

**TÍTULO DO ESTUDO:**

**TESTE DE TOXICIDADE AGUDA COM *MYSIDOPSIS JUNIAE*  
PARA O FLUIDO DE PERFURAÇÃO CONVENCIONAL - 3.1 - AQUOSO.**

**LABORATÓRIO CONTRATADO:** TECAM- TECNOLOGIA AMBIENTAL LTDA.

**PATROCINADOR:** PETROBRAS - PETRÓLEO BRASILEIRO S/A.

**PROTOCOLO Nº:** 4611/2003.

**RELATÓRIO Nº:** RL4611-03MYA.

**INÍCIO DO ESTUDO:** 20/10/2003.

**TÉRMINO DO ESTUDO:** 24/10/2003.

**EMISSÃO DO RELATÓRIO:** 19/12/2003.

**DIRETOR DE ESTUDO:** Regina Sawaia Sáfadi (PhD).

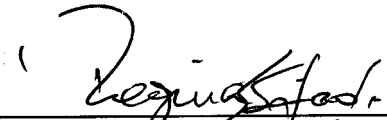
**PESQUISADOR PRINCIPAL:** Alice Fumie Aita (Bióloga).

## ÍNDICE

<b>DECLARAÇÃO DE CONFORMIDADE DO ESTUDO .....</b>	<b>..3</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>4</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>4</b>
<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>5</b>
<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>5</b>
1. Substância-teste .....	5
2. Sistema-teste .....	5
3. Água de diluição .....	5
4. Preparo da amostra e soluções.....	6
5. Condições de teste e procedimentos .....	6
6. Análises estatísticas..	7
7. Substância de referência.	7
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>7</b>
<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>8</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>.. 8</b>
<b>TABELA .....</b>	<b>9</b>

## DECLARAÇÃO DE CONFORMIDADE DO ESTUDO

O presente estudo com o produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO CONVENCIONAL - 3.1 - AQUOSO**, requerido pela empresa **PETROBRAS - PETRÓLEO BRASILEIRO S/A**, foi conduzido de acordo com o protocolo descrito nesse relatório e sob a orientação e supervisão do Diretor de Estudo. 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 R. Fábria, 59 - S. Paulo - SP.

  
REGINA SAWAIA SÁFADI (PhD)  
Diretor de Estudo

19 / 12 / 03

\_\_\_\_\_  
PETROBRAS - PETRÓLEO BRASILEIRO S/A  
Patrocinador

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

## RESUMO

O objetivo deste estudo foi determinar a toxicidade aguda do FLUIDO DE PERFURAÇÃO CONVENCIONAL - 3.1 - AQUOSO (4611/2003) 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: 2400 ppm; 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 alii, 1977). A CL50; 96h da FSS, nas condições de teste, foi estimada em 61117 ppm, com intervalo de 95% de confiança de 45923 a 81340 ppm.

## ABSTRACT

This study was carried out to determine the acute toxicity to *Mysidopsis juniae* of the product FLUIDO DE PERFURAÇÃO CONVENCIONAL - 3.1 - AQUOSO (4611/2003). A 1:9 fluid to seawater mixture was prepared and the suspended particulate phase (SPP) solution was diluted to the following concentrations: 2400 ppm; 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 alii, 1977). Under the test conditions, the 96-h LC50 of the SPP was estimated in 61117 ppm, with 95% confidence limits of 45923 to 81340 ppm.

RL4611-03MYA

## INTRODUÇÃO

O objetivo deste estudo foi determinar a toxicidade aguda do FLUIDO DE PERFURAÇÃO CONVENCIONAL - 3. - AQUOSO para jovens *Mysidopsis juniae*, com base na mortalidade dos animais expostos a diversas concentrações do produto, após um período de exposição de 96 horas.

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, 1993).

## MATERIAIS E MÉTODOS

### 1. Substância-teste

A amostra de FLUIDO DE PERFURAÇÃO CONVENCIONAL - 3.1 - AQUOSO (Código Tecam 4611/2003) foi recebida no laboratório em 17/10/03, acondicionada em frasco plástico, sob refrigeração.

### 2. Sistema-teste

A espécie utilizada foi *Mysidopsis juniae* (Crustacea, Mysidacea) com idade entre 3 e 5 dias. Os jovens foram obtidos junto a um laboratório particular e aclimatados às condições do laboratório por no mínimo 24 horas antes do início do teste.

### 3. Água de diluição

Para diluição das soluções-teste foi utilizada água marinha sintética, preparada com água deionizada a partir de sal comercial marca CORAL REEF RED SEA SALT®, com salinidade entre 32 e 35 ‰. O preparo ocorreu no mínimo 24 horas antes de utilização no teste de toxicidade e a água foi mantida sob aeração intensa.

#### 4. 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 expõem 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.
- F. 2400 ppm: 2,4mL da FSS + água de diluição até 1000 mL.

#### 5. Condições de teste e procedimentos

Jovens com 3 a 5 dias idade foram transferidos aleatoriamente, com auxílio de uma pipeta Pasteur, para béqueres de 30 mL com pequeno 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 teve início em 20/10/03 e término em 24/10/03. A incubação foi feita sob temperatura média da água de  $25,0 \pm 0,5$  °C, em ambiente com fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas de escuro, com aeração suave e contínua em todos os frascos.

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 por frasco. 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. Também diariamente, foram realizadas análises de pH, salinidade e oxigênio dissolvido de uma réplica do controle e de cada concentração.

## 6. Análises estatísticas

A partir dos dados de mortalidade, deve ser estimada a concentração letal mediana (CL50), isto é, a concentração que causa efeitos letais a 50% dos organismos expostos após um período pré-estabelecido de exposição. A CL50 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).

## 7. Substância de referência

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 0,34 mg Zn/L, com limites de controle (média  $\pm$  2. desvio padrão) de 0,22 a 0,46 mg Zn/L.

## RESULTADOS

O resultado do teste com o FLUIDO DE PERFURAÇÃO CONVENCIONAL - 3. - AQUOSO está apresentado na Tabela , 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, 1993).

Nas concentrações superiores a 90000 ppm FSS, as soluções apresentaram turbidez elevada, impedindo a observação dos animais antes do final do teste.

Foi observado um aumento da mortalidade dos animais expostos com o aumento da concentração do produto. Na maior concentração testada (1000000 ppm FSS) foi registrada mortalidade de todos os animais. A concentração letal mediana da fase de sólidos suspensos do produto, nas condições de teste, foi estimada em 61117 ppm, com intervalo de 95% de confiança de 45923 a 81340 ppm.

### CONCLUSÃO

A toxicidade aguda da fase de sólidos suspensos (FSS) do FLUIDO DE PERFURAÇÃO CONVENCIONAL - 3.1 - AQUOSO para jovens *Mysidopsis juniae*, nas condições de teste, foi estimada em:

**CL50; 96 h = 61117 ppm FSS (45923 - 81340 ppm FSS)**

### 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 – Mortalidade e análises físicas e químicas (média ± desvio padrão) obtidas no teste de toxicidade aguda com *Mysidopsis juniae* para o produto FLUIDO DE PERFURAÇÃO CONVENCIONAL - 3.1 - AQUOSO, após 96 horas de exposição.

Concentração	Mortalidade (%)	pH	Salinidade (‰)	Oxigênio dissolvido (mg O <sub>2</sub> /L)
Controle	3	8,1 ± 0,3	32 ± 1	5,7 ± 0,5
2400 ppm FSS	3	8,1 ± 0,2	32 ± 2	5,6 ± 1,1
8000 ppm FSS	0	8,1 ± 0,2	33 ± 1	5,4 ± 0,8
27000 ppm FSS	13	8,1 ± 0,2	33 ± 0	5,4 ± 0,8
90000 ppm FSS	77	8,1 ± 0,2	33 ± 1	5,2 ± 1,1
300000 ppm FSS	90	8,0 ± 0,2	33 ± 1	5,1 ± 0,9
1000000 ppm FSS	100	8,0 ± 0,2	30 ± 0	5,5 ± 0,5

FSS: fase de sólidos suspensos.