

**TESTE DE TOXICIDADE COM O FLUIDO AQUOSO ISENTO DE SÓLIDOS  
(CÓD. 3.4.29 – SOLUÇÃO DE CACL<sub>2</sub>) 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 1372 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: 3.4.29 – Solução de CaCl<sub>2</sub>

Data: 17/05/2004

Código de entrada no Labtox: L137204

Data de entrada no Labtox: 18/05/2004

RESULTADOS
CL(I)50; 96 horas: 197.916,75 ppm
Intervalo de confiança (IC: 174.390,19 - 224.617,22 ppm)
Sobrevivência no controle: 100 %
Zinco: CL(I)50 = 0,39 mg.L <sup>-1</sup> (IC: 0,35 – 0,45 mg.L <sup>-1</sup> )

## 1 - OBJETIVO

O objetivo deste teste, realizado de 19 a 23 de maio de 2004, foi avaliar a toxicidade aguda do Fluido aquoso isento de sólidos (Cód. 3.4.29 – Solução de CaCl<sub>2</sub>), 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 6 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 4º 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 43 para 34‰, resultando em uma solução-estoque de 791.667 ppm. A partir desta solução foram preparadas as soluções-teste, sendo testadas as seguintes diluições: 1.546; 3.093; 6.185; 12.370; 24.740; 49.479; 98.958 e 197.917 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 maio de 2004, com o zinco foi  $0,39 \text{ mg.L}^{-1}$  (IC:  $0,35 - 0,45 \text{ mg.L}^{-1}$ ).

## RESUMO DAS CONDIÇÕES DE TESTE

---

Tipo de teste: .....agudo  
Temperatura de incubação: ..... $25 \pm 1,0 \text{ }^{\circ}\text{C}$   
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 6 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: .....34±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-Karber (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. 3.4.29 – Solução de  $\text{CaCl}_2$ ), foi de 197.916,75 ppm (IC: 174.390,19 – 224.617,22 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 horas      Concentration Unit: ppm  
Raw Data:  
Concentration: 1546 3093 6185 12370 24740 49479 98958 197917  
Number Exposed: 30 30 30 30 30 30 30 30  
Mortalities: 0 0 0 1 3 0 0 15  
SPEARMAN-KARBER TRIM: .00%  
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: LC50: 197916.75  
95% Lower Confidence: 174390.19  
95% Upper Confidence: 224617.22

## 4 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

American Petroleum Institute. 1984. Recomended 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.

L1372MJA

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. 3.4.29 – Solução de CaCl<sub>2</sub>).

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	
1.546	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
3.093	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
6.185	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
12.370	10	9	9	9	9	3,3
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
24.740	10	9	9	9	8	10
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	9	
49.479	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
98.958	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
197.917	10	10	10	10	6	50
	10	10	10	9	5	
	10	5	5	4	4	

## 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:

MSc. Leila A. da Silva Kraus



### REVISADO POR:

Dra. Marcia Vieira Reynier



Rio de Janeiro, 15 de junho de 2004.