

**TESTE DE TOXICIDADE COM O FLUIDO AQUOSO ISENTO DE SÓLIDOS
(CÓD. 3.4.27.7 – 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 1440 MJA

b

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: 3.4.27.7 – Solução de NaCl

Data: 17/06/2004

Código de entrada no Labtox: L144004

Data de entrada no Labtox: 21/06/2004

RESULTADOS
CL(I)50; 96 horas: 45.227,16 ppm
Intervalo de confiança (IC: 43.218,33 – 47.329,37 ppm)
Sobrevivência no controle: 100%
Zinco: CL(I)50 = 0,38 mg.L ⁻¹ (IC: 0,35 – 0,41 mg.L ⁻¹)

5

1 - OBJETIVO

O objetivo deste teste, realizado de 01 a 05 de julho de 2004, foi avaliar a toxicidade aguda do Fluido Aquoso Isento de Sólidos (Cód. 3.4.27.7 – 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 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 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 a partir dela foram preparadas as soluções-teste, sendo testadas as seguintes diluições: 7.813; 15.625; 31.250; 62.500; 125.000; 250.000; 500.000 e 1.000.000 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: 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: 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 *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. 3.4.27.7 – Solução de NaCl), foi de 45.227,16 ppm (IC: 43.218,33 – 47.329,37 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:	7813 15625 31250 62500 125000	
Number Exposed:	30 30 30 30 30	
Mortalities:	0 1 0 29 30	
SPEARMAN-KARBER TRIM:	.00%	
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: LC50:	45.227,16	
95% Lower Confidence:	43.218,33	95% Upper Confidence: 47.329,37

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. 3.4.27.7 – 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	
7.813	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
15.625	10	10	10	10	10	3,3
	10	10	10	10	10	
	10	9	9	9	9	
31.250	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
62.500	10	8	3	0	0	96,7
	10	8	5	1	1	
	10	6	1	0	0	
125.000	10	0	0	0	0	100
	10	0	0	0	0	
	10	0	0	0	0	
250.000	10	0	0	0	0	100
	10	0	0	0	0	
	10	0	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.

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: 01/07/04 Hora: 14:30 Término: 05/07/04
Organismo-teste: n. juniae Operador(es): Juizene

Tipo de amostra: Fluido Cód. entrada L144004 Salinidade: 32 ‰ pH 7,84
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 — mL Vol. de salmoura: — mL
Vol. amostra — mL Salinidade final da amostra — ‰ Conc. final da amostra: —
Salmoura: Método: — Salinidade: — ‰ pH: —

Ajuste do pH: — µL de HCl — µL de NaOH pH final: —
Água de diluição: Lote: 920 Salinidade: 34 ‰ pH: 8,22 OD: 5,78 mg.L⁻¹

Origem dos organismos: Cultivo Labtox Lote: MJ 465 A Idade: 2 a 6 dias

Teste: Com aeração () Sem aeração () Estático () Semi-estático () renovação: — h

Vol. da solução-teste por bquer: 10,00 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		
* Avolumado para <u>3000</u> mL		
Diluição	Vol. sol. estoque mL*	Béquer n°
ppm		
<u>90</u>	<u>—</u>	<u>1-3</u>
<u>7.813</u>	<u>23,44</u>	<u>28-30</u>
<u>15.625</u>	<u>46,88</u>	<u>31-33</u>
<u>31.250</u>	<u>93,75</u>	<u>34-36</u>
<u>62.500</u>	<u>187,5</u>	<u>37-39</u>
<u>125.000</u>	<u>375</u>	<u>40-42</u>
<u>250.000</u>	<u>750</u>	<u>43-45</u>
<u>500.000</u>	<u>1500</u>	<u>46-48</u>
<u>1.000.000</u>	<u>3000</u>	<u>49-51</u>

OBS: Na diluição 1000000 os organismos morreram durante a montagem do teste.

ACOMPANHAMENTO DO TESTE

bêquer nº	Nº de org. mortos				bêquer nº	Nº de org. mortos			
	24h	48h	72h	96h		24h	48h	72h	96h
1	∅	∅	∅	∅	42	∅	∅	∅	∅
2	∅	∅	∅	∅	43	∅	∅	∅	∅
3	∅	∅	∅	∅	44	∅	∅	∅	∅
28	∅	∅	∅	∅	45	∅	∅	∅	∅
29	∅	∅	∅	∅	46	∅	∅	∅	∅
30	∅	∅	∅	∅	47	∅	∅	∅	∅
31	∅	∅	∅	∅	48	∅	∅	∅	∅
32	∅	∅	∅	∅	49	∅	∅	∅	∅
33	1	∅	∅	∅	50	∅	∅	∅	∅
34	∅	∅	∅	∅	51	∅	∅	∅	∅
35	∅	∅	∅	∅					
36	∅	∅	∅	∅					
37	2	5	3	∅					
38	2	3	4	∅					
39	4	5	1	∅					
40	∅	∅	∅	∅					
41	∅	∅	∅	∅					

Vol. da sol. de *Artêmia* sp.: 0h 34 µL 24h 25 µL 48h 25 µL 72h 32 µL
 $\phi 68$

PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS DAS SOLUÇÕES-TESTE

Sobrevivência no controle: 100 %

Diluição (ppm)	Total de mortos	Mortalidade (%)	Início			Término			Bêquer nº
			S %	OD (mg L ⁻¹)	pH	S %	OD (mg L ⁻¹)	pH	
0,0	∅	∅	34	5,78	8,22	35	5,84	8,29	2
7.813	∅	∅	35	5,94	8,25	35	5,08	8,28	29
15.625	1	3,3	35	6,00	8,31	35	6,27	8,30	32
31.250	∅	∅	35	6,06	8,32	35	4,43	8,20	36
62.500	29	96,7	35	6,10	8,31	35	4,84	8,34	38
125.000	30	100	35	6,00	8,30	34	4,52	8,15	38 44 <i>ME</i>
250.000	30	100	34	6,12	8,28	34	4,64	8,22	47
500.000	30	100	34	6,20	8,23	32	4,65	8,25	50
1.000.000	30	100	32	6,30	7,84	—	—	—	—