

**Relatório Final**  
RL1023-04BDM  
24 de Março de 2004

**Título do Estudo**  
Teste De Biodegradabilidade Em Água Marinha  
para o **PRODUTO COMPOSTO PELA MISTURA DE BULAB 6094, BULAB 9602**  
**E FLUORENE R2 - CÓD LET: 27566**

**Patrocinador**  
PETROBRAS - PETRÓLEO BRASILEIRO S.A  
Av. Hum Quadra 7 s/nº Cidade Universitária  
Ilha do Fundão Rio de Janeiro - RJ  
21949-900

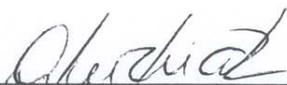
**Laboratório executor**  
TECAM Tecnologia Ambiental Ltda.  
R. Fábria, 59 - 05051-030.  
São Paulo, S.P.  
Fone: (55) (11) 3873-2553 – Fax: (55) (11) 3862-8954

## ÍNDICE

<b>DECLARAÇÃO DE CONFORMIDADE DO ESTUDO</b> .....	3
<b>RESUMO</b> .....	4
<b>ABSTRACT</b> .....	4
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	5
<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	5
1. Substância-teste.....	5
2. Sistema-teste.....	6
3. Água de diluição .....	6
4. Preparo das soluções.....	7
5. Condições de teste e procedimentos.....	8
6. Tratamento dos resultados .....	8
<b>RESULTADOS</b> .....	8
<b>CONCLUSÃO</b> .....	8
<b>REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA</b> .....	8
<b>TABELAS</b> .....	9
<b>FIGURAS</b> .....	10

**DECLARAÇÃO DE CONFORMIDADE DO ESTUDO**

O presente estudo com o **PRODUTO COMPOSTO PELA MISTURA DE BULAB 6094, BULAB 9602 E FLUORENE R2 - CÓD LET: 27566**, 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. Fábía, 59 - S. Paulo - SP.



ALICE FUMIE AITA  
**Diretor de Estudo**

24 / 03 / 04

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

   /   /

### RESUMO

O objetivo deste estudo foi determinar a biodegradabilidade do **PRODUTO COMPOSTO PELA MISTURA DE BULAB 6094, BULAB 9602 E FLUORENE R2 - CÓD LET: 27566** (1023/2004) em água marinha. A concentração 2 mg/L do produto apresentou biodegradação completa em meio marinho (100 % de biodegradação), após 1 a 2 dias do período total de 28 dias de incubação, sob temperatura de  $25 \pm 1$  °C e no escuro.

### ABSTRACT

This study was carried out to determine the biodegradability of the **PRODUTO COMPOSTO PELA MISTURA DE BULAB 6094, BULAB 9602 E FLUORENE R2 - CÓD LET: 27566** (1023/2004) in seawater. The concentration 2 mg/L of the sample was completely biodegradable in seawater (100 % of biodegradation) after 1 to 2 days after the total period of 28 days of incubation, under temperature of  $25 \pm 1$  °C in the dark.

RL1023-04BDM

## INTRODUÇÃO

O objetivo deste estudo foi avaliar a biodegradabilidade do **PRODUTO COMPOSTO PELA MISTURA DE BULAB 6094, BULAB 9602 E FLUORENE R2 - CÓD LET: 27566** 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.

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.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### 1. Substância-teste

A amostra composta pela mistura dos produtos **BULAB 6094, BULAB 9602 E FLUORENE R2 - CÓD LET: 2756** (Protocolo Nº 1023/2004) nas concentrações de 300 ppm, 200 ppm e 40 ppm, respectivamente (Informações fornecidas pelo solicitante) foi recebida no laboratório em 11/02/04, acondicionada em frasco plástico, sob refrigeração.

A demanda química de oxigênio (DQO) da amostra foi analisada em 10805 mg/kg.

### 2. Sistema-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 03/02/04, na praia de Baraqueçaba, na cidade de São Sebastião (SP). A qualidade desta água foi caracterizada através das seguintes análises:

- . Salinidade: 35 ‰
- . Demanda química de oxigênio (DQO): 752 mg/L
- . Nitrato: 0,4 mg/L
- . Amônia: < 0,01 mg/L
- . Fósforo total: 0,04 mg/L
- . Contagem padrão de bactérias: 65 UFC/mL

Após a coleta, a água foi mantida no laboratório por 8 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 11/02/2004 e término em 10/03/2004. 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 COMPOSTO PELA MISTURA DE BULAB 6094, BULAB 9602 E FLUORENE R2 - CÓD LET: 27566** estão apresentados nas Tabelas 1 e 2 e o consumo real de oxigênio de todas as soluções

RL1023-04BDM

preparadas está representado graficamente na Figura 1. Na Figura 2 está apresentada a curva de biodegradação do produto.

As soluções apresentaram valores iniciais de DQO similares, mas variação 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 não havia 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 49 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 1 a 2 dias de incubação (Figura 2). No final do período de 28 dias de incubação, a biodegradação do produto foi estimada em 1620 %.

## CONCLUSÃO

A concentração 2 mg/L do **PRODUTO COMPOSTO PELA MISTURA DE BULAB 6094, BULAB 9602 E FLUORENE R2 - CÓD LET: 27566** apresentou

biodegradação completa após 1 a 2 dias do período total de 28 dias de exposição em meio marinho.

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

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

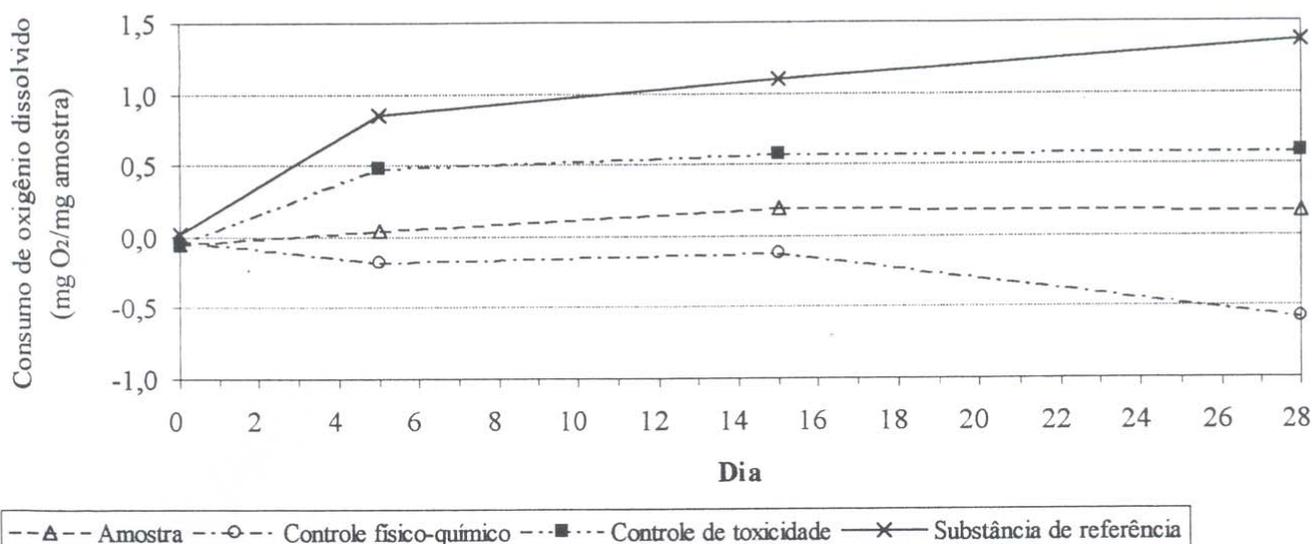
**Tabela 1** – Análises de demanda química de oxigênio inicial (DQO) e contagem padrão de bactérias das soluções preparadas para o Teste de Biodegradabilidade em Água Marinha para o **PRODUTO COMPOSTO PELA MISTURA DE BULAB 6094, BULAB 9602 E FLUORENE R2 - CÓD LET: 27566**.

Solução	DQO inicial (mg/L)	Contagem padrão de bactérias (UFC/mL)			
		Dia 0	Dia 5	Dia 15	Dia 28
Controle branco	1242	> 5600	1932	3808	> 5600
Amostra	728	910	105	310	2058
Controle físico-químico	925	< 1	< 1	< 1	< 1
Controle de toxicidade	802	1386	296	382	1512
Substância de referência	529	1400	1414	448	2030

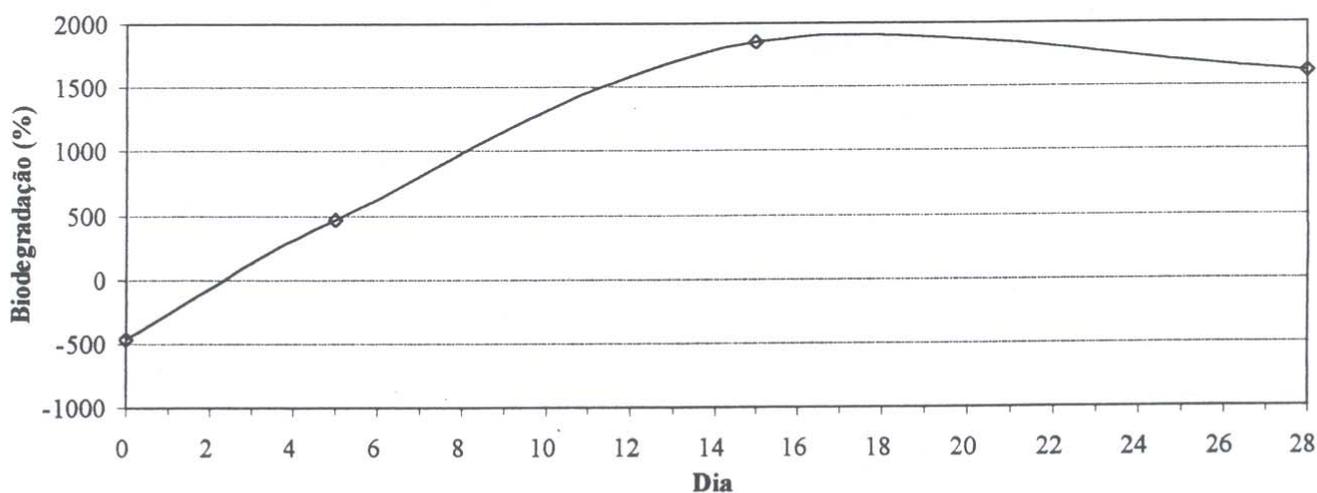
UFC = unidades formadoras de colônias.

**Tabela 2** – Consumo de oxigênio e biodegradação após 28 dias das soluções preparadas para o Teste de Biodegradabilidade em Água Marinha para o **PRODUTO COMPOSTO PELA MISTURA DE BULAB 6094, BULAB 9602 E FLUORENE R2 - CÓD LET: 27566**.

Solução	Consumo líquido de oxigênio (mg O <sub>2</sub> /mg de amostra)			Biodegradação (%)
	Dia 5	Dia 15	Dia 28	
Amostra	0,05	0,20	0,18	1620
Controle físico-químico	-0,18	-0,13	-0,58	-5322
Controle de toxicidade	0,48	0,58	0,59	35
Substância de referência	0,85	1,10	1,38	82



**Figura 1** - Consumo líquido de oxigênio dissolvido das soluções preparadas para o Teste de Biodegradabilidade em Água Marinha para o **PRODUTO COMPOSTO PELA MISTURA DE BULAB 6094, BULAB 9602 E FLUORENE R2 - CÓD LET: 27566.**



**Figura 2** - Curva de biodegradação em água marinha do **PRODUTO COMPOSTO PELA MISTURA DE BULAB 6094, BULAB 9602 E FLUORENE R2 - CÓD LET: 27566.**