

**TESTE DE TOXICIDADE DO FLUIDO DE COMPLETAÇÃO - SOLUÇÃO  
SALINA DE NaCl - 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@biorio.org.br  
CEP: 21941-590**

**Teste 1050MJA**



**Rio de Janeiro**

L1050MJA

## 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**

Responsável pelo preparo da amostra: **PETROBRAS**

Identificação da amostra pelo solicitante: **Fluido de completção solução salina de NaCl**

**Cód. 3.4.27**

**Data: 19/05/2003**

Código de entrada no Labtox: **L105003**

<b>RESULTADO DEFINITIVO</b>
CL50; 96 horas: 34.275,78 ppm
Intervalo de Confiança (IC) = 30.340,12 – 38.721,97 ppm
Sobrevivência no controle: 100 %
Padrão (Zinco): 0,24 mg/L (IC: 0,22 – 0,27 mg/L)

L1050MJA

## 1 - OBJETIVO

Este teste, realizado de 02 a 06 de junho de 2003, teve como objetivo determinar a toxicidade aguda do Fluido de completação solução salina de NaCl sobre o microcrustáceo *Mysidopsis juniae*.

## 2 – METODOLOGIA

A determinação da toxicidade aguda em relação a *M. juniae* seguiu a metodologia descrita em CETESB (1992).

Jovens de *M. juniae* com 2 a 4 dias de idade, foram expostos a diferentes concentrações de 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 hora da 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. Preparou-se, então, um extrato aquoso na proporção de 1:9, utilizando-se 400 mL da amostra homogeneizada e 3600 mL de água do mar. O extrato foi homogeneizado em misturador industrial por 5 minutos a 150 rpm e decantado. Após 1 hora a fração particulada suspensa (FPS) foi retirada e a partir dela (solução-estoque de 1.000.000 ppm) foram preparadas as soluções-teste, sendo testadas as seguintes concentrações: 7.812; 15.625; 31.250; 62.500; 125.000; 250.000; 500.000 e 1.000.000 ppm (Ficha em anexo)



## RESUMO DAS CONDIÇÕES DE TESTE

Tipo de teste: ----- estático sem renovação, com aeração  
Temperatura de incubação: -----  $25 \pm 0,5$  °C  
Luminosidade: ----- 12 horas claro/12 horas escuro  
Frasco teste: ----- béquer de 1000 mL  
Volume de solução teste: ----- 1000 mL  
Origem dos organismos: ----- Cultivo Labtox  
Idade dos organismos: ----- 2 a 4 dias  
Nº de organismos / frasco: ----- 10  
Nº de réplicas / concentração: ----- 3  
Nº de concentrações: ----- 8 + 1 controle \*  
Alimentação: ----- 30 náuplios de *Artemia* sp. recém eclodidos/  
misidáceo/dia  
Água de diluição: ----- água do mar natural filtrada  
Salinidade da água: -----  $34 \pm 1$ ‰  
Duração do teste: ----- 96 horas  
Resposta: ----- mortalidade  
Valor medido: ----- CL50; 96h (concentração 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.

### VALIDADE DO TESTE

O teste é considerado válido quando o percentual de sobrevivência no controle é maior ou igual a 90%.

L1050MJA

## 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 0,22 – 0,42 mg/L.

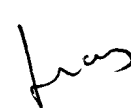
O resultado da CL50; 96h obtido no teste realizado, em maio de 2003, com o zinco foi 0,24 mg/L (IC: 0,22 – 0,27 mg/L).

### 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 concentrações testadas.

A CL50;96h obtida no teste realizado com o Fluido de completação solução salina NaCl foi de 34.275,78 ppm da FPS (IC = 30.340,12 – 38.721,97 ppm) e a sobrevivência no controle foi de 100%.

Os resultados de salinidade, pH e oxigênio dissolvido, medidos no início e no final do teste nas diferentes concentrações, encontram-se listados na ficha em anexo.



L1050MJA

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 de completção - solução salina de NaCl.

Concentração (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	
7.812	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
15.625	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
31.250	10	10	9	9	9	36,7
	10	10	10	7	7	
	10	10	8	8	3	
62.500	10	10	3	0	0	100
	10	9	8	0	0	
	10	9	2	0	0	
125.000	10	1	1	0	0	100
	10	7	1	0	0	
	10	5	2	0	0	
250.000	10	1	0	0	0	100
	10	4	0	0	0	
	10	5	0	0	0	
500.000	10	0	0	0	0	100
	10	0	0	0	0	
	10	0	0	0	0	
1.000.000	10	0	0	0	0	100
	10	0	0	0	0	
	10	0	0	0	0	



#### 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-Kärber 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.



L1050MJA

**EQUIPE TÉCNICA:**

Rio de Janeiro, 24 de junho de 2003.

*Leila Aparecida da Silva Kraus*

MSc Leila Aparecida da Silva Kraus  
Diretora Administrativa e Financeira  
CRB-2 - 12156/02

*Marcia Vieira Reynier*

MSc Marcia Vieira Reynier  
Diretora Científica  
CRB-2 - 07135/02

*Maria Cristina da Silva Maurat*

MSc Maria Cristina da Silva Maurat  
Diretora Comercial  
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



**Teste no. 1050 Mja**

Date: 02-06-03      Test Type: agudo

Duration: 96 h

Chemical: fluido de completacao solucao salina de NaCL cod.3427

Species: *Mysidopsis juniae*

Concentration Unit: ppm

**Raw Data:**

Concentration:	7812	15625	31250	62500	125000	250000	500000	1000000
Number Exposed:	30	30	30	30	30	30	30	30
Mortalities:	0	0	11	30	30	30	30	30
SPEARMAN-KARBER TRIM:				.00%				

**SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: LC50: 34.275,78**

95% Lower Confidence: 30.340,12

95% Upper Confidence: 38.721,97



TESTE N° 1050 Mj Operador(es): Maiane Lila

Espécie: n. juvenal

ORIGEM DOS ORGANISMOS			
Cultivo ( <input checked="" type="checkbox"/> )	Fonte:	LABTOX	
Campo ( <input type="checkbox"/> )	Local de coleta:	Temperatura:	°C
	Data:	Salinidade:	‰

MANUTENÇÃO DOS ORGANISMOS:	
Alimento: náuplios de <i>Artemia</i> sp. <i>ad libitum</i>	Temperatura: <u>25±1</u> °C
Tempo de cultivo: <u>/</u> dias	Salinidade: <u>34±1</u> ‰
Idade dos organismos: <u>2-4</u> dias	Fotoperíodo: 12:12h

TESTE		
INÍCIO	Data: <u>02/06/03</u>	Hora: <u>14 h 00 min</u>
TÉRMINO	Data: <u>06/06/03</u>	Hora: <u>15 h 50 min.</u>
Preliminar ( <input type="checkbox"/> )	Estático: ( <input checked="" type="checkbox"/> )	Com aeração: ( <input checked="" type="checkbox"/> )
Definitivo ( <input checked="" type="checkbox"/> )	Semi-estático ( <input type="checkbox"/> ) Renovação: _____ h.	Sem aeração: ( <input type="checkbox"/> )

**AMOSTRA**

Descrição:

Fluido de completação solução salina de NaCl 2 lit Fluido 34.27

Código de entrada no laboratório:

L 105003

Data de entrada:

2 / 05 / 03

Salinidade:

34 ‰

sem ajuste: (  )

com ajuste (  )

**Ajuste da salinidade**

Volume de água destilada:

— mL

Volume salmoura:

— mL

Volume de amostra:

— mL

Salinidade final da amostra:

— ‰

Concentração final da amostra:

— ppm

pH: da amostra (  ) sem ajuste

(  ) com ajuste

— µL de

—

pH final

8,07

Salmoura:

Método —

Salinidade: — ‰

pH —

**ÁGUA DE DILUIÇÃO**

Fonte: Angra dos Reis

Data da coleta ou preparo:

20 / 05 / 03

Salinidade:

34 ‰

Oxigênio dissolvido:

5,36 mg/L

pH:

8,33

Volume da solução-teste por béquer: 1000 mL

Nº de organismos por béquer: 10

Nº de réplicas por concentração: 3

Preparo da solução-estoque: \_\_\_\_\_ ppm (mg/L, %)

Teste n° 1050 H<sub>2</sub>O

000 mL (mg) de substância (amostra bruta) + 500 mL de água de diluição.

Unidade: ppm

Preparo das soluções-teste

Solução 1 \_\_\_\_\_ mL da solução-estoque + 3500 mL de água de diluição.

Solução 2 7812 mL da solução-estoque + 2976,56 mL de água de diluição.

Solução 3 15625 mL da solução-estoque + 2953,12 mL de água de diluição.

Solução 4 3 mL da solução-estoque + 2906,25 mL de água de diluição.

Solução 5 62500 : 187,5 mL da solução-estoque + 2812,5 mL de água de diluição.

Solução 6 125000 : 375 mL da solução-estoque + 2625 mL de água de diluição.

Solução 7 250000 : 750 mL da solução-estoque + 2250 mL de água de diluição.

Solução 8 500000 : 1500 mL da solução-estoque + 1500 mL de água de diluição.

Solução 9 1000000 : 3000 mL da solução-estoque + — mL de água de diluição.

Solução 10 \_\_\_\_\_ mL da solução-estoque + \_\_\_\_\_ mL de água de diluição.

### PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS DAS SOLUÇÕES-TESTE

Concentração ppm, mg/L, %	Béquer n°	Início			Término		
		S %	OD (mg/l)	pH	S %	OD (mg/l)	pH
00	78	34	5,36	8,33	35	5,09	8,38
7812	82	34	5,23	8,36	35	5,17	8,51
15625	85	34	5,31	8,41	35	5,16	8,54
31250	89	34	5,26	8,43	35	5,02	8,53
62500	90	34	5,42	8,44	35	5,06	8,42
125000	93	34	5,34	8,44	35	5,15	8,19
250000	96	34	5,35	8,34	35	5,23	8,42
500000	100	34	5,39	8,26	35	5,74	8,24
1000000	—	34	5,04	8,07	—	—	—

Avenida 24, s/n - Polo Bio-Rio - Incubadeira 3-4 - Cidade Universitária - Ilha do Fundão

Cep - 21941-591 - Fone: (5521) 3867-5501 R: 220 - e-mail: labtox@biorio.org.br

## ACOMPANHAMENTO DO TESTE

TESTE Nº 1050 M.j.a

béquero nº	Nº de org. mortos				béquero nº	Nº de org. mortos			
	24h	48h	72h	96h		24h	48h	72h	96h
78	∅	∅	∅	∅	97	6	4	—	—
79	∅	∅	∅	∅	98	5	5	—	—
80	∅	∅	∅	∅	99	10	—	—	—
81	∅	∅	∅	∅	100	10	—	—	—
82	∅	∅	∅	∅	101	10	—	—	—
83	∅	∅	∅	∅	102	—	—	—	—
84	∅	∅	∅	∅	103	—	—	—	—
85	∅	∅	∅	∅	104	—	—	—	—
86	∅	∅	∅	∅	/				
87	∅	1	∅	∅					
88	∅	∅	3	∅					
89	∅	2	∅	5					
90	∅	7	3	—					
91	1	1	8	—					
92	1	7	2	—					
93	<del>1</del> 9	∅	1	—					
94	3	6	1	—					
95	5	3	2	—					
96	9	1	—	—					

\*  
\*  
\*

\* Os organismos das réplicas 102 103 e 104 morreram durante a montagem do teste

Concentração de alimento: 30 náuplios de *Artêmia* sp. por misidáceo/dia.

Volume da solução de *Artêmia* sp.: 0h 57 µL    24h 68 µL  
48h 49 µL    72h 75 µL

REGISTRO DE DADOS

TESTE Nº 1050 Hf a

Conc. nominal (ppm) % ou mg/L	réplica 1		réplica 2		réplica 3		réplica 4		Total de mortos	Mortalidade %
	M	V	M	V	M	V	M	V		
0,0	0	10	0	10	0	10			0	0
	0	10	0	10	0	10			0	0
15625	0	10	0	10	0	10			0	0
31250	1	9	3	7	7	3			11	36,4
62.500	10	0	10	0	10	0			30	100
125.000	10	0	10	0	10	0			30	100
250.000	10	0	10	0	10	0			30	
500.000	10	0	10	0	10	0			30	
1.000.000	10	0	10	0	10	0			30	

M = número de organismos mortos  
V = número de organismos vivos

Sobrevivência no controle: 100 %

Obs:

RANDOMIZAÇÃO DE BÉQUERES

Concentração (ppm)	Béquer nº	Concentração (ppm)	Béquer nº
0,0	78-80	125.000	93-95
7812	81-83	<del>1000</del> 250.000	96-98
15625	84-86	500.000	99-101
31.250	87-89	1000.000	102-104
<del>31.250</del>			
62.500	90-92		