	Hipoactividad	72	12.95	3.58	0.5	0.036	13.97	SI
<i>Danio rerio</i>	Hipoactividad	96	ND	14.28	0.5	0.142	3.50	SI
<i>Danio rerio</i>	Escape hacia el fondo	24	ND	3.58	0.5	0.036	13.97	SI
<i>Danio rerio</i>	Escape hacia el fondo	48	3.59	3.58	0.5	0.036	13.97	SI
<i>Danio rerio</i>	Escape hacia el fondo	72	2.38	3.58	0.5	0.036	13.97	SI
<i>Danio rerio</i>	Escape hacia el fondo	96	ND	3.58	0.5	0.036	13.97	SI
<i>Danio rerio</i>	Hipoventilación	48	ND	3.58	0.5	0.036	13.97	SI
<i>Danio rerio</i>	Hipoventilación	96	ND	7.15	0.5	0.072	6.99	SI

H: horas. CL(E)₅₀: concentración letal o subletal media. mg/L: miligramo por litro. NOEC: Concentración en la que no se observa efecto. PEC: Concentración ambiental prevista. PNEC: Concentración esperada sin efecto en el ambiente.

ANEXOS

EVIDENCIA DEL ENVÍO A REVISTA CIENTÍFICA



[RICA] Envío recibido



Claudio M. Amescua Garcia <claudio.amescua@atmosfera.unam.mx>

Lun 30/12/2019 16:23

Usted

Valeska Valeska Caja Molina:

Gracias por enviarnos su manuscrito "EVALUACIÓN DEL RIESGO AMBIENTAL ACUÁTICO DE PETRÓLEO CRUDO EN: Lemna minor (GRIFF), Daphnia magna (STRAUS) Y Danio rerio (HAMILTON-BUCHANAN)" a Revista Internacional de Contaminación Ambiental. Gracias al sistema de gestión de revistas online que usamos podrá seguir su progreso a través del proceso editorial identificándose en el sitio web de la revista:

URL del manuscrito:

<https://www.revistascca.unam.mx/rica/index.php/rica/author/submission/53840>

Nombre de usuario/o: valeskacajamolina

Si tiene cualquier pregunta no dude en contactar con nosotros/as. Gracias por tener en cuenta esta revista para difundir su trabajo.

Claudio M. Amescua Garcia

Revista Internacional de Contaminación Ambiental

Revista Internacional de Contaminación Ambiental

<http://www.revistascca.unam.mx/rica>

COPIA DE RESOLUCIÓN DE APROBACIÓN DEL PROYECTO DE TESIS



RESOLUCIÓN DIRECTORAL ACADÉMICA DE ACEPTACIÓN E INSCRIPCIÓN DEL PROYECTO DE TESIS Y NOMBRAMIENTO DEL ASESOR DE LA INVESTIGACIÓN

RESOLUCIÓN DIRECTORAL ACADÉMICA DE CARRERA N°164-2018-DACIA-DAFCA-CIENTIFICA

FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES
CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL

Lima, 24 de julio del 2018

VISTO:

El informe técnico del Comité de Investigación de la Facultad, se aprueba el proyecto de tesis: **“Evaluación del riesgo Ambiental acuático de petróleo crudo en: Lemna minor (Griff), Daphia Magna (Straus) y Danio rerio (Hamilton-Buchanan)”** presentado por doña **Alisson Valeska Caja Molina** con código de matrícula N°100004863.

CONSIDERANDO:

Que, de acuerdo al Reglamento de Estudios de Pregrado vigente, para obtener el Título Profesional de **Ingeniero Ambiental** en la Facultad de **Ciencias Ambientales/Carrera de Ingeniería Ambiental**, la egresada de la especialidad de **Ingeniería y Gestión Ambiental** debe desarrollar la tesis titulada **“Evaluación del riesgo Ambiental acuático de petróleo crudo en: Lemna minor (Griff), Daphia Magna (Straus) y Danio rerio (Hamilton-Buchanan)”**, que la egresada ha presentado los expedientes correspondientes y efectuado los pagos respectivos. Estando a lo dispuesto por el Reglamento de Estudios de Pregrado vigente, las disposiciones vigentes y en uso de las atribuciones conferidas al Director Académico de la Facultad.

SE RESUELVE:

Aprobar e inscribir el proyecto de tesis titulado **“Evaluación del riesgo Ambiental acuático de petróleo crudo en: Lemna minor (Griff), Daphia Magna (Straus) y Danio rerio (Hamilton-Buchanan)”** de la egresada **Alisson Valeska Caja Molina** con código de matrícula N°100004863; así como, nombrar como el Asesor para el desarrollo de la Tesis en mención al **Dr. Jose Alberto Iannacone Oliver**.

Regístrese, comuníquese y archívese



Mag. Gonzalo Francisco Torres Roca
 Director Académico
 Carrera de Ingeniería Ambiental

T // (51) 610 6400
opción 2
www.cientifica.edu.pe

Campus
Panamericana Sur
km 19 - Lima 42