

**TESTE DE TOXICIDADE COM O FLUIDO AQUOSO ISENTO DE SÓLIDOS  
(CÓD. 3.4.36.2 – 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 1412 MJA

Rio de Janeiro

↓

## 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: 3.4.36.2 – Solução de Formiato de sódio

Data: não informado

Código de entrada no Labtox: L141204

Data de entrada no Labtox: 27/05/2004

RESULTADOS
CL(I)50; 96 horas: 93.994,73 ppm
Intervalo de confiança (IC: 85.094,91 – 103.825,35 ppm)
Sobrevivência no controle: 100 %
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 18 a 22 de junho de 2004, foi avaliar a toxicidade aguda do Fluido aquoso isento de sólidos (Cód. 3.4.36.2 – 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 4 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 57 para 34‰, resultando em uma solução-estoque de 596.833 ppm, que teve o pH ajustado de 7,38 para 8,03 com 1,1 mL de NaOH. A partir dessa solução foram preparadas as soluções-teste, sendo testadas as seguintes diluições: 1.166; 2.331; 4.663; 9.326; 18.651; 37.302; 74.604 e 149.208 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: .....2 a 4 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. 3.4.36.2 – Solução de Formiato de sódio), foi de 93.994,73 ppm (IC: 85.094,91 – 103.825,35 ppm) e a sobrevivência no controle foi de 100%.

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

Raw Data:

Concentration: 1.166 2.331 4.663 9.323 18.651 37.302 74.604 149.208

Number Exposed: 30 30 30 30 30 30 30 30

Mortalities: 0 0 0 0 1 1 3 30

SPEARMAN-KARBER TRIM: .00%

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: LC50: 93.994,73

95% Lower Confidence: 85.094,91 95% Upper Confidence: 103.825,35

## 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. 3.4.36.2 – 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	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
1.166	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
2.331	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
4.663	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
9.326	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
18.651	10	10	10	10	10	3,3
	10	10	10	9	9	
	10	10	10	10	10	
37.302	10	10	10	10	10	3,3
	10	10	10	10	10	
	10	9	9	9	9	
74.604	10	10	10	9	9	10
	10	9	9	9	8	
	10	10	10	10	10	
149.208	10	0	0	0	0	100
	10	1	1	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

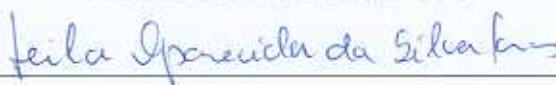
ELABORADO POR:

Dra. Marcia Vieira Reynier



REVISADO POR:

MSc. Leila A. da Silva Kraus



Rio de Janeiro, 24 de junho de 2004.

Data Início: 18 / 06 / 04 Hora: 09:30 Término: 22 / 06 / 04

Organismo-teste: n. junias Operador(es): Jaiane

Tipo de amostra: Solúcio Cód. entrada L1412.04 Salinidade: 57 ‰ pH 7,32

Solução-estoque: 600 mL (mg) da substância (amostra bruta) + 5400 mL de água de diluição

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

Ajuste da salinidade: Vol. água destilada 2419 mL Vol. de salmoura: — mL

Vol. amostra 3581 mL Salinidade final da amostra 34 ‰ Conc. final da amostra: 596.833

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

Ajuste do pH: — µL de HCl 4,1 µL de NaOH pH final: 8,03

Água de diluição: Lote: 020 Salinidade: 34 ‰ pH: 8,09 OD: 4,42 mg.L<sup>-1</sup>

Origem dos organismos: Cultivo Labtox Lote: MS158A Idade: 2 a 4 dias

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

Vol. da solução-teste por béquero: 1000 mL N° de organismos por béquero: 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 ppm	Vol. sol. estoque mL	Vol. água de diluição mL	Béquero n°
0,0	—	3000	28 - 30
1166	5,86	2994,14	31 - 33
2331	11,72	2988,3	34 - 36
4663	23,44	2976,6	37 - 39
9326	46,88	2953,1	40 - 42
18651	93,75	2906,2	43 - 45
37302	187,5	2812,5	46 - 48
74604	375	2625	49 - 51
149.208	750	2250	52 - 54

OBS:

Nas diluições de 298.416 e 596.833 ppm, os organismos morreram durante a montagem do teste.



## ACOMPANHAMENTO DO TESTE

bêquer nº	Nº de org. mortos				bêquer nº	Nº de org. mortos			
	24h	48h	72h	96h		24h	48h	72h	96h
28	∅	∅	∅	∅	45	∅	∅	∅	∅
29	∅	∅	∅	∅	46	∅	∅	∅	∅
30	∅	∅	∅	∅	47	∅	∅	∅	∅
31	∅	∅	∅	∅	48	1	∅	∅	∅
32	∅	∅	∅	∅	49	∅	∅	1	∅
33	∅	∅	∅	∅	50	1	∅	∅	1
34	∅	∅	∅	∅	51	∅	∅	∅	∅
35	∅	∅	∅	∅	52	10	—		
36	∅	∅	∅	∅	53	9	∅	1	—
37	∅	∅	∅	∅	54	10	—		
38	∅	∅	∅	∅					
39	∅	∅	∅	∅					
40	∅	∅	∅	∅					
41	∅	∅	∅	∅					
42	∅	∅	∅	∅					
43	∅	∅	∅	∅					
44	∅	∅	1	∅					

Vol. da sol. de *Artêmia* sp.: 0h 55 µL 24h 36 µL 48h 24 µL 72h 24 µL

## PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS DAS SOLUÇÕES-TESTE

Sobrevivência no controle: 100 %

Diluição (ppm)	Total de mortos	Mortalidade (%)	Início			Término			Bêquer nº
			S ‰	OD (mg.L <sup>-1</sup> )	pH	S ‰	OD (mg.L <sup>-1</sup> )	pH	
0,0	∅	∅	35	4,42	8,09	35	4,98	8,13	28
1166	∅	∅	35	4,73	8,10	35	4,62	8,28	31
2331	∅	∅	35	4,54	8,12	35	4,14	8,19	34
4663	∅	∅	35	4,63	8,13	35	4,60	8,35	37
9323	∅	∅	35	4,71	8,12	35	4,37	8,27	40
18651	1	3,3	35	4,81	8,12	35	4,33	8,23	44
37302	1	3,3	35	4,66	8,11	35	4,19	8,20	48
74604	3	10	35	4,62	8,08	35	4,82	8,25	50
149208	30	100	35	4,68	8,04	35	4,03	7,94	53