

**TESTE DE TOXICIDADE COM O FLUIDO AQUOSO ISENTO DE SÓLIDOS
(CÓD. 3.4.29.4 – SOLUÇÃO DE $CaCl_2$) 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 1374 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: 3.4.29.4– Solução de CaCl₂

Data: 17/05/2004

Código de entrada no Labtox: L137404

Data de entrada no Labtox: 18/05/2004

RESULTADOS
CL(I)50; 96 horas: 30.917,61 ppm
Intervalo de confiança (IC: 25.680,07 – 37.223,36 ppm)
Sobrevivência no controle: 93,3 %
Zinco: CL(I)50 = 0,39 mg.L ⁻¹ (IC: 0,35 – 0,45 mg.L ⁻¹)

1 - OBJETIVO

O objetivo deste teste, realizado de 21 a 25 de maio de 2004, foi avaliar a toxicidade aguda do Fluido aquoso isento de sólidos (Cód. 3.4.29.4 – Solução de CaCl₂), 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 3 a 7 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 o pH ajustado de 9,26 para 8,15, com 150 µL de HCl e a salinidade ajustada de 95 para 34‰, resultando em uma solução-estoque de 359.000 ppm. A partir desta solução foram preparadas as soluções-teste, sendo testadas as seguintes diluições: 351; 701; 1.402; 2.805; 5.609; 11.219; 22.438 e 44.875 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 mg.L⁻¹ (IC: 0,35 – 0,45 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:3 a 7 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-Kärber (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. 3.4.29.4 – Solução de CaCl₂), foi de 30.917,61 ppm (IC: 25.680,07 – 37.223,36 ppm) e a sobrevivência no controle foi de 93,3%.

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
Data Set is adjusted for control mortality using Abbott's correction.

Raw Data:

Concentration:	351	701	1402	2805	5609	11219	22438	44875
Number Exposed:	30	30	30	30	30	30	30	30
Mortalities:	5	3	4	7	5	6	8	25
Abbott's Corr. Morts.:	3	1	2	5	3	4	6	25
Control Group Number: 1								
Number Exposed-Control:			10					
Number Mortalities-Control:			1					
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:				16.67%				
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES:				LC50:	30917.61			
95% Lower Confidence:	25680.07			95% Upper Confidence:	37223.36			

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.

L1374MJA

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. 3.4.29.4 – Solução de CaCl₂).

Diluição (ppm)	Número de misidáceos vivos					Mortalidade após 96h (%)
	0 h	24h	48h	72h	96h	
Controle	10	10	9	9	9	6,7
	10	10	10	10	9	
	10	10	10	10	10	
351	10	10	10	10	10	16,7
	10	7	7	7	7	
	10	10	9	9	8	
701	10	9	9	9	8	10
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	9	9	
1.402	10	10	9	9	8	13,3
	10	10	10	10	9	
	10	10	10	10	9	
2.805	10	10	10	10	8	23,3
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	5	5	
5.609	10	10	10	10	10	16,7
	10	7	7	7	7	
	10	10	10	8	8	
11.219	10	10	9	9	8	20
	10	10	10	10	9	
	10	10	8	7	7	
22.438	10	10	10	10	9	26,7
	10	10	10	10	8	
	10	10	10	10	5	
44.875	10	8	5	3	2	83,3
	10	5	3	2	1	
	10	5	3	3	2	

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:

REVISADO POR:

MSc. Leila A. da Silva Kraus 	Dra. Marcia Vieira Reynier 
---	--

Rio de Janeiro, 15 de junho de 2004.