

**TESTE DE TOXICIDADE COM O FLUIDO AQUOSO ISENTO DE SÓLIDOS
(CÓD. 3.4.36.1 – 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 1411 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: 3.4.36.1 – Solução de Formiato de sódio

Data: não informado

Código de entrada no Labtox: L141104

Data de entrada no Labtox: 27/05/2004

RESULTADOS
CL(I)50; 96 horas: 103.530,24 ppm
Intervalo de confiança (IC: 86.507,36 – 123.902,86 ppm)
Sobrevivência no controle: 96,7 %
Zinco: CL(I)50 = 0,38 mg.L ⁻¹ (IC: 0,35 – 0,41 mg.L ⁻¹)

1 - OBJETIVO

O objetivo deste teste, realizado de 15 a 19 de junho de 2004, foi avaliar a toxicidade aguda do Fluido aquoso isento de sólidos (Cód. 3.4.36.1 – 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 5 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 7,13 para 8,27 com 4 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⁻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 5 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. 3.4.36.1 – Solução de Formiato de sódio), foi de 103.530,24 ppm (IC: 86.507,36 – 123.902,86 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.

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:	1.166	2.331	4.663	9.326	18.651	37.302	74.604	149.208
Number Exposed:	30	30	30	30	30	30	30	30
Mortalities:	1	2	3	1	1	0	6	26
Abbott's Corr. Morts.:	0	1	2	0	0	0	5	26
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:			0					
SPEARMAN-KARBER TRIM:				13.33%				
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES:				LC50:	103.530,24			
95% Lower Confidence:			86.507,36		95% Upper Confidence:	123.902,86		

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. 3.4.36.1 – 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	9	9	
	10	10	10	10	10	
1.166	10	10	10	10	10	3,3
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	9	
2.331	10	10	10	10	10	6,7
	10	10	9	9	9	
	10	10	10	10	9	
4.663	10	10	9	9	9	10
	10	10	10	10	9	
	10	10	9	9	9	
9.326	10	10	10	9	9	3,3
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
18.651	10	10	10	10	10	3,3
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	9	
37.302	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
74.604	10	10	9	9	7	20
	10	10	10	10	10	
	10	9	7	7	7	
149.208	10	6	4	4	2	86,6
	10	8	6	3	2	
	10	0	0	0	0	

b

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, 24 de junho de 2004.

Data Início: 15 / 06 / 04 Hora: 10:00 Término: 19 / 06 / 04

Organismo-teste: H. quercus Operador(es): DESIDERIA

Tipo de amostra: Fenido Cód. entrada L141104 Salinidade: 57 ‰ pH 7,08 ^{de} 7,13 ^{após ajuste de salinidade}

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

Concentração final da solução-estoque: 100000 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 4000 µL de NaOH pH final: 8,27

Água de diluição: Lote: 020 Salinidade: 34 ‰ pH: 8,28 OD: 5,31 mg.L⁻¹

Origem dos organismos: Cultivo Labtox Lote: MJ156-A Idade: 2 as duas

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. 3000 mL
Diluição ppm	Vol. sol. estoque mL	Vol. água de diluição mL	Béquero n°
0,0	-	3000	1-3
1.166	5,86	2994,14	4-6
2.331	11,72	2988,3	7-9
4.663	23,44	2976,6	10-12
9326	46,88	2953,1	13-15
18.651	93,75	2906,2	16-18
37.302	187,5	2812,5	19-21
74.604	375	2625	22-24
149.208	750	2250	25-27

OBS:

Nas diluições de 298416,6 e 596.833 ppm os organismos morreram durante a montagem do teste

Teste 1411 Mjca

ACOMPANHAMENTO DO TESTE

bêquer nº	Nº de org. mortos				bêquer nº	Nº de org. mortos			
	24h	48h	72h	96h		24h	48h	72h	96h
1	∅	∅	∅	∅	18	∅	∅	∅	1
2	∅	∅	↓	∅	19	∅	∅	∅	∅
3	∅	∅	∅	∅	20	∅	∅	∅	∅
4	∅	∅	∅	∅	21	∅	∅	∅	∅
5	∅	∅	∅	∅	22	∅	1	∅	2
6	∅	∅	∅	1	23	∅	∅	∅	∅
7	∅	∅	∅	∅	24	∅	2	∅	∅ μ l
8	∅	1	∅	∅	25	4	2	∅	2
9	∅	∅	∅	1	26	2	2	3	1 μ l
10	∅	1	∅	∅	27	10	←		
11	∅	∅	∅	1					
12	∅	1	∅	∅					
13	∅	∅	1	∅					
14	∅	∅	∅	∅					
15	∅	∅	∅	∅					
16	∅	∅	∅	∅					
17	∅	∅	∅	∅					

Vol. da sol. de *Artêmia* sp.: 0h 28 μ l 24h 16 μ l 48h 40 μ l 72h 55 μ l

PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS DAS SOLUÇÕES-TESTE

Sobrevivência no controle: 96,7%

Diluição (ppm)	Total de mortos	Mortalidade (%)	Início			Término			Bêquer nº
			S %	OD (mg L ⁻¹)	pH	S %	OD (mg L ⁻¹)	pH	
0,0	1	3,3	34	5,31	8,22	35	4,37	8,25	02
1166	1	3,3	34	5,30	8,19	35	4,50	8,29	06
2331	2	6,7	34	5,41	8,19	35	4,32	8,22	08
4.663	3	10	34	5,31	8,27	35	4,50	8,31	10
9.326	1	3,3	34	5,54	8,20	35	4,40	8,17	13
18.651	1	3,3	34	5,39	8,17	35	4,52	8,26	18
37.302	∅	∅	34	5,33	8,10	35	4,38	8,19	19
74.604	6	20	34	5,21	8,19	35	4,28	8,10	24
149.208	26	86,6	34	5,27	8,13	35	3,91	8,09	26