

**Relatório Final**  
RL9075-04BDM  
15 de Fevereiro de 2005

**Título do Estudo**  
Teste De Biodegradabilidade Em Água Marinha  
para o produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO BR-ESTER - CÓD. 1.2.3.**

**Patrocinador**  
PETROBRAS - PETRÓLEO BRASILEIRO S.A.  
Av. Hum Quadra 7 s/nº Cidade Universitária  
Ilha do Fundão – Rio de Janeiro – RJ.  
Cep: 21.949-900.

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

## ÍNDICE

<b>DECLARAÇÃO DE CONFORMIDADE DO ESTUDO</b> .....	3
<b>RESUMO</b> .....	4
<b>ABSTRACT</b> .....	4
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	5
<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	5
1. Dados da substância-teste.....	5
2. Dados dos organismos-teste .....	5
3. Água de diluição.....	6
4. Preparo das soluções.....	6
5. Condições de teste e procedimentos.....	7
6. Tratamento dos resultados.....	7
<b>RESULTADOS</b> .....	8
<b>CONCLUSÃO</b> .....	9
<b>REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA</b> .....	9
<b>TABELAS</b>	
1. Demanda química de oxigênio e contagem padrão de bactérias.....	9
2. Consumo de oxigênio e biodegradação .....	9
<b>FIGURAS</b>	
1. Consumo líquido de oxigênio dissolvido .....	10
2. Curva de biodegradação .....	10

**DECLARAÇÃO DE CONFORMIDADE DO ESTUDO**

O presente estudo com o produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO BR-ESTER - Cód. 1.2.3**, 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.

---

THAIS PINHEIRO MUNIZ (MSc)

**Bióloga**

**CRB 33239/01-D**

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

---

PETROBRAS - PETRÓLEO BRASILEIRO S.A.

**Patrocinador**

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

## RESUMO

O objetivo deste estudo foi determinar a biodegradabilidade do produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO BR-ESTER - CÓD. 1.2.3** (9075/2004) em água marinha. A concentração 2 mg/L do produto apresentou biodegradação em meio marinho após o período de 28 dias de incubação, sob temperatura de  $24,5 \pm 1$  °C e no escuro.

## ABSTRACT

This study was carried out to determine the biodegradability of the product **FLUIDO DE PERFURAÇÃO BR-ESTER - CÓD. 1.2.3** (9075/2004) in seawater. The concentration 2 mg/L of the sample was biodegradable in seawater after the period of 28 days of incubation, under temperature of  $24.5 \pm 1$  °C in the dark.

## INTRODUÇÃO

O objetivo deste estudo foi avaliar a biodegradabilidade do produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO BR-ESTER - CÓD. 1.2.3** em água marinha. O método consiste na diluição de uma concentração pré-estabelecida do produto, seguida de exposição a microorganismos presentes em água marinha natural filtrada. A solução é mantida em frascos de DBO fechados, no escuro, sob temperatura constante, e a degradação é acompanhada por análises da concentração de oxigênio dissolvido durante um período de 28 dias. Tal procedimento permite determinar a porcentagem de biodegradação do produto após 28 dias.

## MATERIAIS E MÉTODOS

A metodologia adotada segue a norma OECD 306 - Biodegradability in Seawater (OECD, 1992). Conforme estabelecido nesta norma, a avaliação deve ser feita a partir de uma solução de 2 mg/L do produto, podendo ser de até 10 mg/L em casos especiais.

### 1. Dados da substância-teste

Nome comercial: **FLUIDO DE PERFURAÇÃO BR-ESTER - CÓD. 1.2.3.**

Protocolo nº: 9075/2004.

Data de entrada: 09/12/2004.

Acondicionamento: garrafa de vidro.

Estado Físico: Líquido.

Demanda química de oxigênio (DQO): 102192 mg/kg.

### 2. Dados dos organismos-teste

Foram utilizadas várias espécies de microorganismos naturalmente presentes na água marinha, não identificadas individualmente. No início e durante o teste foram realizadas análises microbiológicas da água, através do método de contagem padrão de bactérias heterotróficas.

### 3. Água de diluição

Para o preparo das soluções-teste foi utilizada água marinha natural filtrada, enriquecida com nutrientes minerais. A água marinha foi coletada em 28/12/04, na praia de Praia de Guaecá na cidade de São Sebastião (SP). A qualidade desta água foi caracterizada através das seguintes análises:

- . Salinidade: 35 ‰
- . Demanda química de oxigênio (DQO): 1003 mg/L
- . Nitrato: 0,6 mg/L
- . Amônia: <0,01 mg/L
- . Fósforo total: 0,34 mg/L
- . Contagem padrão de bactérias: 420 UFC/mL

Após a coleta, a água foi mantida no laboratório por 15 dias, sob aeração suave, na mesma temperatura de teste e no escuro. Antes de ser utilizada no teste, foi filtrada em papel de filtro para remover partículas grosseiras e organismos planctônicos. Em seguida, foram adicionados nutrientes (nitrogênio e fósforo) para garantir a sobrevivência dos microorganismos.

### 4. Preparo das soluções

Foi preparada uma solução de 2 mg/L do produto com água de diluição em volume suficiente para preencher oito frascos de incubação (dois frascos para cada dia de leitura). Para avaliar a atividade dos microorganismos presentes na água foi preparada uma solução 2 mg/L com a substância de referência, benzoato de sódio. Foram, também, preparados um controle somente com água marinha enriquecida (controle branco) e outro idêntico à solução do produto, porém sem atividade microbiológica devido à adição de cloreto de mercúrio (controle físico-químico). A ocorrência de efeitos inibitórios devido à toxicidade do produto foi avaliada através do preparo de uma solução de 2 mg/L da substância de referência com 2 mg/L do produto (controle de toxicidade).

Portanto, para o presente teste, foram preparadas as seguintes soluções:

A. Amostra (2 mg/L): 6 mg do produto + 3000 mL de água de diluição.

- B. Substância de referência (2 mg/L): 6 mg da substância de referência + 3000 mL de água de diluição.
- C. Controle branco: somente água de diluição.
- D. Controle físico-químico: 6 mg do produto + cloreto de mercúrio + 3000 mL de água de diluição.
- E. Controle de toxicidade: 6 mg do produto + 6 mg da substância de referência + 3000 mL de água de diluição.

## **5. Condições de teste e procedimentos**

O teste teve início em 12/01/2005 e término em 09/02/2005. No início do teste, as soluções foram transferidas para os frascos de incubação, mantidos em ambiente escuro, com temperatura de  $25 \pm 1$  °C, durante 28 dias.

A concentração de oxigênio dissolvido de cada tratamento foi analisada em frascos duplicados, no início do teste e após 5, 15 e 28 dias de teste. Nas mesmas datas, foram feitas análises de contagem padrão de bactérias heterotróficas e de DQO no início do teste.

## **6. Tratamento dos resultados**

Para cada dia de análise foi calculado o consumo líquido de oxigênio como a diferença no consumo de oxigênio do controle branco e da solução do produto, nas condições de teste, e o resultado foi expresso em mg O<sub>2</sub>/mg de amostra. A biodegradação foi calculada como a razão entre este consumo líquido e a DQO do produto, expressa em porcentagem.

Para verificar se o produto foi tóxico para os microorganismos durante o teste, foi comparado o consumo líquido de oxigênio do controle de toxicidade com a soma dos consumos das soluções do produto e da substância de referência.

## RESULTADOS

Os resultados do teste com o produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO BR-ESTER - CÓD. 1.2.3** estão apresentados nas Tabelas 1 e 2 e o consumo real de oxigênio de todas as soluções preparadas está representado graficamente na Figura 1. Na Figura 2 está apresentada a curva de biodegradação do produto.

As soluções apresentaram variação nos valores iniciais de DQO e na quantidade de bactérias heterotróficas ao longo do teste (Tabela 1). A presença destes organismos e a concentração de oxigênio dissolvido nos frascos-teste indicaram que os compostos orgânicos presentes nas soluções poderiam ser degradados por via aeróbica. A exceção prevista foi o controle físico-químico, no qual havia uma quantidade muito reduzida de microorganismos durante o teste. Foi verificado que houve consumo de oxigênio no controle branco, porém a porcentagem foi inferior ao limite recomendado de 30% de consumo para aprovação da água de diluição (OECD, 1992).

Os resultados obtidos indicaram que o produto apresentou certa toxicidade aos microorganismos, uma vez que o consumo de oxigênio do controle de toxicidade (contendo amostra e substância de referência) foi cerca de 30 vezes inferior à soma do consumo separado de cada uma destas soluções (Tabela 2). Além disso, o consumo observado no controle físico-químico indicou que não houve degradação abiótica na solução do produto. A presença de compostos nitrogenados no produto pode também ter afetado os resultados do teste. A curva de consumo de oxigênio da substância de referência indicou que os microorganismos presentes na água marinha estiveram aptos a degradar a matéria orgânica presente nas diversas soluções preparadas (Figura 1).

A curva de biodegradação do produto indicou uma degradação inicial negativa e, à medida que os microorganismos se adaptaram ao produto, a degradação foi relativamente rápida e 100 % da concentração 2 mg/L do produto foi biodegradada após

2 dias de incubação (Figura 2). No final do período de 28 dias de incubação, a biodegradação da amostra foi estimada em 100 %. Este resultado permite caracterizar o produto como sendo biodegradável em água marinha, conforme estabelecido pela norma OECD (OECD, 1992).

## CONCLUSÃO

A concentração 2 mg/L do produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO BR-ESTER - CÓD. 1.2.3** apresentou biodegradação após 28 dias de exposição em meio marinho.

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

OECD **Guidelines for the testing of chemicals**. Biodegradability in Seawater. 306, 27 p., 1992.

**Tabela 1** – Análises de demanda química de oxigênio inicial (DQO) e contagem padrão de bactérias das soluções preparadas para o Teste de Biodegradabilidade em Água Marinha para o produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO BR-ESTER - CÓD. 1.2.3**.

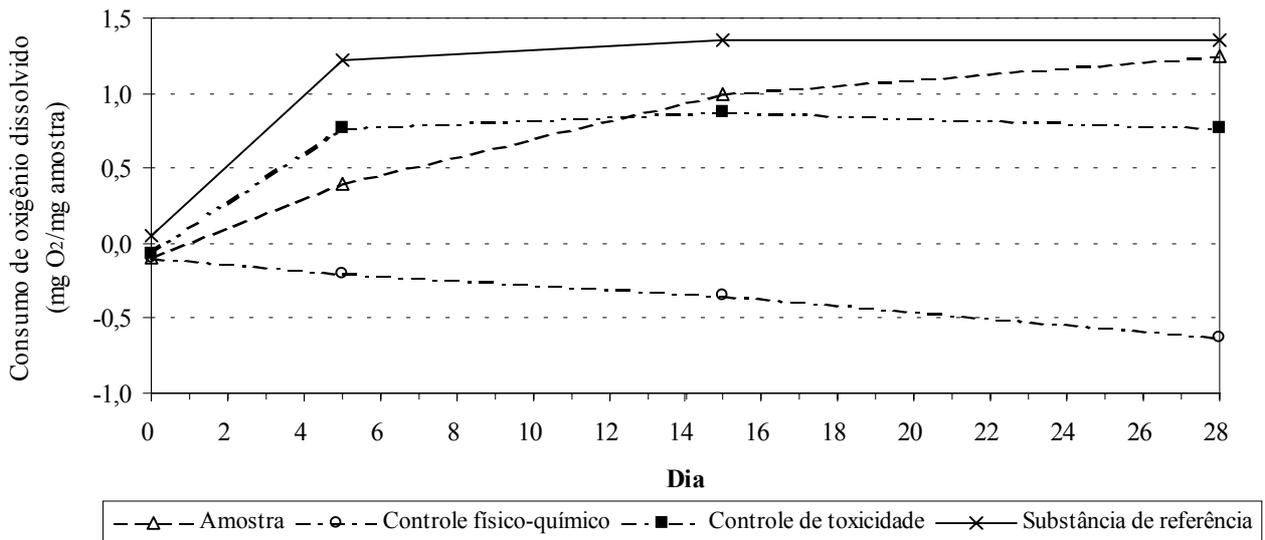
Solução	DQO inicial (mg/kg)	Contagem padrão de bactérias (UFC/mL)			
		Dia 0	Dia 5	Dia 15	Dia 28
Controle branco	1217	>5600	>5600	434	378
Amostra	224	>5600	>5600	504	4
Controle físico-químico	3719	<1	<1	<1	<1
Controle de toxicidade	3298	>5600	1344	3	188
Substância de referência	1537	>5600	>5600	266	122

UFC = unidades formadoras de colônias.

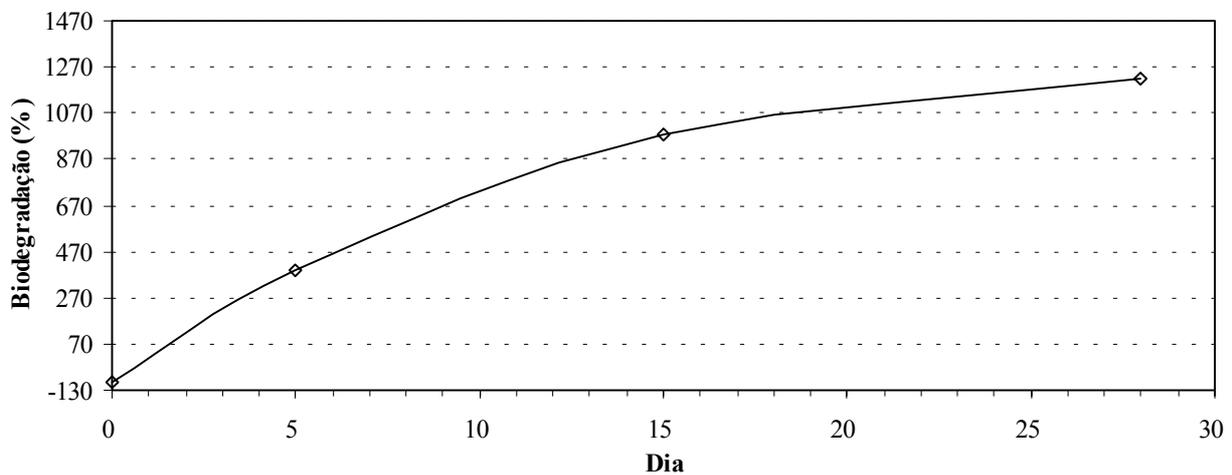
**Tabela 2** – Consumo de oxigênio e biodegradação após 28 dias das soluções preparadas para o Teste de Biodegradabilidade em Água Marinha para o produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO BR-ESTER - CÓD. 1.2.3**.

Solução	Consumo líquido de oxigênio (mg O <sub>2</sub> /mg de amostra)	Biodegradação
---------	---	---------------

	Dia 5	Dia 15	Dia 28	(%)
Amostra	0,40	1,00	1,25	100
Controle físico-químico	0,00	0,00	0,00	0
Controle de toxicidade	0,78	0,88	0,76	43
Substância de referência	1,23	1,35	1,35	80



**Figura 1** - Consumo líquido de oxigênio dissolvido das soluções preparadas para o Teste de Biodegradabilidade em Água Marinha para o produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO BR-ESTER - CÓD. 1.2.3.**



**Figura 2** - Curva de biodegradação em água marinha do produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO BR-ESTER - CÓD. 1.2.3.**