

L1752MJA

TESTE DE TOXICIDADE DO FLUIDO ALPHADRIL - AMOSTRA Nº 161
UTILIZANDO *Mysidopsis juniae* (CRUSTACEA-MYSIDACEA)

SOLICITANTE:

M-I Drilling Fluids do Brasil Ltda
Rua 19 de Fevereiro, 30 – 4º Andar
Rio de Janeiro - RJ
CEP: 22280-030

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 1752 MJA

Rio de Janeiro

ENGLISH SUMMARY

Objective

The purpose of this study was to determine the acute toxicity of the fluid **ALPHADRIL (Sample 161)** to mysids (*Mysidopsis juniae*), submitted by M-I Drilling Fluids do Brasil Ltda. in a test conducted on January 14th, 2005.

Methods

The sample was delivered to Labtox on January 12th, 2005. The sample was stored at 1-4°C.

At the time of the test, the drilling fluid was homogenized using an industrial mixer for 30 minutes at 1,500 rpm. Then, a 1:9 ratio of drilling fluid seawater slurry was prepared by adding 600 mL of homogenized sample to 5,400 mL of a natural filtered seawater. The solution preparation was mixed for five minutes at 150 rpm and allowed to settle for one hour.

The suspended particulate phase (SPP) was decanted, leaving settled particles on the bottom of the flask. The SPP used as the 1,000,000 ppm test concentration. An aliquot of the SPP was then added to each 3000 mL volumetric flasks with the proper volume of natural seawater. The SPP was added to each replicate in increasing order of concentration, beginning with the 7,812-ppm concentration and ending with the 250,000-ppm concentration. A control group was included containing only 1000 mL of the dilution water per test chamber.

SUMMARY OF TEST CONDITIONS

1. Test type:	Acute
2. Temperature:	25±1,0°C
3. Photoperiod:	12 h light, 12 h darkness
4. Test chamber size:	1000 mL
5. Test solution volume:	1000 mL
6. Organisms origin:	Labtox
7. Age of test organisms:	1 – 3 days
8. No. organisms per test chamber:	10
9. No. replicate chambers per concentration:	3
10. No. of concentrations:	6 + 1 control
11. No organisms per concentration:	30
12. Feeding regime:	<i>Artemia</i> nauplii once daily
13. Test duration:	96 hours
14. Dilution water	Natural filtered seawater
15. Salinity:	34 ± 1‰
16. Endpoint:	Mortality (LC(I)50)
17. Analytical Method:	Trimmed Spearman-Kärber (Hamilton <i>et al.</i> , 1977)
18. Test acceptability criterion:	90% or greater survival in controls
19. Reference substance:	Zinc
20. Range of sensitivity:	0,21 – 0,41 mgZn.L ⁻¹

Test results

LC(I) 50; 96h 68,551,56 ppm

Reference substance: LC(I)50; 96h: 0,27 mg.L⁻¹ (CL: 0,25 – 0,31 mg.L⁻¹)

Control survival: 100 %

L1752MJA

LAUDO DE TOXICIDADE

Órgão requisitante: M-I Drilling Fluids do Brasil Ltda

Técnico requisitante: José França

Endereço: Rua 19 de Fevereiro, nº 30 – 4º andar

Tel.: (21) 2537-2288

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: M-I Drilling Fluids do Brasil Ltda

Local de preparo da amostra: Rua Jesus Soares Pereira, 507 - Costa do Sol - Macaé – RJ

Identificação da amostra pelo solicitante: Fluido Alphadril

Amostra nº 161

Data de preparo: 10/01/2005

Código de entrada no Labtox: L175205

Data de entrada no Labtox: 12/01/2005

Data de início do teste: 14/01/2005

Data de término do teste: 18/01/2005

Composição da amostra:	PRODUTO	CONCENTRAÇÃO	UNIDADE
	Água industrial	0,87	bbf
	KCl	15	lb/bbf
	NaCl	50	lb/bbf
	Polysafe 600	1	lb/bbf
	Polypac UL	2	lb/bbf
	Duovis	2	lb/bbf
	Carbonato de cálcio 2-44	30	lb/bbf
	MI-BR Alpha free	10,00	lb/bbf
	Ultracap	1,5	lb/bbf
	Ultrahib	10,00	lb/bbf
	Ácido Cítrico	2	lb/bbf
	Bicarbonato sódio	2	lb/bbf
	M-I Lube LpH	6	lb/bbf
	Barita	20	lb/bbf
	M-I Cide	0,07	lb/bbf
	EMI-176	4,00	lb/bbf

L1752MJA

RESULTADOS
CL(I)50; 96 horas: 68.551,56 ppm da FPS
Intervalo de confiança IC: 59.692,94 – 78.724,83 ppm da FPS
Sobrevivência no controle: 100 %
Zinco: CL(I)50: 0,27 mg.L ⁻¹ (IC: 0,25 – 0,31 mg.L ⁻¹)

1 – OBJETIVO

Este teste, realizado de 14 a 18 de janeiro de 2005, teve como objetivo determinar a toxicidade aguda do fluido Alphadril (Amostra nº 161), sobre o microcrustáceo *Mysidopsis juniae*.

2 – METODOLOGIA

A determinação da toxicidade aguda em relação à *M. juniae* seguiu a metodologia descrita em CETESB (1992).

Jovens de *M. juniae* com 1 a 3 dias de idade, foram expostos a diferentes diluições da amostra, 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 (solução-estoque de 1.000.000 ppm) foram preparadas as soluções-teste, sendo



L1752MJA

testadas as seguintes diluições: 7.812; 15.625; 31.250; 62.500; 125.000 e 250.000 ppm (Fichas em anexo). Nas diluições de 500.000 e 1.000.000 ppm os organismos morreram durante a montagem do teste.

VALIDADE DO TESTE

O teste é considerado válido quando o percentual de sobrevivência no controle é maior ou igual a 90%.

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 1000 mL
Volume de solução-teste:	1000 mL
Origem dos organismos:	cultivo Labtox
Idade dos organismos:	1 a 3 dias
Nº de organismos / frasco:	10
Nº de réplicas / diluição:	3
Nº de diluições:	6 + 1 controle *
Alimentação:	20 náuplios de <i>Artemia</i> sp. recém eclodidos/misidáceo/dia
Água de diluição:	água do mar natural filtrada
Salinidade das soluções-teste:	34±1 ‰
Duração do teste:	96 horas
Resposta:	mortalidade
Valor medido:	CL(I)50; 96h (diluição inicial letal a 50% dos organismos em teste, em 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.

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⁻¹.

O resultado da CL(I)50; 96h obtido no teste realizado, em janeiro de 2005, com o zinco foi 0,27 mg.L⁻¹ (IC: 0,25 – 0,31 mg.L⁻¹).



L1752MJA

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 Alphadril (Amostra nº 161) foi de 68.551,56 ppm da FPS (IC: 59.692,94 – 78.724,83 ppm da FPS). 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 na ficha em anexo.

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 Alphadril -Amostra nº 161.

Diluição da FPS (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	
7.812	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	8	20
	10	10	10	10	7	
	10	10	10	10	9	
62.500	10	10	10	9	7	16,7
	10	10	10	10	9	
	10	10	10	10	9	
125.000	10	7	2	0	0	100
	10	8	4	0	0	
	10	3	1	0	0	
250.000	10	0	0	0	0	100
	10	0	0	0	0	
	10	0	0	0	0	



L1752MJA

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Test Type: Agudo Duration: 96 hours Concentration Unit: ppm

Raw Data:

Concentration: 15625 31250 62500 125000 250000

Number Exposed: 30 30 30 30 30

Mortalities: 0 6 5 30 30

SPEARMAN-KARBER TRIM: .00%

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: LC50: 68.551,56

95% Lower Confidence: 59.692,94

95% Upper Confidence: 78.724,83

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.



L1752MJA

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

Coordenadora de Pesquisa e Tecnologia: Viviane Euzébio Luiz

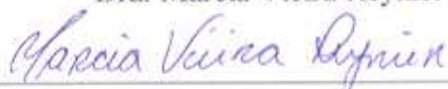
BIÓLOGAS:

Carina C. Gomes Machado - CRB-2 - 32963/02

Desideria Lima Calleja - CRB-2 - 38219/02 P

ELABORADO POR:

Dra. Marcia Vieira Reynier



REVISADO POR:

Dra. Maria Cristina da S. Maurat



Rio de Janeiro, 18 de janeiro de 2005.

Data Início: 14 / 01 / 05 Hora: 09:20 Término: 18 / 01 / 05

Organismo-teste: M. juncus Operador(es): DESIDERIA / GABRIELE

Tipo de amostra: Fluido Cód. entrada L175205 Salinidade: 35 ‰ pH 8,85

Solução-estoque: 600 mL (mg) da substância (amostra bruta) + 5400 mL de água de diluição

Concentração final da solução-estoque: 1000000 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: 033 Salinidade: 33 ‰ pH: 8,25 OD: 6,02 mg.L⁻¹

Origem dos organismos: Cultivo Labtox Lote: 272A Idade: 1a3 dias

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

Vol. da solução-teste por béquer: 900 mL N° de organismos por béquer: 10

N° de réplicas por diluição: 3

Atenção do teste: Temperatura 25±1°C Fotoperíodo: 12:12 h

PREPARO DAS SOLUÇÕES-TESTE		
* Avolumado para <u>3000</u> mL		
Diluição ppm	Vol. sol. estoque mL*	Béquer n°
<u>0,0</u>	<u>-</u>	<u>1-3</u>
<u>7812</u>	<u>23,44</u>	<u>4-6</u>
<u>15625</u>	<u>46,88</u>	<u>7-9</u>
<u>31250</u>	<u>93,75</u>	<u>10-12</u>
<u>62500</u>	<u>187,5</u>	<u>13-15</u>
<u>125000</u>	<u>375</u>	<u>16-18</u>
<u>250000</u>	<u>750</u>	<u>19-21</u>
<hr/>		

OBS: Nas diluições de 500.000 e 1.000.000 ppm, os organismos morreram durante a montagem do teste.

ACOMPANHAMENTO DO TESTE

béquer nº	Nº de org. mortos				béquer nº	Nº de org. mortos			
	24h	48h	72h	96h		24h	48h	72h	96h
1	0	0	0	0	18	1	2	1	—
2	0	0	0	0	19	10	—	—	—
3	0	0	0	0	20	10	—	—	—
4	0	0	0	0	21	10	—	—	—
5	0	0	0	0					
6	0	0	0	0					
7	0	0	0	0					
8	0	0	0	0					
9	0	0	0	0					
10	0	0	0	2					
11	0	0	0	3					
12	0	0	1	1					
13	0	0	1	2					
14	0	0	0	1					
15	0	0	0	1					
16	3	5	2	—					
17	2	4	4	—					

Vol. da sol. de *Artêmia* sp.: 0h 37,5 µL 24h 39,5 µL 48h 39,5 µL 72h 45,5 µL
 45

PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS DAS SOLUÇÕES-TESTE

Sobrevivência no controle: 100 %

Diluição (ppm)	Total de mortos	Mortalidade (%)	Início			Término			Béquer nº
			S ‰	OD (mg.L ⁻¹)	pH	S ‰	OD (mg.L ⁻¹)	pH	
0,0	0	0	33	6,02	8,25	34	6,24	8,20	2 2
7812	0	0	33	6,85	8,25	34	7,03	8,11	4
15625	0	0	33	6,91	8,20	34	6,09	8,15	7
31250	6	90	33	6,86	8,35	34	6,13	8,10	10
62500	5	16,7	33	6,96	8,37	34	6,60	8,15	15
125000	30	100	33	7,02	8,39	34	6,98	8,22	16
250000	30	100	33	6,97	8,48	34	6,20	7,84	20