

L1042MJA

**TESTE DE TOXICIDADE DO FLUIDO SEM 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 1042MJA

Rio de Janeiro

L1042MJA

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 perfuração SEM INIBIDOR DE
CORROSÃO

Cód. 3.4.27.1

Data: 22/04/2003

Código de entrada no Labtox: L104203

RESULTADO DEFINITIVO
CL50; 96 horas: 86.369,55 ppm
Intervalo de Confiança (IC) = 82.533,32 – 90.384,10 ppm
Sobrevivência no controle: 100 %
Padrão (Zinco): 0,32 mg/L (IC: 0,29 – 0,35 mg/L)

L1042MJA

1 - OBJETIVO

Este teste, realizado de 20 a 24 de junho de 2003, teve como objetivo determinar a toxicidade aguda do fluido de perfuração sem 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 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: 7.813; 15.625; 31.250; 62.500; 125.000 e 250.000 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: ----- 6 + 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 for maior ou igual a 90%.



L1042MJA

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 0,32 mg/L (IC: 0,29 – 0,35 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 perfuração sem inibidor de corrosão foi de 86.369,55 ppm da FPS (IC = 82.533,32 – 90.384,10 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.



L1042MJA

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 perfuração sem 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	
7.813	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	10	3,3
	10	9	9	9	9	
	10	10	10	10	10	
125.000	10	2	2	0	0	100
	10	1	1	0	0	
	10	1	1	0	0	
250.000	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).

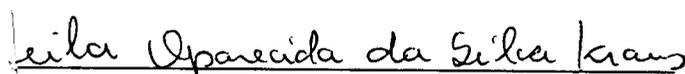
Hamilton, M.; Russo, R.C. & Thurston, R.V. Trimmed Spearman-Kärber Method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environmental Science & Technology*, 1977, vol. 11, nº 7.

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.

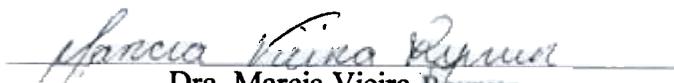
L1042MJA

EQUIPE TÉCNICA:

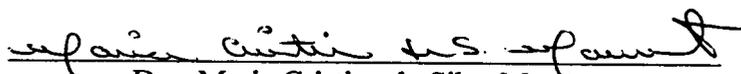
Rio de Janeiro, 16 de julho de 2003.



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



Dra. Marcia Vieira Reynier
Diretora Científica
CRB-2 - 07135/02



Dra. 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

L1042MJA

A N E X O S

Teste no. 1042Mja

Date: 20-06-03 Test Type: agudo

Duration: 96 h

Chemical: fluido sem inibidor de corrosão cód.3442A

Species: *Mysidopsis juniae*

Concentration Unit: ppm

Raw Data:

Concentration:	7813	15625	31250	62500	125000	250000
Number Exposed:	30	30	30	30	30	30
Mortalities:	0	0	0	1	30	30

SPEARMAN-KARBER TRIM:

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: LC50: 86.369,55

95% Lower Confidence: 82.533,32

95% Upper Confidence: 90.384,10



TESTE N° 1042 M.f.a.

Data: 20 / 06 / 03

Organismo-teste: M. ximiae

Operador: Leila

Amostra: FW100 SEM INIBIDOR DE CORROSÃO - CÓDIGO 3.4. ^{27.1} ~~42A~~ ML

Cód. de entrada no laboratório: L104203

Data de entrada: 06 / 05 / 03 Data do preparo da amostra: 22 / 04 / 03

DADOS DO SOBRENADANTE

Salinidade: 35 ‰ pH 8,10

AJUSTE DA SALINIDADE () SIM (X) NÃO				
Volume de água destilada	Volume de salmoura:	de	Volume de amostra:	de
—	—		—	
mL	mL		mL	
			Salinidade final da amostra:	Concentração final da amostra:
			—	
			‰	ppm
SALMOURA				
Método de obtenção: <u>—</u> Salinidade: <u>—</u> ‰ pH: <u>—</u>				

AJUSTE DO pH () SIM (X) NÃO			
Volumê amostra:	da	Adição:	
		—	μL de HCl pH final: <u>—</u>
		—	μL de NaOH pH final: <u>—</u>
	mL		

DADOS DA ÁGUA DE DILUIÇÃO

Local de coleta: Angra dos Reis

Data: 03 / 06 / 03

Salinidade: 35 ‰ pH: 8,10 OD: 5,0 mg/L

ORIGEM DOS ORGANISMOS

Cultivo (<input checked="" type="checkbox"/>)	Fonte: LABTOX
Campo (<input type="checkbox"/>)	Local de coleta: _____ Data: _____

MANUTENÇÃO DOS ORGANISMOS:

Alimento: náuplios de <i>Artemia</i> sp. <i>ad libitum</i>	Temperatura: 25 ± 1°C	Salinidade: 34 ± 1‰
Idade dos organismos: 2.4 dias	Fotoperíodo: 12:12h	

TESTE

INÍCIO	Data: 20 / 06 / 03	Hora: 10 h 20 min	
TÉRMINO	Data: 24 / 06 / 03	Hora: 11 h 00 min.	
Preliminar (<input type="checkbox"/>)	Estático: (<input checked="" type="checkbox"/>)	Com aeração: (<input checked="" type="checkbox"/>)	Sem aeração: (<input type="checkbox"/>)
Definitivo (<input checked="" type="checkbox"/>)	Semi-estático (<input type="checkbox"/>)	Renovação: _____ h.	

Volume da solução-teste por béquer: 3000ml

Nº de organismos por béquer: 10

Nº de réplicas por concentração: 3

Preparo da solução-estoque: 1000.000 ppm (mg/L, %) Teste n° 1042 Hja
600 mL (mg) da substância (amostra bruta) + 5400 mL de água de diluição.

Unidade: ppm Preparo das soluções-teste

Solução 1 0,0 : - mL da solução-estoque + 3000 mL de água de diluição.

Solução 2 7813 : 23,44 mL da solução-estoque + 2976,6 mL de água de diluição.

Solução 3 15625 : 46,88 mL da solução-estoque + 2953,12 mL de água de diluição.

Solução 4 31.250 : 93,75 mL da solução-estoque + 2906,2 mL de água de diluição.

Solução 5 62.500 : 187,5 mL da solução-estoque + 2812,5 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 + 2250 mL de água de diluição.

Solução 8 500.000 : 1500 mL da solução-estoque + 4.500 mL de água de diluição.

Solução 9 1000.000 : 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 n°	Início			Término		
		S %	OD (mg/l)	pH	S %	OD (mg/l)	pH
0,0	20	35	5,00	8,10	36	5,89	8,28
7813	22	35	5,21	8,11	35	5,86	8,30
15625	25	35	5,52	8,27	35	5,78	8,27
31.250	30	35	5,54	8,30	35	5,79	8,23
62.500	32	35	5,75	8,29	35	5,26	8,02
125.000	35	35	5,70	8,25	35	5,43	8,53
250.000	39	35	5,82	8,15	35	5,27	8,14
500.000							
1000.000		35					

ACOMPANHAMENTO DO TESTE

TESTE Nº 1042. Água

béquer nº	Nº de org. mortos				béquer nº	Nº de org. mortos			
	24h	48h	72h	96h		24h	48h	72h	96h
	∅	∅	∅	∅	38	10			
	∅	∅	∅	∅	39	10			
	∅	∅	∅	∅	/				
	∅	∅	∅	∅					
	∅	∅	∅	∅					
	∅	∅	∅	∅					
	∅	∅	∅	∅					
	∅	∅	∅	∅					
	∅	∅	∅	∅					
27	∅	∅	∅	∅					
	∅	∅	∅	∅					
	∅	∅	∅	∅					
	∅	∅	∅	∅					
	∅	∅	∅	∅					
	1	∅	∅	∅					
	∅	∅	∅	∅					
	8	∅	2	—					
	9	∅	1	—					
	9	∅	1	—					
37	10								

Nas concentrações de 500.000 e 1.000.000 os organismos morreram durante a montagem do teste.

Concentração de alimento: 20 náuplios de *Artêmia* sp. por misidáceo/dia.
 Volume da solução de *Artêmia* sp.: 0h 36 µL 24h 30 µL
 48h 37 µL 72h 45 µL

REGISTRO DE DADOS

TESTE N° 1042 N 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
7.813	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	0	10	1	9	0	10			1	
125.000	10	0	10	0	10	0			30	100
250.000	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 n°	Concentração (ppm)	Béquer n°
0,0	19 - 21	125.000	34 - 36
7.813	22 - 24	250.000	37 - 39
15.625	25 - 27	500.000	40 - 42
31.250	28 - 30	1.000.000	43 - 45
62.500	31 - 33		

feras