

**TESTE DE TOXICIDADE COM O FLUIDO AQUOSO ISENTO DE SÓLIDOS
(CÓD. 3.4.36.3 – 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
CEP: 21941-590

Teste 1414 MJA

Rio de Janeiro

5

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: 3.4.36.3 – Solução de Formiato de sódio

Data: não informado

Código de entrada no Labtox: L141404

Data de entrada no Labtox: 27/05/2004

RESULTADOS
CL(I)50; 96 horas: 38.411,82 ppm
Intervalo de confiança (IC: 33.085,89 – 44.595,07 ppm)
Sobrevivência no controle: 93,3%
Zinco: CL(I)50 = 0,38 mg.L ⁻¹ (IC: 0,35 – 0,41 mg.L ⁻¹)

b

1 - OBJETIVO

O objetivo deste teste, realizado de 22 a 26 de junho de 2004, foi avaliar a toxicidade aguda do Fluido aquoso isento de sólidos (Cód. 3.4.36.3 – 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 2 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 58 para 35‰, resultando em uma solução-estoque de 586.833 ppm, que teve o pH ajustado de 6,79 para 8,04 com 5,1 mL de NaOH. A partir dessa solução foram preparadas as soluções-teste, sendo testadas as seguintes diluições: 287; 573; 1.146; 2.292; 4.585; 9.169; 18.339 e 36.677 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%.

b

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⁻¹ (IC: 0,35 – 0,41 mg.L⁻¹).

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: 2 a 7 dias
Nº de organismos / frasco: 10
Nº de réplicas / diluição: 3
Nº de diluições: 8 + 1 controle *
Alimentação: 20 náuplios de *Artemia* 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 *et al.*, 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. 3.4.36.3 – Solução de Formiato de sódio), foi de 38.411,82 ppm (IC: 33.085,89 – 44.595,07 ppm) e a sobrevivência no controle foi de 93,3%.

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

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:	287	573	1146	2292	4585	9169	18339	36677	73354
Number Exposed:	30	30	30	30	30	30	30	30	30
Mortalities:	1	1	2	4	2	5	4	9	30
Abbott's Corr. Morts.:	0	0	0	2	0	3	2	8	30

Control Group Number: 1

Number Exposed-Control: 10

Number Mortalities-Control: 0

Control Group Number: 2

Number Exposed-Control: 10

Number Mortalities-Control: 1

Control Group Number: 3

Number Exposed-Control: 10

Number Mortalities-Control: 1

SPEARMAN-KARBER TRIM: .00%

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: LC50: 38.411,82

95% Lower Confidence: 33.085,89 95% Upper Confidence: 44.595,07

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.

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. 3.4.36.3 – 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	6,7
	10	9	9	9	9	
	10	10	10	9	9	
287	10	10	10	10	10	3,3
	10	10	10	10	10	
	10	9	9	9	9	
573	10	10	10	10	10	3,3
	10	10	10	10	10	
	10	9	9	9	9	
1.146	10	10	9	9	9	6,7
	10	10	10	9	9	
	10	10	10	10	10	
2.292	10	10	10	9	9	13,3
	10	10	10	10	9	
	10	9	9	9	8	
4.585	10	10	9	9	9	6,7
	10	10	10	10	10	
	10	9	9	9	9	
9.169	10	10	10	9	9	16,7
	10	9	7	6	6	
	10	10	10	10	10	
18.339	10	10	10	10	8	13,3
	10	10	10	10	10	
	10	10	9	8	8	
36.677	10	9	9	9	9	30
	10	10	8	7	6	
	10	9	7	7	6	
73.354	10	0	0	0	0	100
	10	0	0	0	0	
	10	0	0	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

Marcia Vieira Reynier

REVISADO POR:

MSc. Leila A. da Silva Kraus

Leila Aparecida da Silva Kraus

Rio de Janeiro, 28 de junho de 2004.

Data Início: 22 / 06 / 04 Hora: 10:20 Término: 26 / 06 / 04

Organismo-teste: V. fumea Operador(es): Juicane

Tipo de amostra: Fluido Cód. entrada L141404 Salinidade: 5% pH 6,77 ^{-após ajuste}
Solução-estoque: 400 mL (mg) da substância (amostra bruta) + 3600 mL de água de diluição
Concentração final da solução-estoque: 5.000.000 ppm (mg/L, %) ~~(mg/L, %)~~

Ajuste da salinidade: Vol. água destilada 2479 mL Vol. de salmoura: — mL
Vol. amostra 3521 mL Salinidade final da amostra 35 ‰ Conc. final da amostra: 586.833 ppm
Salmoura: Método: — Salinidade: — ‰ pH: —

Ajuste do pH: — µL de HCl 5,4 ^{mL} µL de NaOH pH final: 8,04
Água de diluição: Lote: 020 Salinidade: 34 ‰ pH: 8,23 OD: 4,66 mg.L⁻¹
Origem dos organismos: Cultivo Labtox : Lote: M3159A e M3160B Idade: 2 a 7 dias
Teste: Com aeração (x) Sem aeração () Estático (x) 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. <u>3000</u> mL
Diluição <u>ppm</u>	Vol. sol. estoque mL	Vol. água de diluição mL	Béquer n°
<u>0,0</u>	<u>—</u>	<u>3.000</u>	<u>1-3</u>
<u>287</u>	<u>146</u>	<u>2.993,54</u>	<u>4-6</u>
<u>573</u>	<u>293</u>	<u>2.997,07</u>	<u>7-9</u>
<u>1.146</u>	<u>586</u>	<u>2.994,14</u>	<u>10-12</u>
<u>2.292</u>	<u>1172</u>	<u>2.988,3</u>	<u>13-15</u>
<u>4.585</u>	<u>2344</u>	<u>2.976,6</u>	<u>16-18</u>
<u>9.169</u>	<u>4688</u>	<u>2.953,12</u>	<u>19-21</u>
<u>18.339</u>	<u>9375</u>	<u>2.906,25</u>	<u>22-24</u>
<u>36.677</u>	<u>1875</u>	<u>2.812,5</u>	<u>25-27</u>
<u>73.354</u>	<u>375</u>	<u>2.625</u>	<u>28-30</u>

OBS:

Nas diluições 73.354, 146.708, 293.417 e 586.833 ppm os organismos morreram durante a montagem do teste.

ACOMPANHAMENTO DO TESTE

béquero nº	Nº de org. mortos				béquero nº	Nº de org. mortos									
	24h	48h	72h	96h		24h	48h	72h	96h						
1	0	0	0	0	18	1	0	0	0						
2	1	0	0	0	19	0	0	1	0						
3	0	0	1	0	20	1	2	1	0						
4	0	0	0	0	21	0	0	0	0						
5	0	0	0	0	22	0	0	0	2						
6	1	0	0	0	23	0	0	0	0						
7	0	0	0	0	24	0	1	1	0						
8	0	0	0	0	25	1	0	0	0						
9	1	0	0	0	26	0	2	1	1						
10	0	1	0	0	27	1	2	0	1						
11	0	0	1	0	28	10	-----								
12	0	0	0	0	29	10	-----								
13	0	0	1	0	30	10	-----								
14	0	0	0	1	/										
15	1	0	0	1											
16	0	1	0	0											
17	0	0	0	0											
Vol. da sol. de <i>Artêmia</i> sp.: 0h					20	µL	24h	51	µL	48h	47	µL	72h	35	µL

PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS DAS SOLUÇÕES-TESTE

Sobrevivência no controle: 93,3 %

Diluição (ppm)	Total de mortos	Mortalidade (%)	Início			Término			Béquero nº
			S %	OD (mg.L ⁻¹)	pH	S %	OD (mg.L ⁻¹)	pH	
0,0	2	6,7	34	4,66	8,23	34	4,60	8,18	1
287	1	3,3	34	5,03	8,23	34	3,80	8,22	4
573	1	3,3	34	4,90	8,24	34	4,00	8,20	7
1.146	2	6,7	34	4,99	8,26	34	4,16	8,34	10
2.292	4	13,3	34	4,95	8,26	34	4,31	8,26	13
4.585	2	6,7	34	5,01	8,26	34	3,61	8,12	16
9.169	5	16,7	34	4,93	8,28	34	3,99	8,20	19
18.339	4	13,3	34	4,91	8,28	34	3,94	8,09	22
36.677	9	30	34	5,01	8,27	34	3,85	8,11	25
73.354	30	100	34	5,02	8,20	-----			