

**TESTE DE TOXICIDADE COM O FLUIDO AQUOSO ISENTO DE SÓLIDOS
(CÓD. 3.4.27.4 – 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 1379 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: 3.4.27.4 – Solução de NaCl

Data: 17/05/2004

Código de entrada no Labtox: L137904

Data de entrada no Labtox: 18/05/2004

RESULTADOS
CL(I)50; 96 horas: 319.531,31 ppm
Intervalo de confiança (IC: 279.330,62 – 365.517,60 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 07 a 11 de junho de 2004, foi avaliar a toxicidade aguda do Fluido aquoso isento de sólidos (Cód. 3.4.27.4 – 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 5 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 a salinidade ajustada de 52 para 35‰, resultando em uma solução-estoque de 654.000 ppm. A partir dessa solução foram preparadas as soluções-teste, sendo testadas as seguintes diluições: 5.109; 10.219; 20.438; 40.875; 81.750; 163.500; 327.000 e 654.000 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 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:	5 a 7 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. 3.4.27.4 – Solução de NaCl), foi de 319.531,31 ppm (IC: 279.330,62 – 365.517,60 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:	5109	10219	20438	40875	81750	163500	327000	654000
Number Exposed:	30	30	30	30	30	30	30	30
Mortalities:	2	2	3	0	0	3	16	30
Abbott's Corr. Morts.:	0	0	1	0	0	1	15	30

Control Group Number: 1

Number Exposed-Control: 10

Number Mortalities-Control: 0

Control Group Number: 2

Number Exposed-Control: 10

Number Mortalities-Control: 2

Control Group Number: 3

Number Exposed-Control: 10

Number Mortalities-Control: 0

SPEARMAN-KARBER TRIM: .00%

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: LC50: 319531.31

95% Lower Confidence: 279330.62 95% Upper Confidence: 365517.60

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, n° 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. 3.4.27.4 – Solução de NaCl).

Diluição (ppm)	Número de misidáceos vivos					Mortalidade após 96h (%)
	0 h	24h	48h	72h	96h	
Controle	10	10	10	10	10	6,7
	10	9	9	8	8	
	10	10	10	10	10	
5.109	10	10	10	10	9	6,7
	10	10	10	10	10	
	10	9	9	9	9	
10.219	10	10	10	10	9	6,7
	10	10	10	10	10	
	10	10	9	9	9	
20.438	10	10	10	9	8	10
	10	10	10	10	10	
	10	10	9	9	9	
40.875	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
81.750	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
163.500	10	10	9	9	8	10
	10	10	10	10	10	
	10	10	9	9	9	
327.000	10	*	*	*	5	53,3
	10	*	*	*	6	
	10	*	*	*	3	
654.000	10	*	*	*	0	100
	10	*	*	*	0	
	10	*	*	*	0	

*Não foi possível realizar a contagem dos organismos, devido à coloração da amostra.

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:

MSc. Leila A. da Silva Kraus



REVISADO POR:

Dra. Marcia Vieira Reynier



Rio de Janeiro, 18 de junho de 2004.