

**Relatório Final**  
RL5376-05MYA  
14 de Outubro de 2005

**Título do Estudo**  
Teste de Toxicidade Aguda com *Mysidopsis juniae*  
para o produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO BR CARB - CÓD.73-05**

**Patrocinador**  
PETROBRAS - PETRÓLEO BRASILEIRO S.A.  
Av. Hum /Quadra 7 - Ilha do Fundão – PDP/TEP  
Rio de Janeiro – RJ.

**Laboratório executor**  
TECAM Tecnologia Ambiental Ltda.  
R. Fábria, 59 - 05051-030.  
São Paulo, S.P.  
Fone: (55) (11) 3873-2553 – Fax: (55) (11) 3862-8954

## ÍNDICE

<b>DECLARAÇÃO DE CONFORMIDADE DO ESTUDO .....</b>	<b>3</b>
<b>RESUMO/ABSTRACT .....</b>	<b>4</b>
<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>5</b>
<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>5</b>
1. Dados da substância-teste .....	5
2. Dados dos organismos-teste .....	5
3. Condições de teste .....	5
4. Aclimação e controle de sensibilidade .....	6
5. Procedimentos .....	6
6. Análise estatística .....	7
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>7</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>8</b>
<b>TABELA</b>	
1. Resultado de mortalidade e análises físicas e químicas .....	8

**DECLARAÇÃO DE CONFORMIDADE DO ESTUDO**

O presente estudo com o produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO BR CARB - CÓD.73-05**, requerido pela empresa **PETROBRAS - PETRÓLEO BRASILEIRO S.A.**, foi conduzido dentro dos preceitos estabelecidos pelo Sistema de Qualidade do Tecam. O relatório final representa um registro preciso e verdadeiro dos resultados obtidos e contém informações estritamente confidenciais. Os dados brutos do estudo encontram-se à disposição da empresa solicitante no endereço do **TECAM – TECNOLOGIA AMBIENTAL LTDA**, à Rua Fábria, 59-São Paulo – SP.

\_\_\_\_\_  
MARIA FERNANDA ROMANELLI  
**Bióloga (MSc)**  
**CRB 35816/01-D**

\_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
PETROBRAS - PETRÓLEO BRASILEIRO S.A.  
**Patrocinador**

\_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

RL5376-05LYC

## RESUMO

O objetivo deste estudo foi determinar a toxicidade aguda do produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO BR CARB - CÓD.73-05** para *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-Kärber modificado (Hamilton et al, 1977). A CL50; 96h da FSS, nas condições de teste, foi estimada em 60116 ppm, com intervalo de 95% de confiança de 48472 a 74558 ppm.

## ABSTRACT

This study was carried out to determine the acute toxicity to *Mysidopsis juniae* of the product **FLUIDO DE PERFURAÇÃO BR CARB - CÓD.73-05**. 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-Kärber method (Hamilton et al, 1977). Under the test conditions, the 96-h LC50 of the SPP was estimated in 60116 ppm, with 95% confidence limits of 48472 to 74558 ppm.

RL5376-05LYC

## INTRODUÇÃO

O objetivo deste estudo foi determinar a toxicidade aguda do produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO BR CARB - CÓD.73-05** para jovens *Mysidopsis juniae*. Após 96 horas de exposição, deve ser estimada a concentração letal mediana do produto, isto é, a concentração que causa mortalidade a 50% dos organismos expostos, nas condições teste - CL50; 96h.

## MATERIAIS E MÉTODOS

A metodologia adotada segue a Norma Técnica CETESB L5.251 (CETESB, 1992), com modificações baseadas nos procedimentos da Environmental Protection Agency dos Estados Unidos para testes de toxicidade aguda para *Mysidopsis bahia* com fluidos de perfuração (USEPA, 1993a).

### 1. Dados da substância-teste

Nome comercial: FLUIDO DE PERFURAÇÃO BR CARB - CÓD.73-05.

Protocolo nº: 5376/2005,

Data de entrada: 26/08/2005.

Acondicionamento: frasco plástico, sob refrigeração.

Estado Físico: líquido.

### 2. Dados dos organismos-teste

Espécie: *Mysidopsis juniae* (Crustacea, Mysidacea).

Idade: 2 a 5 dias.

### 3. Condições de teste

Data de início: 20/09/2005.

Data de término: 24/09/2005.

Temperatura média da água:  $26,0 \pm 0,5$  °C.

Fotoperíodo: 16 horas de luz e 8 horas de escuro.

Renovação do meio: sem renovação (teste estático).

RL5376-05LYC

Aeração: sim .

Duração: 96 horas.

#### **4. Aclimação e controle de sensibilidade**

Os jovens utilizados no teste foram obtidos junto a um laboratório particular e aclimatados às mesmas condições de teste. A manutenção dos animais foi feita com água marinha sintética, preparada a partir de sal comercial marca Coral Reef Red Sea Salt ®, com salinidade entre 32 e 35 ‰.

Periodicamente, os organismos são submetidos a um teste de sensibilidade com a substância de referência, sulfato de zinco. A carta-controle de sensibilidade desse sistema-teste no Tecam, utilizando dados acumulados de vários testes, indica uma CL50; 96h média de 0,33 mg Zn/L, com limites de controle (média  $\pm$  2.desvio padrão) de 0,20 a 0,47 mg Zn/L.

#### **5. Procedimentos**

A amostra foi homogeneizada com agitador industrial por 30 minutos. Uma alíquota de 200 mL foi retirada, diluída com 1800 mL de água marinha sintética (diluição 1:9) e o pH foi ajustado para  $\pm$  0,2 unidades do pH da água de diluição. Esta mistura foi mantida sob agitação magnética por 5 minutos e, em seguida, mantida em repouso para decantação por uma hora. A fase de sólidos suspensos (FSS) obtida foi cuidadosamente retirada, o pH foi ajustado para  $7,8 \pm 0,1$  e as seguintes soluções-teste foram preparadas: 8000 ppm; 27000 ppm; 90000 ppm ; 300000 ppm e 1000000 ppm.

Os organismos-teste foram transferidos aleatoriamente para béqueres de 30 mL, contendo pequeno volume de água marinha e, em seguida, adicionados também aleatoriamente aos frascos-teste com cerca de 250 mL de solução-teste. Foram colocados dez jovens em cada frasco e foram preparadas três réplicas para cada solução-teste. Um controle com três réplicas e somente com água de diluição foi preparado da mesma forma.

RL5376-05LYC

Diariamente, os animais mortos foram removidos e os animais vivos foram contados e alimentados com uma gota de suspensão concentrada de náuplios de *Artemia* recém-eclodidos. Para as soluções com turbidez elevada ou com material decantado, a contagem dos animais foi realizada somente no final do teste, após o período de exposição. Também diariamente, foram realizadas análises de pH, salinidade e oxigênio dissolvido de uma réplica do controle e de três concentrações do produto.

## **6. Análise estatística**

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

## **RESULTADOS**

O resultado do teste com o produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO BR CARB - CÓD.73-05** está apresentado na Tabela 1, com dados de mortalidade e análises físicas e químicas efetuadas durante o teste. Os valores obtidos estiveram dentro das faixas estabelecidas para a aceitação dos resultados (USEPA, 1993a).

Foi observado um aumento da mortalidade dos animais expostos com o aumento da concentração do produto, a partir da concentração de 27000 ppm FSS. Nas duas maiores concentrações testadas (300000 ppm FSS e 1000000 ppm FSS) foi registrada mortalidade de todos os animais após período de exposição. A concentração letal mediana da fase de sólidos suspensos do produto, nas condições de teste, foi estimada em 60116 ppm FSS, com intervalo de 95% de confiança de 48472 a 74558 ppm FSS.

RL5376-05LYC

## 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, 1993a.
- USEPA **Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms**. C.I. Weber. (ed.). 4. ed. Environmental Monitoring Systems Laboratory, U.S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio, EPA/600/4-90/027F, 1993b.

**Tabela 1** – Mortalidade e análises físicas e químicas (média  $\pm$  desvio padrão) obtidas no teste de toxicidade aguda com *Mysidopsis juniae* para o produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO BR CARB - CÓD.73-05**, após 96 horas de exposição.

Concentração	Mortalidade (%)	pH	Salinidade (‰)	Oxigênio dissolvido (mg O <sub>2</sub> /L)
Controle	0	8,1 $\pm$ 0,1	31 $\pm$ 0	5,7 $\pm$ 0,5
8000 ppm FSS	10	8,0 $\pm$ 0,1	32 $\pm$ 1	5,7 $\pm$ 0,4
27000 ppm FSS	3	N.A.	N.A.	N.A.
90000 ppm FSS	77	8,0 $\pm$ 0,1	32 $\pm$ 1	5,6 $\pm$ 0,4
300000 ppm FSS	100	N.A.	N.A.	N.A.
1000000 ppm FSS	100	7,9 $\pm$ 0,1	34 $\pm$ 2	5,8 $\pm$ 0,3

FSS: fase de sólidos suspensos.

N.A.: não analisado.