

**TESTE DE TOXICIDADE COM O FLUIDO AQUOSO ISENTO DE SÓLIDOS  
(CÓD. 3.4.36.5 – SOLUÇÃO DE FORMIATO DE SÓDIO) UTILIZANDO  
*Mysidopsis juniae* (CRUSTACEA-MYSIDACEA)**

Solicitante:

Petróleo Brasileiro S.A. - PETROBRAS  
Rodovia Amaral Peixoto, 11.000 – Km 163  
Imboassica - Macaé - RJ  
CEP: 27925-290

Executado por:

LABTOX – Laboratório de Análise Ambiental Ltda  
Av. 24, s/nº - Pólo Bio-Rio - Laboratório 4  
Cidade Universitária – Ilha do Fundão  
Tel: (21) 3867-5651 / 3867-5501 ramal 220  
e-mail: [labtox@labtox.com.br](mailto:labtox@labtox.com.br)  
CEP: 21941-590

Teste 1410 MJA

Rio de Janeiro

h

## LAUDO DE TOXICIDADE

Órgão requisitante: Petróleo Brasileiro S.A. - PETROBRAS

Técnico requisitante: Hélio Gama

Endereço: Rodovia Amaral Peixoto, 11.000 – Km 163 - Imboassica - Macaé - RJ

Tel.: (22) 2761-2644/2761-9086

Avaliação solicitada: Teste de toxicidade aguda com microcrustáceo misidáceo

Organismo teste: *Mysidopsis juniae*

Tipo de teste: Agudo

Resposta do teste: Efeitos sobre a SOBREVIVÊNCIA

Identificação da amostra pelo solicitante: Fluido aquoso isento de sólidos

Código: 3.4.36.5 – Solução de Formiato de sódio

Data: não informado

Código de entrada no Labtox: L141004

Data de entrada no Labtox: 27/05/2004

RESULTADOS
CL(I)50; 96 horas: 76.291,87 ppm
Intervalo de confiança (IC: 68.546,74 – 84.912,13 ppm)
Sobrevivência no controle: 96,7%
Zinco: CL(I)50 = 0,38 mg.L <sup>-1</sup> (IC: 0,35 – 0,41 mg.L <sup>-1</sup> )

## 1 - OBJETIVO

O objetivo deste teste, realizado de 25 a 29 de junho de 2004, foi avaliar a toxicidade aguda do Fluido aquoso isento de sólidos (Cód. 3.4.36.5 – Solução de Formiato de sódio), sobre o microcrustáceo *Mysidopsis juniae*.

## 2 – METODOLOGIA

A determinação da toxicidade aguda em relação à *M. juniae* seguiu a metodologia descrita em Cetesb (1992), adaptada.

Jovens de *M. juniae* com 3 a 7 dias de idade, foram expostos a diferentes diluições do fluido, num sistema estático por um período de 96 horas.

A toxicidade foi medida em termos de efeitos sobre a sobrevivência, em leituras do teste a cada 24 horas.

### PREPARO DA AMOSTRA

A amostra do fluido foi mantida em temperatura aproximada de 4° C até a realização do teste e sua preparação foi realizada com base nas metodologias propostas por API (1984); Duke *et al.* (1984) e Veiga (1998). Assim, a amostra foi homogeneizada em misturador industrial por 30 minutos a uma velocidade de 1.500 rpm e preparou-se um extrato aquoso na proporção de 1:9, utilizando-se 600 mL da amostra homogeneizada e 5400 mL de água do mar. O extrato foi homogeneizado em misturador industrial por 5 minutos a 150 rpm e decantado por 1 hora. Após este período, a fração particulada suspensa (FPS) foi retirada e teve a salinidade ajustada de 67 para 34‰, resultando em uma solução-estoque de 507.333 ppm. A partir dessa solução foram preparadas as soluções-teste, sendo testadas as seguintes diluições: 991; 1.982; 3.964; 7.927; 15.854; 31.708; 63.417 e 126.833 ppm (fichas em anexo).

### VALIDADE DO TESTE

O teste é considerado válido quando o percentual de sobrevivência no controle é maior ou igual a 90%.

## CONTROLE DOS TESTES DE *Mysidopsis juniae*

Mensalmente é realizado um teste de toxicidade com o padrão, zinco (Zn), na forma de sulfato de zinco heptahidratado, com o objetivo de verificar se os organismos cultivados no Labtox estão respondendo dentro da faixa de toxicidade previamente estabelecida para a espécie pelo laboratório, que é de 0,21 a 0,41 mg/L.

O resultado da CL(I)50; 96h obtido no teste realizado, em junho de 2004, com o zinco foi 0,38 mg.L<sup>-1</sup> (IC: 0,35 – 0,41 mg.L<sup>-1</sup>).

## RESUMO DAS CONDIÇÕES DE TESTE

Tipo de teste:	agudo
Temperatura de incubação:	25 ± 1,0 °C
Luminosidade:	12 horas claro/12 horas escuro
Frasco teste:	béquer de 1.000 mL
Volume de solução teste:	1.000 mL
Origem dos organismos:	Cultivo Labtox
Idade dos organismos:	3 a 7 dias
Nº de organismos / frasco:	10
Nº de réplicas / diluição:	3
Nº de diluições:	8 + 1 controle *
Alimentação:	20 náuplios de <i>Artemia</i> sp. recém eclodidos / misidáceo / dia
Água de diluição:	água do mar natural filtrada
Salinidade da água:	35 ± 1‰
Duração do teste:	96 horas
Resposta:	mortalidade
Valor medido:	CL(I)50; 96h (concentração inicial letal a 50% dos organismos em teste em um período de 96h)
Método de cálculo:	Trimmed Spearman-Kärber (Hamilton <i>et al.</i> , 1977)

\* Controle: exposição do organismo à água de diluição (água do mar natural) nas mesmas condições da amostra.

## 3 - RESULTADOS

A tabela I apresenta o percentual de mortalidade e o número de misidáceos vivos durante a leitura realizada a cada 24 horas, nas diferentes diluições testadas. A CL(I)50;96h obtida com o Fluido aquoso isento de sólidos (Cód. 3.4.36.5 – Solução de Formiato de sódio), foi de 76.291,87 ppm (IC: 68.546,74 – 84.912,13 ppm) e a sobrevivência no controle foi de 96,7%.

Os valores de salinidade, pH e oxigênio dissolvido, medidos no início e no final do teste encontram-se listados nas fichas em anexo.

b

## ANÁLISE ESTATÍSTICA

Test Type: Agudo      Duration: 96 hours      Concentration Unit: ppm

Data Set is adjusted for control mortality using Abbott's correction.

Raw Data:

Concentration:	991	1.982	3.964	7.927	15.854	31.708	63.417	126.833
Number Exposed:	30	30	30	30	30	30	30	30
Mortalities:	1	1	0	1	2	1	8	30
Abbott's Corr. Morts.:	0	0	0	0	1	0	7	30

Control Group Number: 1

Number Exposed-Control: 10

Number Mortalities-Control: 0

Control Group Number: 2

Number Exposed-Control: 10

Number Mortalities-Control: 0

Control Group Number: 3

Number Exposed-Control: 10

Number Mortalities-Control: 1

SPEARMAN-KARBER TRIM: .00%

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: LC50: 76.291,87

95% Lower Confidence: 68.546,74      95% Upper Confidence: 84.912,13

## 4 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

American Petroleum Institute. 1984. Recommended practice. Standard procedure for liquid drilling fluid bioassays (Tentative). Washington (API RP 13H).

CETESB 1992. *Água do mar – Teste de toxicidade aguda com Mysidopsis juniae SILVA, 1979 (CRUSTACEA – MYSIDACEA)*. Norma Técnica L5.251. São Paulo, CETESB 19 p.

Duke, T.W.; Parrish, P.R.; Montgomery, R.M. Macauley, S.D.; Macauley, J.M.; Cripe, G.M. 1984. Acute toxicity of eight laboratory-prepared generic drilling fluids to mysids (*Mysidopsis bahia*). Gulf Breeze: Environmental Protection Agency. 4p (EPA-600/s3-84-067).

Hamilton, M.; Russo, R.C. & Thurston, R.V. Trimmed Spearman-Karber Method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environmental Science & Technology*, 1977, vol. 11, nº 7.

Veiga, L. F. 1998. Estudo da toxicidade marinha de fluidos de perfuração de poços de óleo e gás. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, 107p.

b

Tabela I - Resultados de sobrevivência e do percentual de mortalidade de misidáceos durante a leitura realizada a cada 24 horas, no teste conduzido com o Fluido aquoso isento de sólidos (Cód. 3.4.36.5 – Solução de Formiato de sódio).

Diluição (ppm)	Número de misidáceos vivos					Mortalidade após 96h (%)
	0 h	24h	48h	72h	96h	
Controle	10	10	10	10	10	3,3
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	9	
991	10	10	10	10	9	3,3
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
1.982	10	10	10	10	10	3,3
	10	10	10	9	9	
	10	10	10	10	10	
3.964	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
7.927	10	10	10	9	9	3,3
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
15.854	10	10	10	9	9	6,7
	10	10	10	9	9	
	10	10	10	10	10	
31.708	10	10	10	10	10	3,3
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	9	9	
63.417	10	10	10	9	8	26,7
	10	10	10	7	6	
	10	10	10	8	8	
126.833	10	10	8	0	0	100
	10	10	10	0	0	
	10	10	10	0	0	



## 5 - EQUIPE TÉCNICA:

### DIRETORAS:

MSc Leila Aparecida da Silva Kraus - CRB-2 - 12156/02

Dra. Marcia Vieira Reynier - CRB-2 - 07135/02

Dra. Maria Cristina da Silva Maurat - CRB-2 - 12671/02

### BIÓLOGAS:

Carina C. Gomes Machado - CRB-2 – 32963/02

Desideria Lima Calleja - CRB-2 – 38219/02 P

AUXILIAR DE ANÁLISE: Viviane Euzébio Luiz

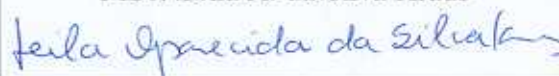
ELABORADO POR:

Dra. Marcia Vieira Reynier



REVISADO POR:

MSc. Leila A. da Silva Kraus



Rio de Janeiro, 30 de junho de 2004.

Data Início: 25 / 06 / 04 Hora: 12:40 Término: 29 / 06 / 04

Organismo-teste: *A. baumannii* Operador(es): Deivane

Tipo de amostra: Fluido Cód. entrada L141004 Salinidade: 67 ‰ pH 6,59

Solução-estoque: 400 mL (mg) da substância (amostra bruta) + 3600 mL de água de diluição

Concentração final da solução-estoque: 1.000.000 ppm (mg/L, %)

Ajuste da salinidade: Vol. água destilada 2956 mL Vol. de salmoura: — mL

Vol. amostra 3044 mL Salinidade final da amostra 34 ‰ Conc. final da amostra: 507.333

Salmoura: Método: — Salinidade: — ‰ pH: —

Ajuste do pH: — µL de HCl — µL de NaOH pH final: —

Água de diluição: Lote: 020 Salinidade: 35 ‰ pH: 8,03 OD: 5,03 mg.L<sup>-1</sup>

Origem dos organismos: Cultivo Labtox : Lote: MJ 160A e 161A Idade: 307 dias

Teste: Com aeração () Sem aeração () Estático () Semi-estático () renovação: — h

Vol. da solução-teste por béquer: 1000 mL N° de organismos por béquer: 10

N° de réplicas por diluição: 3

Manutenção do teste: Temperatura 25±1°C Fotoperíodo: 12:12 h

PREPARO DAS SOLUÇÕES-TESTE:			Vol. 3000 mL
Diluição	Vol. sol. estoque mL	Vol. água de diluição mL	Béquer nº
<u>20</u>	<u>—</u>	<u>3000</u>	<u>133 - 135</u>
<u>991</u>	<u>586</u>	<u>2009,19 mL</u>	<u>136 - 138</u>
<u>1.982</u>	<u>1172</u>	<u>2988,3</u>	<u>139 - 141</u>
<u>3.964</u>	<u>2344</u>	<u>2976,6</u>	<u>142 - 144</u>
<u>7.927</u>	<u>4687</u>	<u>2953,13</u>	<u>145 - 147</u>
<u>15.854</u>	<u>9375</u>	<u>2806,8</u>	<u>148 - 150</u>
<u>31.708</u>	<u>1875</u>	<u>2812,5</u>	<u>151 - 153</u>
<u>63.417</u>	<u>375</u>	<u>2625</u>	<u>154 - 156</u>
<u>126833</u>	<u>750</u>	<u>2250</u>	<u>157 - 159</u>

OBS:

Nas diluições 507333 ppm e 253667 ppm os organismos não foram detectados durante a incubação do teste.



ACOMPANHAMENTO DO TESTE

béquer nº	Nº de org. mortos				béquer nº	Nº de org. mortos			
	24h	48h	72h	96h		24h	48h	72h	96h
133	∅	∅	∅	∅	148	∅	∅	1	∅
134	∅	∅	∅	∅	149	∅	∅	1	∅
135	∅	∅	∅	1	150	∅	∅	∅	∅
136	∅	∅	∅	1	151	∅	∅	∅	∅
137	∅	∅	∅	∅	152	∅	∅	∅	∅
138	∅	∅	∅	∅	153	∅	∅	1	∅
139	∅	∅	∅	∅	154	∅	∅	1	1
140	∅	∅	1	∅	155	∅	∅	3	1
141	∅	∅	∅	∅	156	∅	∅	2	∅
142	∅	∅	∅	∅	157	∅	2	8	—
143	∅	∅	∅	∅	158	∅	∅	10	—
144	∅	∅	∅	∅	159	∅	∅	10	—
145	∅	∅	1	∅					
146	∅	∅	∅	∅					
147	∅	∅	∅	∅					

Vol. da sol. de *Artêmia* sp.: 0h 35 µL 24h 45 µL 48h 40 µL 72h 31 µL

PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS DAS SOLUÇÕES-TESTE

Sobrevivência no controle: 96,7%

Diluição (ppm)	Total de mortos	Mortalidade (%)	Início			Término			Béquer nº
			S %	OD (mg.L <sup>-1</sup> )	pH	S %	OD (mg.L <sup>-1</sup> )	pH	
0,0	1	3,3	35	4,96	8,03	35	5,20	8,18	135
991	1	3,3	34	5,03	8,01	35	4,90	8,17	136
1982	1	3,3	34	4,96	8,08	35	3,42	8,17	140
3964	∅	∅	34	4,86	8,09	35	5,08	8,18	144
7927	1	3,3	34	4,79	8,07	35	4,57	8,29	148
15854	2	6,7	34	4,94	8,07	35	4,05	8,22	157
31708	1	3,3	34	5,07	8,06	35	4,52	8,18	151
63417	8	26,7	34	5,01	8,05	35	5,08	8,22	155
126833	30	100	34	4,99	8,01	35	5,12	8,08	157
31708							4,97	8,09	153

145 mmol  
148 mmol