

TESTE DE TOXICIDADE DO FLUIDO BR-CARB
UTILIZANDO *Mysidopsis juniae* (CRUSTACEA-MYSIDACEA)

SOLICITANTE:

Baker Hughes do Brasil Ltda.
Rodovia Amaral Peixoto, Km 184,
L.32/34 Q.05, Balneário Lagomar, Macaé, RJ
CEP 27970-020 – Tel (22) 2765-2505

EXCUTADO POR:

LABTOX – Laboratório de Análise Ambiental Ltda
Av. 24, s/n° - 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 1785MJA

Rio de Janeiro

LAUDO DE TOXICIDADE

Órgão requisitante: Baker Hughes do Brasil Ltda.

Técnico requisitante: Lidiane da Rocha

Endereço: Rodovia Amaral Peixoto, Km 184, L.32/34 Q.05, Balneário Lagomar, Macaé, RJ -
CEP 27970-020 Tel.: (22) 2765-2505

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: Baker Hughes do Brasil Ltda.

Identificação da amostra pelo solicitante: Fluido BR-CARB

Data de preparo: 01/02/2005

Código de entrada no Labtox: L178505

Data de entrada no Labtox: 01/02/2005

Data de início do teste: 16/02/2005

Data de término do teste: 20/02/2005

Composição da amostra:	Produto	Concentração	Unidade
	Sea water	0,90	bbl
	Cloreto de Potássio Tipo I	10	ppb
	Antiespumante	0,10	Lts/bbl
	Glutaraldeído (Carbosan GT)	0,06	%
	Goma Xantana	2,0	ppb
	HP Amido	12,0	ppb
	Óxido de Magnésio	1,5	ppb
	Carbonato de Cálcio Micronizado	60,0	ppb
	Preventor de Emulsão	0,30	% by vol.

RESULTADOS
CL(I)50; 96 horas: 160.613,68 ppm
Intervalo de Confiança (IC): 141.555,27 - 182.238,03 ppm
Sobrevivência no controle: 100 %
Padrão (Zinco): 0,33 mg.L ⁻¹ (IC: 0,30 - 0,37 mg.L ⁻¹)



1 - OBJETIVO

Este teste, realizado de 16 a 20 de fevereiro de 2005, teve como objetivo determinar a toxicidade aguda do fluido BR-CARB, 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 3 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 5.400 mL de água do mar. O extrato foi homogeneizado em misturador industrial por 5 minutos a 150 rpm e decantado por uma hora. Após este período, a fração particulada suspensa (FPS) foi retirada e teve o pH ajustado de 9,90 para 8,65 com 2000 µL de HCl. A partir desta solução-estoque (1.000.000 ppm) foram preparadas as soluções-teste, sendo testadas as seguintes diluições: 7.812; 15.625; 31.250; 62.500; 125.000 e 250.000 ppm (Ficha 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⁻¹.

O resultado da CL(I)50;96h obtido no teste realizado, em fevereiro de 2005, com o zinco foi 0,33 mg.L⁻¹ (IC: 0,30 – 0,37 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 1000 mL
Volume de solução teste: ----- 1000 mL
Origem dos organismos: ----- cultivo Labtox
Idade dos organismos: ----- 3 a 6 dias
Nº de organismos / frasco: ----- 10
Nº de réplicas / diluição: ----- 3
Nº de diluições: ----- 6 + 1 controle *
Alimentação: ----- 20 náuplios de *Artemia* sp. recém eclodidos/misidáceo/dia
Água de diluição: ----- água do mar natural filtrada
Salinidade da água: ----- 32‰
Duração do teste: ----- 96 horas
Resposta: ----- mortalidade
Valor medido: ----- CL(I)50; 96h (diluição 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 BR-CARB foi de 160.613,68 ppm da FPS (IC: 141.555,27 - 182.238,03 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 na ficha em anexo.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Test Type: agudo Duration: 96 h Concentration Unit: ppm

Raw Data:

Concentration: 7812 15625 31250 62500 125000 250000

Number Exposed: 30 30 30 30 30 30

Mortalities: 3 1 4 3 5 30

SPEARMAN-KARBER TRIM: 10.00%

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: LC50: 160.613,68

95% Lower Confidence: 141.555,27 95% Upper Confidence: 182.238,03

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 BR-CARB.

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	9	10
	10	9	8	8	8	
	10	10	10	10	10	
15.625	10	10	10	10	10	3,3
	10	9	9	9	9	
	10	10	10	10	10	
31.250	10	*	*	*	9	13,3
	10	*	*	*	8	
	10	*	*	*	9	
62.500	10	*	*	*	9	10
	10	*	*	*	9	
	10	*	*	*	9	
125.000	10	*	*	*	9	16,6
	10	*	*	*	8	
	10	*	*	*	8	
250.000	10	*	*	*	0	100
	10	*	*	*	0	
	10	*	*	*	0	

* Não foi possível realizar a leitura devido a turbidez da amostra.



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

Coordenadora de Pesquisa e Tecnologia: Viviane Euzébio Luiz

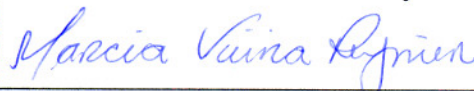
BIÓLOGAS:

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, 21 de fevereiro de 2005.

Data Início: 16 / 02 / 05 Hora: 14:30 Término: 20 / 02 / 05

Organismo-teste: n. Municipal Operador(es): Jiviane

Tipo de amostra: Fluido Cód. entrada L178505 Salinidade: 33 % pH 9,90

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: 2000 µL de HCl — µL de NaOH pH final: 8,65

Água de diluição: Lote: 035 Salinidade: 31 % pH: 8,07 OD: 5,53 mg.L⁻¹

Origem dos organismos: Cultivo Labtox Lote: 286B/286C Idade: 326 dias

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

Vol. da solução-teste por béquer: 1000 mL N° de organismos por béquer: 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°
<u>0,9</u>	<u>—</u>	<u>100-102</u>
<u>7.812</u>	<u>23,44</u>	<u>103-105</u>
<u>15.625</u>	<u>46,88</u>	<u>106-108</u>
<u>31.250</u>	<u>93,75</u>	<u>109-111</u>
<u>62.500</u>	<u>187,5</u>	<u>112-114</u>
<u>125.000</u>	<u>375</u>	<u>115-117</u>
<u>250.000</u>	<u>750</u>	<u>118-120</u>

OBS: _____

ACOMPANHAMENTO DO TESTE

béquero nº	Nº de org. mortos				béquero nº	Nº de org. mortos			
	24h	48h	72h	96h		24h	48h	72h	96h
100	0	0	0	0	117	*	*	*	2
101	0	0	0	0	118	*	*	*	10
102	0	0	0	0	119	*	*	*	10
103	0	0	0	1	120	*	*	*	10
104	1	1	0	0					
105	0	0	0	0					
106	0	0	0	0					
107	1	0	0	0					
108	0	0	0	0					
109	*	*	*	1					
110	*	*	*	2					
111	*	*	*	1					
112	*	*	*	1					
113	*	*	*	1					
114	*	*	*	1					
115	*	*	*	1					
116	*	*	*	2					

 Vol. da sol. de *Artêmia* sp.: 0h 54 µL 24h 35 µL 48h 70 µL 72h 62 µL

* Não foi possível realizar a contagem dos organismos, devido

PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS DAS SOLUÇÕES-TESTE

à turbidez da amostra.

Sobrevivência no controle: 100 %

Diluição (ppm)	Total de mortos	Mortalidade (%)	Início			Término			Béquero nº
			S %	OD (mg.L ⁻¹)	pH	S %	OD (mg.L ⁻¹)	pH	
0,0	0	0	31	5,53	8,07	31	5,12	8,33	100
7.812	3	10	32	5,99	8,26	32	4,60	8,09	103
15.625	1	3,3	31	6,19	8,15	31	3,61	7,99	106
31.250	4	13,3	31	6,15	8,18	32	5,81	8,22	109
62.500	3	10	31	6,14	8,20	32	5,8	8,39	112
125.000	5	16,6	31	6,03	8,28	32	5,81	8,33	117
250.000	30	100	31	6,13	8,38	33	5,87	8,10	118