

TÍTULO DO ESTUDO:
TESTE DE TOXICIDADE AGUDA COM *MYSIDOPSIS JUNIAE*
PARA O PRODUTO: FLUIDO DE PERFURAÇÃO BR-SEAL -
CÓDIGO 2.8.1

LABORATÓRIO CONTRATADO: TECAM- TECNOLOGIA AMBIENTAL LTDA.

EMPRESA: PETROBRAS - PETRÓLEO BRASILEIRO S/A.

TESTE: TOXICIDADE AGUDA COM *MYSIDOPSIS JUNIAE*.

CÓDIGO TECAM: T12893-01

RELATÓRIO Nº: RLT12893MY.

INÍCIO DO ESTUDO: 08/08/01.

TÉRMINO DO ESTUDO: 14/08/01.

EMISSÃO DO RELATÓRIO: 05/09/01

DIRETOR DE ESTUDO: Regina Sawaia Sáfadi (MSc).

EQUIPE: Alice Fumie Aita, Bióloga.

Flávio A. da Costa, Apoio Técnico.

ÍNDICE

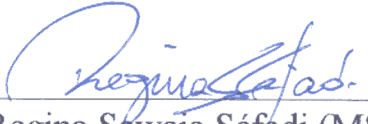
DECLARAÇÃO.	3
RESUMO/ABSTRACT	4
SUMÁRIO.....	5
SUMMARY..	7
PROCEDIMENTOS.	9
1. Sistema teste.....	9
2. Preparo da amostra e soluções..	9
3. Condições de teste.....	9
4. Substância de referência.	10
5. Análise estatística.	10
RESULTADOS/CONCLUSÃO	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	11
TABELA	12

DECLARAÇÃO

O presente estudo com o produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO BR-SEAL CÓDIGO 2.8.1** foi requerido pela empresa **PETROBRAS PETRÓLEO BRASILEIRO S/A** e contém informações estritamente confidenciais.

O estudo descrito nesse relatório final foi conduzido de acordo com o protocolo previsto sob a orientação e supervisão do Diretor de Estudo. O relatório final representa um registro preciso e verdadeiro dos resultados obtidos. Não foram observados desvios ou não-conformidades que afetem a qualidade do estudo. Os dados brutos do estudo encontram-se à disposição da empresa solicitante no endereço do **TECAM - TECNOLOGIA AMBIENTAL LTDA**, à R. Tavares Bastos, 937. S. Paulo - SP.

São Paulo, 05 de setembro de 2001.



Regina Sawaia Sáfadi (MSc)
Diretor de Estudo
CRB 06126-01

RESUMO

O objetivo deste estudo foi determinar a toxicidade aguda do produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO BR-SEAL - CÓDIGO 2.8.1 (T12893-01)** *Mysidopsis juniae*. Foi preparada uma mistura 1:9 do fluido com água marinha e a fase de sólidos suspensos (FSS) foi utilizada para preparar as seguintes concentrações do produto: 8000 ppm; 27000 ppm; 90000 ppm; 300000 ppm e 1000000 ppm. Três réplicas de dez animais cada foram expostas a um controle com água marinha e a cada concentração de FSS por 96 horas. Após o período de exposição, foi observado um aumento da mortalidade dos animais expostos com o aumento da concentração. Com os dados de mortalidade, a concentração letal mediana após 96 horas de exposição (CL50; 96h) e respectivo intervalo de 95% de confiança foram estimados através do método Spearman Karber modificado (Hamilton et alii, 1986). A CL50; 96h da FSS, nas condições de teste, foi estimada em 78700 ppm, com intervalo de 95% de confiança de 57100 a 108600 ppm.

ABSTRACT

This study was carried out to determine the acute toxicity to *Mysidopsis juniae* of the product **FLUIDO DE PERFURAÇÃO BR-SEAL - CÓDIGO 2.8.1 (T12893-01)**. A 1:9 fluid to seawater mixture was prepared and the suspended particulate phase (SPP) solution was diluted to the following concentrations: 8000 ppm; 27000 ppm; 90000 ppm; 300000 ppm and 1000000 ppm. Three replicates with ten animals were exposed to control (synthetic seawater) and each SPP concentration for 96 hours. After the period of exposure, the median lethal concentration (96-h LC50) and 95% confidence limits were estimated using the trimmed Spearman Karber method (Hamilton et alii, 1986). Under the test conditions, the 96-h LC50 of the SPP was estimated in 78700 ppm, with 95% confidence limits of 57100 to 108600 ppm.

SUMÁRIO

DADOS GERAIS

Empresa Solicitante: PETROBRAS - PETRÓLEO BRASILEIRO S/A.

Nome do Produto: FLUIDO DE PERFURAÇÃO BR-SEAL - CÓDIGO 2.8.1.

Código Tecam: T12893-01.

Teste: Toxicidade Aguda com *Mysidopsis juniae*.

Metodologia: CETESB, 1992; USEPA, 1993.

Diretor de estudo: Regina Sawaia Sáfadi (MSc).

DADOS DA AMOSTRA

Data de entrada: 08/08/01.

Tipo: Fluido de perfuração.

Estado Físico: Líquido.

CONDIÇÕES DE TESTE

Data de início: 10/08/01.

Data de término: 14/08/01.

Espécie: *Mysidopsis juniae*.

Alimentação: náuplios de *Artemia*.

Duração: 96 horas.

Temperatura média da água: $24,2 \pm 0,7$ °C.

Fotoperíodo: 12 horas de luz e 12 horas de escuro.

Renovação do meio: sem renovação (teste estático).

Aeração: sim.

Água de diluição e controle: água marinha sintética (salinidade 32 – 35 ‰).

Concentrações (diluição da fase de sólidos suspensos): 8000 ppm; 27000 ppm; 90000 ppm; 300000 ppm; 1000000 ppm.

CONCLUSÃO

A concentração letal mediana e o intervalo de 95% de confiança (entre parênteses) da fase de sólidos suspensos (FSS) do produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO BR-SEAL - CÓDIGO 2.8.1**, nas condições de teste, foram estimados em:

CL50; 96 h = 78700 ppm FSS (57100 - 108600 ppm FSS)

SUMMARY

GENERAL DATA

Sponsor: PETROBRAS - PETRÓLEO BRASILEIRO S/A.

Product: FLUIDO DE PERFURAÇÃO BR-SEAL - CÓDIGO 2.8.1.

Tecam Code: T12893-01.

Test: Acute toxicity with *Mysidopsis juniae*.

Methodology: CETESB, 1992; USEPA, 1993.

Study Director: Regina Sawaia Sáfyadi (MSc).

PRODUCT DATA

Received: 08/08/01.

Type: Drilling fluid.

Physical state: Liquid.

TEST CONDITIONS

Initial date: 08/10/01.

Ending date: 08/14/01.

Specie: *Mysidopsis juniae*.

Feeding: *Artemia nauplii*.

Duration: 96 hours.

Average water temperature: 24.2 ± 0.7 °C.

Photoperiod: 12 hours light and 12 hours darkness.

Solution renewal: static test.

Aeration: yes.

Dilution water and control: synthetic seawater (salinity 32 – 35 ‰).

Concentrations (dilutions of suspended particulate phase): 8000 ppm; 27000 ppm;
90000 ppm; 300000 ppm; 1000000 ppm.

rlt12893my.doc

CONCLUSION

The median lethal concentration and 95% confidence limits of the suspended particulate phase (SPP) of the product **FLUIDO DE PERFURAÇÃO BR-SEAL - CÓDIGO 2.8.1**, under the test conditions, were estimated in:

96-h LC50 = 78700 ppm SPP (57100 - 108600 ppm SPP)

PROCEDIMENTOS

1. Sistema teste

A espécie utilizada foi *Mysidopsis juniae* (Crustacea, Mysidacea). Os jovens foram obtidos junto ao Laboratório de Ecotoxicologia da Cetesb e aclimatados às condições do laboratório por no mínimo 24 horas antes do início do teste.

2. Preparo da amostra e soluções

Os procedimentos utilizados para o preparo das diluições de teste seguiram a metodologia padronizada pela EPA para testes com fluido de perfuração, do qual se prepara uma diluição 1:9 com água marinha e se expõe os organismos a diluições da fase de sólidos suspensos (FSS) da mistura (USEPA, 1993).

O produto foi homogeneizado com agitador industrial por 30 minutos e o pH foi ajustado para $\pm 0,2$ unidades do pH da água de diluição (água marinha sintética). Uma alíquota de 200 mL foi retirada, diluída com 1800 mL de água marinha (diluição 1:9) e a mistura foi mantida sob agitação magnética por 5 minutos, com pH ajustado para $7,8 \pm 0,1$. Esta mistura foi mantida em repouso para decantação por 1 hora, na mesma temperatura de teste. A fase de sólidos suspensos (FSS) obtida foi cuidadosamente retirada e as seguintes soluções teste foram preparadas:

- A. 1000000 ppm:** 300 mL da FSS em cada frasco-teste.
- B. 300000 ppm:** 300 mL da FSS + água de diluição até 1000 mL.
- C. 90000 ppm:** 90 mL da FSS + água de diluição até 1000 mL.
- D. 27000 ppm:** 27 mL da FSS + água de diluição até 1000 mL.
- E. 8000 ppm:** 8 mL da FSS + água de diluição até 1000 mL.

3. Condições de teste

Jovens com 3 a 5 dias idade foram transferidos aleatoriamente, com auxílio de uma pipeta Pasteur, para béqueres de 30 mL com pequeno de volume de água



marinha e adicionados aleatoriamente aos frascos teste com cerca de 250 mL de solução teste. Foram colocados dez jovens em cada frasco, com três réplicas em cada concentração das soluções teste. Um controle com três réplicas e somente com água de diluição foi preparado da mesma forma.

O teste foi incubado a $24,2 \pm 0,7$ °C, em ambiente com fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro, com aeração suave e contínua em todos os frascos. Os animais foram alimentados diariamente com duas gotas de suspensão concentrada de náuplios de *Artemia* recém-eclodidos por frasco. A cada 24 horas foram contados os animais vivos e os mortos foram removidos. Para as soluções com turbidez elevada ou com material decantado a contagem dos animais foi realizada somente no final do teste, após 96 horas de exposição.

Diariamente foram realizadas análises de pH, salinidade e oxigênio dissolvido de uma réplica do controle e de cada concentração.

4. Substância de referência

Periodicamente, os organismos são submetidos a um teste de sensibilidade com a substância de referência, sulfato de zinco. A concentração letal mediana (CL50; 96h) média, utilizando dados acumulados de vários testes, é de 0,53 mg Zn/L, com limites de controle (média \pm 2.desvio padrão) de 0,40 a 0,65 mg Zn/L.

5. Análise estatística

A concentração letal mediana após 96 horas de exposição - CL50; 96h - e respectivo intervalo de 95% de confiança foram estimados através do método Spearman-Kärber modificado (Hamilton et alii, 1977).

RESULTADOS E CONCLUSÃO

O resultado do teste com o produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO BR-SEAL - CÓDIGO 2.8.1** está apresentado na Tabela 1, com dados de mortalidade e análises físicas e químicas efetuadas durante o teste.

Nas concentrações superiores a 27000 ppm FSS, as soluções apresentaram turbidez elevada, impedindo a observação dos animais antes do final do teste. Embora estivessem sendo aeradas, as soluções das concentrações 300000 ppm FSS e 1000000 ppm FSS apresentaram teor de oxigênio dissolvido inferior ao limite recomendado de 3,9 mg/L, respectivamente, a partir das 72 e 24 horas de exposição (USEPA, 1993).

Foi observado um aumento da mortalidade dos animais expostos com o aumento da concentração do produto. Nas duas maiores concentrações testadas foi registrada mortalidade de todos os animais após o período de exposição. A concentração letal mediana da fase de sólidos suspensos do produto, nas condições de teste, foi estimada em 78700 ppm, com intervalo de 95% de confiança de 57100 a 108600 ppm.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CETESB Água do Mar - Teste de toxicidade aguda com *Mysidopsis juniae* Silva, 1979 (Crustacea: Mysidacea). **Norma Técnica L5.251**. São Paulo, CETESB, 19p., 1992.
- Hamilton, M.A.; Russo, R.C.; Thurston, R.V. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. **Environ. Sci. Technol.**, v. 11, p. 714-19, 1977.
- USEPA 40 CFR Part 435 – Oil and gas extraction point source category, SubPart A – Offshore Subcategory, Appendix 2 – Drilling fluids toxicity test. **Federal Register**, 58 FR 12504, 1993.

Tabela 1 – Mortalidade e análises físicas e químicas (média ± desvio padrão) obtidas no teste de toxicidade aguda com *Mysidopsis juniae* para o produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO BR-SEAL - CÓDIGO 2.8.1**, após 96 horas de exposição.

Concentração	Mortalidade (%)	pH	Salinidade (‰)	Oxigênio dissolvido (mg O ₂ /L)
Controle	0	8,0 ± 0,2	32 ± 1	5,6 ± 0,5
8000 ppm FSS	7	8,0 ± 0,2	33 ± 1	5,6 ± 0,6
27000 ppm FSS	17	8,0 ± 0,2	33 ± 1	5,2 ± 0,9
90000 ppm FSS	47	8,0 ± 0,2	33 ± 1	5,0 ± 0,8
300000 ppm FSS	100	7,8 ± 0,3	34 ± 1	4,0 ± 1,9
1000000 ppm FSS	100	7,7 ± 0,2	35 ± 1	2,6 ± 2,1