

**TESTE DE TOXICIDADE COM O FLUIDO AQUOSO ISENTO DE SÓLIDOS
(CÓD. 3.4.27.5 – SOLUÇÃO 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@labtox.com.br
CEP: 21941-590

Teste 1438 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: 3.4.27.5 – Solução de NaCl

Data: 16/06/2004

Código de entrada no Labtox: L143804

Data de entrada no Labtox: 21/06/2004

RESULTADOS
CL(I)50; 96 horas: 50.295,48 ppm
Intervalo de confiança (IC: 43.390,74 – 58.298,96 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 28 de junho a 02 de julho de 2004, foi avaliar a toxicidade aguda do Fluido Aquoso Isento de Sólidos (Cód. 3.4.27.5 – Solução de NaCl), 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 4 a 8 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 41 para 33‰, resultando em uma solução-estoque de 829.333 ppm. A partir dessa solução foram preparadas as soluções-teste, sendo testadas as seguintes diluições: 3.240; 6.479; 12.958; 25.917; 51.833; 103.667; 207.333; 414.667 e 829.333 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 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:	4 a 8 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. 3.4.27.5 – Solução de NaCl), foi de 50.295,48 ppm (IC: 43.390,74 – 58.298,96 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:	3240	6479	12958	25917	51833	103667
Number Exposed:	30	30	30	30	30	30
Mortalities:	1	1	0	2	15	30
SPEARMAN-KARBER TRIM:	3.33%					

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: LC50: 50.295,48

95% Lower Confidence: 43.390,74

95% Upper Confidence: 58.298,96

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. 3.4.27.5 – Solução de NaCl).

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	
3.240	10	9	9	9	9	3,3
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
6.479	10	10	10	10	10	3,3
	10	10	10	9	9	
	10	10	10	10	10	
12.958	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
25.917	10	10	10	10	9	6,7
	10	9	9	9	9	
	10	10	10	10	10	
51.833	10	10	7	6	5	50
	10	9	8	5	5	
	10	10	9	5	5	
103.667	10	3	0	0	0	100
	10	3	0	0	0	
	10	7	0	0	0	
207.333	10	0	0	0	0	100
	10	0	0	0	0	
	10	0	0	0	0	
414.667	10	0	0	0	0	100
	10	0	0	0	0	
	10	0	0	0	0	



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

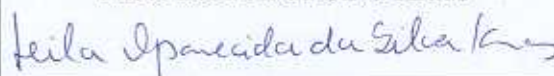
ELABORADO POR:

Dra. Marcia Vieira Reynier



REVISADO POR:

MSc. Leila A. da Silva Kraus



Rio de Janeiro, 19 de julho de 2004.

Data Início: 28 / 06 / 04 Hora: 13:10 Término: 02 / 07 / 04
Organismo-teste: fl. lenial Operador(es): Josiane

Tipo de amostra: Fluido Cód. entrada L143804 Salinidade: 41 ‰ pH 8,17
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 1024 mL Vol. de salmoura: — mL
Vol. amostra 4976 mL Salinidade final da amostra 33 ‰ Conc. final da amostra: 829.333
Salmoura: Método: — Salinidade: — ‰ pH: —

Ajuste do pH: — µL de HCl — µL de NaOH pH final: —
Água de diluição: Lote: 020 Salinidade: 35 ‰ pH: 8,22 OD: 5,44 mg.L⁻¹
Origem dos organismos: Cultivo Labtox Lote: M3162A, M3162B, M3163A Idade: 4 a 8 dias
Teste: Com aeração () Sem aeração () Estático () Semi-estático () renovação: — h
Vol. da solução-teste por bquer: 1000 mL N° de organismos por bquer: 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 <u>ppm</u>	Vol. sol. estoque mL	Vol. água de diluição mL	Béquer n°
<u>0,0</u>	<u>—</u>	<u>1000</u>	<u>200 - 202</u>
<u>3.250</u>	<u>11,72</u>	<u>2988,28</u>	<u>203 - 205</u>
<u>6.479</u>	<u>23,44</u>	<u>2976,56</u>	<u>206 - 208</u>
<u>12.958</u>	<u>46,88</u>	<u>2953,12</u>	<u>209 - 211</u>
<u>25.917</u>	<u>93,75</u>	<u>2906,25</u>	<u>212 - 214</u>
<u>51.833</u>	<u>187,5</u>	<u>2812,5</u>	<u>215 - 217</u>
<u>103.667</u>	<u>375</u>	<u>2625</u>	<u>218 - 220</u>
<u>207.333</u>	<u>750</u>	<u>2250</u>	<u>221 - 223</u>
<u>414.667</u>	<u>1500</u>	<u>1500</u>	<u>224 - 226</u>
<u>829.333</u> *	<u>3000</u>	<u>—</u>	<u>227 - 229</u>

OBS:

* a diluição 829.333 e organismos mantidos durante a montagem do teste.

ACOMPANHAMENTO DO TESTE

béquero n°	N° de org. mortos				béquero n°	N° de org. mortos			
	24h	48h	72h	96h		24h	48h	72h	96h
200	∅	∅	∅	∅	215	∅	3	1	1
201	∅	∅	∅	∅	216	1	1	3	∅
202	∅	∅	∅	∅	217	∅	1	4	∅
203	1	∅	∅	∅	218	7	3	—	—
204	∅	∅	∅	∅	219	7	3	—	—
205	∅	∅	∅	∅	220	3	7	—	—
206	∅	∅	∅	∅	221	10	—	—	—
207	∅	∅	1	∅	222	10	—	—	—
208	∅	∅	∅	∅	223	10	—	—	—
209	∅	∅	∅	∅	224	10	—	—	—
210	∅	∅	∅	∅	225	10	—	—	—
211	∅	∅	∅	∅	226	10	—	—	—
212	∅	∅	∅	1					
213	1	∅	∅	∅					
214	∅	∅	∅	∅					

Vol. da sol. de *Artêmia* sp.: 0h 35 µL 24h 25 µL 48h 45 µL 72h 47 µL

PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS DAS SOLUÇÕES-TESTE

Sobrevivência no controle: 100 %

Diluição (ppm)	Total de mortos	Mortalidade (%)	Início			Término			Béquero n°
			S ‰	OD (mg.L ⁻¹)	pH	S ‰	OD (mg.L ⁻¹)	pH	
0,0	∅	∅	35	5,44	8,22	35	4,45	8,26	201
3140	1	3,3	35	5,60	8,29	35	4,58	8,22	205
6479	1	3,3	35	5,83	8,28	35	4,69	8,24	207
12958	∅	∅	35	6,06	8,28	35	4,52	8,21	210
25917	2	6,7	35	7,14	8,30	35	4,72	8,23	213
51833	15	50	35	6,05	8,28	35	4,41	8,20	216
103667	30	100	35	5,96	8,29	35	3,93	8,17	218
207333	30	100	35	5,92	8,26	35	4,44	8,05	221
414667	30	100	34	6,21	8,20	34	5,41	8,04	224