

LI041MJA

**TESTE DE TOXICIDADE DO FLUIDO COM INIBIDOR DE CORROSÃO
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 1041MJA



Rio de Janeiro

L1041MJA

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 com inibidor de corrosão

Código 3.4.42

Data: 22/04/2003

Código de entrada no Labtox: L104103

RESULTADO DEFINITIVO
CL50; 96 horas: 84.396,87 ppm
Intervalo de Confiança (IC) = 77.249,87 – 92.205,09ppm
Sobrevivência no controle: 100 %
Padrão (Zinco): 0,24 mg/L (IC: 0,22 – 0,27 mg/L)

Juan

L1041MJA

1 - OBJETIVO

Este teste, realizado de 23 a 27 de maio de 2003, teve como objetivo determinar a toxicidade aguda do Fluido com inibidor de corrosão 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 dos testes 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)

L1041MJA

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 ± 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%.



CONTROLE DOS TESTES DE *Mysidopsis juniae*

LI041MJA

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 com inibidor de corrosão foi de 84.396,87 ppm da FPS (IC = 77.249,87 – 92.205,09 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.



L1041MJA

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 com inibidor de corrosão.

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	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
62.500	10	10	10	10	9	10
	10	10	10	10	9	
	10	10	10	9	9	
125.000	10	10	8	4	1	96,7
	10	10	7	2	0	
	10	7	5	0	0	
250.000	10	7	4	0	0	100
	10	7	2	0	0	
	10	10	8	1	0	
500.000	10	4	0	0	0	100
	10	7	0	0	0	
	10	7	0	0	0	
1.000.000	10	3	0	0	0	100
	10	4	0	0	0	
	10	0	0	0	0	

L1041MJA

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.



L1041MJA

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

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

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

L1041MJA

ANEXOS

Teste 1041MJA

Date: 23/05/03 Test Type: Agudo com aeração
Duration: 96 horas
Chemical: Fluido com inibidor de corrosão
Species: *M. 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	0	3	29	30	30	30
SPEARMAN-KARBER TRIM:				.00%				

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: LC50: 84396.87
95% Lower Confidence: 77249.87
95% Upper Confidence: 92205.09



TESTE N° 1041HJA Operador(es): Miriane

Espécie: n. juvenis

ORIGEM DOS ORGANISMOS			
Cultivo (<input checked="" type="checkbox"/>)	Fonte:	<u>LABTOX</u>	
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: _____ dias	Salinidade:	<u>34 ± 1</u>	‰
Idade dos organismos: <u>2 a 4</u> dias	Fotoperíodo:	12:12h	

TESTE			
INÍCIO	Data:	Hora:	
	<u>23 / 05 / 03</u>	<u>10 h 00 min</u>	
TÉRMINO	Data:	Hora:	
	<u>27 / 05 / 03</u>	<u>11 h 00 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"/>)	Sem aeração: (<input type="checkbox"/>)	
	Renovação: _____ h.		

AMOSTRA				
Descrição: <u>Fluido com inibidor da enzima OGD. 34.42</u>				
Código de entrada no laboratório: <u>L104103</u>		Data de entrada: <u>06/05/03</u>	Salinidade: <u>35</u> ‰ sem ajuste: (<input checked="" type="checkbox"/>) com ajuste (<input type="checkbox"/>)	
Ajuste da salinidade				
Volume de água destilada: <u>—</u> mL	Volume salmoura <u>—</u> mL	Volume de amostra: <u>—</u> mL	Salinidade final da amostra <u>—</u> ‰	Concentração final da amostra: <u>—</u> ppm
pH: da amostra (<input checked="" type="checkbox"/>) sem ajuste (<input type="checkbox"/>) com ajuste <u>—</u> µL de <u>—</u> pH final <u>8,36</u>				
Salmoura: Método <u>—</u> Salinidade: <u>—</u> ‰ pH <u>—</u>				

ÁGUA DE DILUIÇÃO		
Fonte: Angra dos Reis	Data da coleta ou preparo: <u>20 / 05 / 03</u>	
Salinidade: <u>34</u> ‰	Oxigênio dissolvido: <u>4,74</u> mg/L	pH: <u>8,06</u>

Volume da solução-teste por béquer: 1000 mL
 N° de organismos por béquer: 10
 N° de réplicas por concentração: 3

Preparo da solução-estoque: 1000.000 ppm (mg/L, %) Teste nº 1041 MJA
600 mL (mg) da substância (amostra bruta) + 5400 mL de água de diluição.

Unidade: ppm Preparo das soluções-teste

Solução 1 00 : — mL da solução-estoque + 3.000 mL de água de diluição.

Solução 2 7812 : 2344 mL da solução-estoque + 2976,56 mL de água de diluição.

Solução 3 15.625 : 4688 mL da solução-estoque + 2953,12 mL de água de diluição.

Solução 4 31.250 : 9375 mL da solução-estoque + 2906,25 mL de água de diluição.

Solução 5 62.500 : 1875 mL da solução-estoque + 2.812,5 mL de água de diluição.

Solução 6 125.000 : 375 mL da solução-estoque + 2625 mL de água de diluição.

Solução 7 250.000 : 750 mL da solução-estoque + 2.250 mL de água de diluição.

Solução 8 500.000 : 1.500 mL da solução-estoque + 1.500 mL de água de diluição.

Solução 9 1.000.000 : 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 nº	Início			Término		
		S ‰	OD (mg/l)	pH	S ‰	OD (mg/l)	pH
0,0	125	34	4,74	8,06	35	4,45	8,35
7.812	130	34	4,92	8,18	35	3,99	8,44
15.625	132	34	5,03	8,32	35	4,35	8,29
31.250	135	34	5,02	8,12	35	4,57	8,37
62.500	138	34	4,99	8,30	35	4,74	8,51
125.000	140	34	4,99	8,22	35	4,73	8,50
250.000	145	34	5,74	8,30	35	4,49	8,46
500.000	146	35	5,32	8,14	35	4,02	8,21
1000.000	150	35	5,74	8,36	35	4,11	8,15

Avenida 24, s/nº - Polo Bio-Rio - Incubadeira 3-4 - Cidade Universitária - Ilha do Fundão

Cep - 21941-590 - Rio de Janeiro - RJ - Tel: (5521) 3867-5501 R: 220 - e-mail: labtox@biorio.org.br

ACOMPANHAMENTO DO TESTE

TESTE Nº 1041 MJA

béquer nº	Nº de org. mortos				béquer nº	Nº de org. mortos			
	24h	48h	72h	96h		24h	48h	72h	96h
125	∅	∅	∅	∅	144	3	5	2	—
126	∅	∅	∅	∅	145	∅	2	7	1
127	∅	∅	∅	∅	146	6	4	—	—
128	∅	∅	∅	∅	147	3	7	—	—
129	∅	∅	∅	∅	148	3	7	—	—
130	∅	∅	∅	∅	149	7	3	—	—
131	∅	∅	∅	∅	150	6	4	—	—
132	∅	∅	∅	∅	151	10	—	—	—
133	∅	∅	∅	∅					
134	∅	∅	∅	∅					
135	∅	∅	∅	∅					
136	∅	∅	∅	∅					
137	∅	∅	∅	1					
138	∅	∅	∅	1					
139	∅	∅	1	∅					
140	∅	2	4	3					
141	∅	3	5	2					
142	3	2	5	—					
143	3	3	4	—					

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

Volume da solução de *Artêmia* sp.: 0h 25 µL 24h 21 µL
 48h 25 µL 72h 28 µL

REGISTRO DE DADOS

TESTE Nº 1041 MJA

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
7.812	0	10	0	10	0	10			0	0
15.625	0	10	0	10	0	10			0	0
31.250	0	10	0	10	0	10			0	0
62.500	1	9	1	9	1	9			3	10
125.000	9	1	10	0	10	0			29	96,7
250.000	10	0	10	0	10	0			30	100
500.000	10	0	10	0	10	0			30	100
1.000.000	10	0	10	0	10	0			30	100

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	125 - 127	125.000	140 - 142
7.812	128 - 130	250.000	143 - 145
15.625	131 - 133	500.000	146 - 148
31.250	134 - 136	1.000.000	149 - 151
62.500	137 - 139		