

**TESTE DE TOXICIDADE COM O FLUIDO AQUOSO ISENTO DE SÓLIDOS
(CÓD. 3.4.36.4 – 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 1413 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: 3.4.36.4 – Solução de Formiato de sódio

Data: não informado

Código de entrada no Labtox: L141304

Data de entrada no Labtox: 27/05/2004

| RESULTADOS |
|--|
| CL(I)50; 96 horas: 56.892,96 ppm |
| Intervalo de confiança (IC: 48.833,85 – 66.282,09 ppm) |
| Sobrevivência no controle: 100 % |
| 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 18 a 22 de junho de 2004, foi avaliar a toxicidade aguda do Fluido aquoso isento de sólidos (Cód. 3.4.36.4 – 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 61 para 34‰, resultando em uma solução-estoque de 557.500 ppm, que teve o pH ajustado de 6,84 para 8,15 com 3,65 mL de NaOH. A partir dessa solução foram preparadas as soluções-teste, sendo testadas as seguintes diluições: 1.089; 2.178; 4.355; 8.711; 17.422; 34.844; 69.688 e 139.375 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 4 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. 3.4.36.4 – Solução de Formiato de sódio), foi de 56.892,96 ppm (IC: 48.833,85 – 66.282,09 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: 1089 2178 4355 8711 17422 34844 69688 139.375
Number Exposed: 30 30 30 30 30 30 30 30
Mortalities: 1 1 0 0 2 2 21 30
SPEARMAN-KARBER TRIM: 3.33%
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: LC50: 56.892,96
95% Lower Confidence: 48.833,85 95% Upper Confidence: 66.282,09

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. 3.4.36.4 – 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 | |
| 1.089 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 3,3 |
| | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | |
| | 10 | 10 | 10 | 9 | 9 | |
| 2.178 | 10 | 10 | 10 | 9 | 9 | 3,3 |
| | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | |
| | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | |
| 4.355 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 0 |
| | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | |
| | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | |
| 8.711 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 0 |
| | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | |
| | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | |
| 17.422 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 6.7 |
| | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | |
| | 10 | 9 | 9 | 8 | 8 | |
| 34.844 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 6.7 |
| | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | |
| | 10 | 10 | 10 | 9 | 8 | |
| 69.688 | 10 | 4 | 4 | 2 | 2 | 70 |
| | 10 | 10 | 10 | 9 | 7 | |
| | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 139.375 | 10 | 2 | 1 | 0 | 0 | 100 |
| | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | 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:

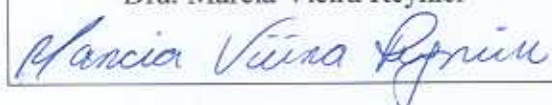
Carina C. Gomes Machado - CRB-2 – 32963/02

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

AUXILIAR DE ANÁLISE: Viviane Euzébio Luiz

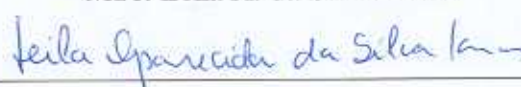
ELABORADO POR:

Dra. Marcia Vieira Reynier



REVISADO POR:

MSc. Leila A. da Silva Kraus



Rio de Janeiro, 24 de junho de 2004.

Data Início: 18 / 06 / 04 Hora: 10:00 Término: 22 / 06 / 04

Organismo-teste: P. jinniae Operador(es): Juiana

Tipo de amostra: Fluido Cód. entrada L141304 Salinidade: 61 ‰ pH 6,84

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 2655 mL Vol. de salmoura: — mL

Vol. amostra 3345 mL Salinidade final da amostra 34 ‰ Conc. final da amostra: 557.500

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

Ajuste do pH: — µL de HCl 3,65 µL de NaOH pH final: 8,15

Água de diluição: Lote: 020 Salinidade: 34 ‰ pH: 8,09 OD: 4,42 mg.L⁻¹

Origem dos organismos: Cultivo Labtox Lote: M5158A Idade: 2 a 4 dias

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

Vol. da solução-teste por béquer: 3000 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 ppm | Vol. sol. estoque mL | Vol. água de diluição mL | Béquer n° |
| <u>0,0</u> | <u>—</u> | <u>3000</u> | <u>29 - 30</u> |
| <u>1099</u> | <u>586</u> | <u>2994,14</u> | <u>55 - 57</u> |
| <u>2178</u> | <u>1172</u> | <u>2988,3</u> | <u>59 - 60</u> |
| <u>4355</u> | <u>2344</u> | <u>2976,6</u> | <u>61 - 63</u> |
| <u>8711</u> | <u>4688</u> | <u>2953,12</u> | <u>64 - 66</u> |
| <u>17422</u> | <u>9375</u> | <u>2906,25</u> | <u>67 - 69</u> |
| <u>34844</u> | <u>1875</u> | <u>2812,5</u> | <u>70 - 72</u> |
| <u>69688</u> | <u>375</u> | <u>2625</u> | <u>73 - 75</u> |
| <u>139375</u> | <u>750</u> | <u>2250</u> | <u>76 - 78</u> |

OBS:

Nas diluições de 278 750 e 557.500 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 | | |
| 28 | 0 | 0 | 0 | 0 | 69 | 1 | 0 | 1 | 0 | | |
| 29 | 0 | 0 | 0 | 0 | 70 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| 30 | 0 | 0 | 0 | 0 | 71 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| 55 | 0 | 0 | 0 | 0 | 72 | 0 | 0 | 1 | 1 | | |
| 56 | 0 | 0 | 0 | 0 | 73 | 6 | 0 | 2 | 0 | | |
| 57 | 0 | 0 | 1 | 0 | 74 | 0 | 0 | 1 | 2 | | |
| 58 | 0 | 0 | 1 | 0 | 75 | 10 | ————— UR | | | | |
| 59 | 0 | 0 | 0 | 0 | 76 | 8 | | | | 1 | 1 |
| 60 | 0 | 0 | 0 | 0 | 77 | 10 | | | | ————— | |
| 61 | 0 | 0 | 0 | 0 | 78 | 10 | | | | ————— | |
| 62 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | |
| 63 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | |
| 64 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | |
| 65 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | |
| 66 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | |
| 67 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | |
| 68 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | |

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 | | | Béquero nº |
|----------------|-----------------|-----------------|--------|--------------------------|------|---------|--------------------------|------|------------|
| | | | S % | OD (mg.L ⁻¹) | pH | S % | OD (mg.L ⁻¹) | pH | |
| 0,0 | 0 | 0 | 35 | 4,42 | 8,09 | 35 | 4,98 | 8,13 | 28 |
| 1089 | 1 | 3,3 | 35 | 4,68 | 8,12 | 35 | 4,56 | 8,31 | 57 |
| 2178 | 1 | 3,3 | 35 | 4,72 | 8,11 | 35 | 4,12 | 8,33 | 58 |
| 4355 | 0 | 0 | 35 | 4,74 | 8,09 | 35 | 4,49 | 8,29 | 61 |
| 8711 | 0 | 0 | 35 | 4,72 | 8,11 | 35 | 4,65 | 8,31 | 64 |
| 17422 | 2 | 6,7 | 35 | 4,76 | 8,11 | 35 | 4,31 | 8,28 | 69 |
| 34844 | 2 | 6,7 | 35 | 4,76 | 8,09 | 35 | 4,40 | 8,15 | 72 |
| 69688 | 21 | 70 | 35 | 4,75 | 8,09 | 35 | 4,15 | 8,23 | 73 |
| 139375 | 30 | 100 | 35 | 4,79 | 8,04 | 35 | 4,26 | 7,80 | 76 |
| 69688 | — | — | — | — | — | 35 | 4,67 | 8,23 | 74 |