

L1051MJA

**TESTE DE TOXICIDADE DO FLUIDO DE PERFURAÇÃO BR - MUL
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 1051MJA

Rio de Janeiro



L1051MJA

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 BR - MUL

Cód. 1.1.7

Data: 19/05/2003

Código de entrada no Labtox: L105103

RESULTADO DEFINITIVO
CL50; 96 horas: 548.412,49 ppm
Intervalo de Confiança (IC) = 485.441,84 – 619.551,58 ppm
Sobrevivência no controle: 96,7 %
Padrão (Zinco): 0,24 mg/L (IC: 0,22 – 0,27 mg/L)



L1051MJA

1 - OBJETIVO

Este teste, realizado de 03 a 07 de junho de 2003, teve como objetivo determinar a toxicidade aguda do fluido de perfuração BR - MUL 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: 7.812; 15.625; 31.250; 62.500; 125.000; 250.000; 500.000 e 1.000.000 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: ----- 8 + 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 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 0,22 – 0,42 mg/L.

O resultado da CL50; 96h obtido no teste realizado, em maio de 2003, com o zinco foi 0,24 mg/L (IC: 0,22 – 0,27 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 BR-MUL foi de 548.412,49 ppm da FPS (IC = 485.441,84 – 619.551,58 ppm) e a sobrevivência no controle foi de 96,7%.

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.



L1051MJA

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 BR - MUL.

Concentração (ppm)	Número de misidáceos vivos					Mortalidade após 96h (%)
	0 h	24h	48h	72h	96h	
Controle	10	10	10	10	10	3,3
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	9	
7.812	10	10	10	10	10	3,3
	10	10	10	10	10	
	10	10	9	9	9	
15.625	10	9	9	9	9	3,3
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
31.250	10	10	10	10	10	6,6
	10	10	10	10	9	
	10	10	10	10	9	
62.500	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
125.000	10	10	10	10	10	3,3
	10	10	10	9	9	
	10	10	10	10	10	
250.000	10	10	10	10	9	3,3
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
500.000	10	10	9	9	7	40
	10	10	5	5	4	
	10	10	8	7	7	
1.000.000	10	10	1	0	0	100
	10	7	1	0	0	
	10	9	4	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.

EQUIPE TÉCNICA:

Rio de Janeiro, 10 de julho de 2003.



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



MSc Marcia Vieira Reynier
Diretora Científica
CRB-2 - 07135/02



MSc 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

L1051MJA

A N E X O S

Teste no. 1051 Mja

Date: 03-06-03 Test Type: agudo

Duration: 96 h

Chemical: Fluido de perfuracao nao aquoso BR-MUL cod.1.1.7

Species: *Mysidopsis juniae*

Concentration Unit: ppm

Data Set is adjusted for control mortality using Abbott's correction.

Raw Data:

Concentration:	7812	15625	31250	62500	125000	250000	500000	1000000
Number Exposed:	30	30	30	30	30	30	30	30
Mortalities:	1	1	2	0	1	1	12	30
Abbott's Corr. Morts.:	0	0	1	0	0	0	11	30

Control Group Number: 1

Number Exposed-Control: 10

Number Mortalities-Control: 0

Control Group Number: 2

Number Exposed-Control: 10

Number Mortalities-Control: 0

Control Group Number: 3

Number Exposed-Control: 10

Number Mortalities-Control: 1

SPEARMAN-KARBER TRIM: .00%

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: LC50: 548.412,49

95% Lower Confidence: 485.441,84

95% Upper Confidence: 619.551,58

TESTE N° 1051 Mja Operador(es): Lila, Desidéria

Espécie: M. juncus

ORIGEM DOS ORGANISMOS		
Cultivo (x)	Fonte:	LABTOX
Campo ()	Local de coleta:	Temperatura: / °C
	Data:	Salinidade: / ‰

MANUTENÇÃO DOS ORGANISMOS:	
Alimento: náuplios de <i>Artemia</i> sp. <i>ad libitum</i>	Temperatura: <u>25 ± 1</u> °C
Tempo de cultivo: <u> </u> dias	Salinidade: <u>34 ± 1</u> ‰
Idade dos organismos: <u>2-4</u> dias	Fotoperíodo: 12:12h

TESTE		
INÍCIO	Data: <u>03 / 06 / 03</u>	Hora: <u>12</u> h <u>20</u> min
TÉRMINO	Data: <u>07 / 06 / 03</u>	Hora: <u>13</u> h <u>55</u> min.
Preliminar ()	Estático: (x)	Com aeração: (x)
Definitivo (x)	Semi-estático () Renovação: _____ h.	Sem aeração: ()

AMOSTRA				
Descrição: <u>Fluido de Perfuração não aquoso BR-MUL eod. Fluido 1.1.7</u>				
Código de entrada no laboratório: <u>L105103</u>	Data de entrada: <u>21/05/03</u>	Salinidade: <u>35</u> ‰ sem ajuste: (<input checked="" type="checkbox"/>) com ajuste (<input type="checkbox"/>)		
Ajuste da salinidade				
Volume de água destilada: — mL	Volume salmoura — mL	Volume de amostra: — mL	Salinidade final da amostra — ‰	Concentração final da amostra: — ppm
pH: da amostra (<input checked="" type="checkbox"/>) sem ajuste (<input type="checkbox"/>) com ajuste — μ L de — pH final <u>8,12</u>				
Salmoura: Método — Salinidade: — ‰ pH —				

ÁGUA DE DILUIÇÃO		
Fonte: Angra dos Reis	Data da coleta ou preparo: <u>30/05/03</u>	
Salinidade: <u>35</u> ‰	Oxigênio dissolvido: <u>5,82</u> mg/L	pH: <u>8,26</u>

Volume da solução-teste por bquer: 1000 mL
 N° de organismos por bquer: 10
 N° de réplicas por concentração: 3

Preparo da solução-estoque: 1000 000 (ppm) (mg/L, %) Teste n° 1051 - H. j. a.
600 mL (mg) de 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 7.812 2344 mL da solução-estoque + 9976,56 mL de água de diluição.

Solução 3 15.625 4688 mL da solução-estoque + 2953,12 mL de água de diluição.

Solução 4 31.250 9375 mL da solução-estoque + 2906,25 mL de água de diluição.

Solução 5 62.500 1875 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 1.500 mL da solução-estoque + 1.500 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, %	Bêquer n°	Início			Término		
		S %	OD (mg/l)	pH	S %	OD (mg/l)	pH
0,0	2	35	5,32	8,26	35	5,65	8,63
7.812	4	35	5,36	8,22	35	5,69	8,72
15.625	7	35	5,22	8,29	35	5,24	8,70
31.250	10	35	5,18	8,23	35	5,22	8,66
62.500	13	35	5,30	8,20	35	5,27	8,64
125.000	16	35	5,26	8,29	35	5,35	8,62
250.000	19	35	5,17	8,30	35	4,35	8,52
500.000	22	35	5,20	8,32	35	5,15	8,46
1000.000	25	35	5,26	8,33	35	4,65	8,38

ACOMPANHAMENTO DO TESTE

TESTE 1051 N. ja.

béquero nº	Nº de org. mortos				béquero nº	Nº de org. mortos			
	24h	48h	72h	96h		24h	48h	72h	96h
1	0	0	0	0	20	0	0	0	0
2	0	0	0	0	21	0	0	0	0
3	0	0	0	1	22	0	1	0	0
4	0	0	0	0	23	0	5	0	1
5	0	0	0	0	24	0	2	1	—
6	0	1	0	0	25	0	9	1	—
7	1	0	0	0	26	3	6	1	—
8	0	0	0	0	27	1	5	4	—
9	0	0	0	0					
10	0	0	0	0					
11	0	0	0	1					
12	0	0	0	1					
13	0	0	0	0					
14	0	0	0	0					
15	0	0	0	0					
16	0	0	0	0					
17	0	0	1	0					
18	0	0	0	0					
19	0	0	0	1					

Concentração de alimento: 30 náuplios de *Artêmia* sp. por misidáceo/dia.

Volume da solução de *Artêmia* sp.: 0h 45 µL 24h 56 µL

48h 67 µL 72h 52 µL

REGISTRO DE DADOS

Avenida 24, s/nº - Polo Bio-Rio - Incubadeira 3-4 - Cidade Universitária - Ilha do Fundão

Cep - 21941-590 - Rio de Janeiro - RJ - Tel: (5521) 3867-5501 R. 220 - e-mail: labtox@biorio.org.br

TESTE 1051 N. J. 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	1	9			1	3,3
7,812	0	10	0	10	1	9			1	3,3
15,625	1	9	0	10	0	10			1	3,3
31,250	0	10	1	9	1	9			2	6,6
62,500	0	10	0	10	0	10			0	0
125,000	0	10	1	9	0	10			1	3,3
250,000	1	9	0	10	0	10			1	3,3
500,000	3	7	6	4	3	7			12	40
1.000,000	10	0	10	0	10	0			30	100

M = número de organismos mortos

V = número de organismos vivos

Sobrevivência no controle: 96,7%

Obs:

RANDOMIZAÇÃO DE BÉQUERES

Concentração (ppm)	Béquer nº	Concentração (ppm)	Béquer nº
0,0	1-3	125,000	16-18
7,812	4-6	250,000	19-21
15,625	7-9	500,000	22-24
31,250	10-12	1.000,000	25-27
62,500	13-15		