

**TESTE DE TOXICIDADE COM O FLUIDO BR MUL HT (CÓDIGO 1.1.8)
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 1297 MJA

5

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 de Perfuração BR MUL HT

Código: 1.1.8 - Data: 13/01/2004

Código de entrada no Labtox: L129704

Data de entrada no Labtox: 21/01/2004

RESULTADOS
CL(I)50; 96 horas: 85.430,37 ppm
Intervalo de confiança (IC: 70.540,93 – 103.462,60 ppm)
Sobrevivência no controle: 96,67 %
Zinco: CL(I)50 = 0,24 mg.L ⁻¹ (IC: 0,23 – 0,25 mg.L ⁻¹)



1 - OBJETIVO

O objetivo deste teste, realizado de 09 a 13 de fevereiro de 2004, foi avaliar a toxicidade aguda do Fluido BR MUL HT (Código: 1.1.8), 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 2 a 4 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 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 desta solução estoque (1.000.000 ppm) foram preparadas as soluções-teste, sendo testadas as seguintes diluições: 7.813; 15.625; 31.250; 62.500; 125.000; 250.000; 500.000 e 1.000.000 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

L1297MJA

Labtox estão respondendo dentro da faixa de toxicidade previamente estabelecida para a espécie pelo laboratório, que é de 0,21 – 0,40 mg/L.

O resultado da CL(I)50; 96h obtido no teste realizado, em fevereiro de 2003, com o zinco foi 0,24 mg.L⁻¹ (IC: 0,23 – 0,25 mg.L⁻¹).

RESUMO DAS CONDIÇÕES DE TESTE

Tipo de teste:estático, com aeração
Temperatura de incubação:25 ± 0,5 °C
Luminosidade: 12 horas claro/12 horas escuro
Frasco teste: béquer de 400 mL
Volume de solução teste: 300 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 diluições:8 + 1 controle *
Alimentação:20 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: 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 *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 MUL HT, foi de 85.430,37 ppm (IC:70.540,93 – 103.462,60 ppm) e a sobrevivência no controle foi de 96,67%.

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

Date: 09-02-2004 Test Type: Agudo Duration: 96 hours
Chemical: Fluido 1.1.8 Species: *M.juniae* Concentration Unit: ppm
Data Set is adjusted for control mortality using Abbott's correction.

Raw Data:

Concentration:	7813	15625	31250	62500	125000	250000	500000
Number Exposed:	30	30	30	30	30	30	30
Mortalities:	2	2	2	11	24	26	30
Abbott's Corr. Morts.:	1	1	1	10	24	26	30

Control Group Number: 1

Number Exposed-Control: 10

Number Mortalities-Control: 1

Control Group Number: 2

Number Exposed-Control: 10

Number Mortalities-Control: 0

Control Group Number: 3

Number Exposed-Control: 10

Number Mortalities-Control: 0

SPEARMAN-KARBER TRIM: 3.33%

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: LC50: 85.430,37

95% Lower Confidence: 70.540,93

95% Upper Confidence: 103.462,60

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, 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.



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 MUL HT.

Diluição (ppm)	Número de misidáceos vivos					Mortalidade após 96h (%)
	0 h	24h	48h	72h	96h	
Controle	10	10	10	9	9	3,33
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
7.813	10	10	10	10	10	6,66
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	9	8	
15.625	10	10	10	10	10	6,66
	10	10	10	10	8	
	10	10	10	10	10	
31.250	10	10	10	10	9	6,66
	10	10	10	10	10	
	10	10	9	9	9	
62.500	10	10	9	7	7	36,6
	10	10	8	5	5	
	10	10	8	8	7	
125.000	10	10	6	3	2	80
	10	10	1	0	0	
	10	10	7	5	4	
250.000	10	10	5	3	2	86,6
	10	10	1	0	0	
	10	10	3	3	2	
500.000	10	10	1	0	0	100
	10	10	0	0	0	
	10	9	2	0	0	
1.000.000	10	9	3	2	0	100
	10	10	0	0	0	
	10	9	4	0	0	



5 - EQUIPE TÉCNICA:

Rio de Janeiro, 13 de fevereiro de 2004.

Leila Aparecida da Silva Kraus

MSc Leila Aparecida da Silva Kraus
CRB-2 - 12156/02

Marcia Vieira Reynier

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

Maria Cristina da Silva Maurat

Dra. Maria Cristina da Silva Maurat
CRB-2 - 12671/02

BIÓLOGAS:

Carina C. G. Machado
CRB-2 - 32963/02 P

Desideria Lima Calleja
CRB-2 - 38219/02 P

AUXILIAR DE ANÁLISE:

Viviane Euzébio Luiz

TESTE ~~7307~~ 1297

Data: 09 / 02 / 04

Organismo-teste: M. finice

Operador: RESIDERIA

Amostra: Fleuda

Cód. de entrada no laboratório: L129704

Data de entrada: 25 / 03 / 2004

DADOS DA AMOSTRA: Salinidade: 33 ‰ pH 8,14

Preparo da Solução-estoque: 600 mL (mg) da substância (amostra bruta)

5.400 mL de água de diluição.

Concentração final da solução-estoque: 3000.000 ppm (mg/l ‰)

AJUSTE DA SALINIDADE () SIM () NÃO

Volume de água destilada	Volume de salmoura:	de	Volume de amostra:	de	Salinidade final da amostra:	Concentração final da amostra:
— mL	— mL		— mL		— ‰	— ppm

SALMOURA

Método de obtenção: — Salinidade: — ‰ pH: —

AJUSTE DO pH () SIM () NÃO

Adição: — µL de HCl pH final: —

— µL de NaOH pH final: —

DADOS DA ÁGUA DE DILUIÇÃO

Local de coleta: Angra dos Reis

Data: 25 / 03 / 04

Salinidade: 33 ‰ pH: 8,04 OD: 5,37 mg/L

ORIGEM DOS ORGANISMOS

Cultivo (<input checked="" type="checkbox"/>)	Fonte: LABTOX	Lote:
Campo ()	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 a 4 dias	Fotoperíodo: 12:12h	

TESTE

INÍCIO	Data: 09 / 02 / 04	Hora: 09 h 00 min	
TÉRMINO	Data: 13 / 02 / 04	Hora: 11 h 05 min.	
Preliminar ()	Estático: (<input checked="" type="checkbox"/>)	Com aeração: (<input checked="" type="checkbox"/>)	Sem aeração: ()
Definitivo (<input checked="" type="checkbox"/>)	Semi-estático ()	Renovação: _____ h.	

Volume da solução-teste por bquer: 1000 ml

Nº de organismos por bquer: 10

Nº de réplicas por concentração: 2

Solução-estoque: 1.000.000 (ppm) (mg/L, %)

Teste 1297

Unidade: ppm

Preparo das soluções-teste

3000 ml

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 15.625 : 46,87^{ml} mL da solução-estoque + 2953 mL de água de diluição.

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

Solução 5 62.500 : 187,50 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 + 1500 mL de água de diluição.

Solução 9 1.000.000 : 3.000 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	2	33	5,37	8,04	34	3,96	8,11
7.813	4	33	5,56	8,01	34	4,14	8,18
15.625	7	33	5,66	8,00	33	4,11	8,21
	8	33			33	4,07	8,27
31.250	11	33	5,67	8,03	33	4,38	8,20
62.500	14	33	5,71	8,03	33	4,12	8,21
125.000	17	33	5,85	8,03	33	3,92	8,18
250.000	19	33	5,85	8,10	33	4,22	8,18
500.000	23	33	5,95	8,17	34	4,47	8,10
1.000.000	26	33	6,03	8,30	34	3,82	8,09

ACOMPANHAMENTO DO TESTE

TESTE 1297

béquero n°	N° de org. mortos				béquero n°	N° de org. mortos			
	24h	48h	72h	96h		24h	48h	72h	96h
1	0	0	1	0	20	0	9	1	—
2	0	0	0	0	21	0	7	0	1
3	0	0	0	0	22	0	9	1	—
4	0	0	0	0	23	0	10	—	—
5	0	0	0	0	24	1	7	2	—
6	0	0	1	1	25	1	6	1	2 ^{ML}
7	0	0	0	0	26	0	10	—	—
8	0	0	0	2	27	1	5	4	—
9	0	0	0	0					
10	0	0	0	1					
11	0	0	0	0					
12	0	1	0	0					
13	0	1	2	0					
14	0	2	3	0					
15	0	2	0	1					
16	0	4	3	1					
17	0	9	1	—					
18	0	3	2	1					
19	0	5	2	1					

Concentração de alimento: 20 náuplios de *Artêmia* sp. por misidáceo/dia.
 Volume da solução de *Artêmia* sp.: 0h 65,5 µL 24h 36 µL
 48h 52 µL 72h 30 µL

REGISTRO DE DADOS

TESTE Nº 1297

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	1	9	0	10	0	10			1	3,33
7.813	0	10	0	10	2	8			2	6,66
15.625	0	10	2	8	0	10			2	6,66
31.250	1	9	0	10	1	9			2	6,66
62.500	3	7	5	5	3	7			11	36,6
125.000	8	2	10	0	6	4			24	80
250.000	8	2	10	0	8	2			26	86,6
500.000	10	0	10	0	10	0			30	100
1.000.000	10	0	10	0	10	0			30	100

M = número de organismos mortos

V = número de organismos vivos

Sobrevivência no controle: 96,67%

Obs:

RANDOMIZAÇÃO DE BÉQUERES

Concentração (ppm)	Béquer nº	Concentração (ppm)	Béquer nº
0,0	1-3	125.000	16-18
7.813	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		