

**ENSAIO DE TOXICIDADE COM O FLUIDO BR-MUL CÓDIGO 1.1**  
**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](mailto:labtox@labtox.com.br)  
CEP: 21941-590

Ensaio 2004 MJA

Rio de Janeiro

## LAUDO DE TOXICIDADE

Órgão solicitante: Petróleo Brasileiro S.A. - PETROBRAS

Técnico solicitante: Hélio Gama

Endereço: Rodovia Amaral Peixoto, 11.000 – Km 163 - Imboassica - Macaé - RJ

Tel.: (22) 2761-2644/2761-9086

Avaliação solicitada: Ensaio de toxicidade aguda com microcrustáceo misidáceo

Organismo teste: *Mysidopsis juniae*

Tipo de ensaio: Agudo

Resposta do ensaio: Efeitos sobre a sobrevivência

Identificação da amostra pelo solicitante: Fluido BR-MUL - Código 1.1

Data do preparo: 15/06/2005

Código de entrada no Labtox: L200405

Data de entrada no Labtox: 17/06/2005

Data de início do ensaio: 17/06/2005

Data de término do ensaio: 21/06/2005

RESULTADOS
CL(I)50; 96h 276.022,38 ppm da FPS
Intervalo de confiança: 223.358,89 - 341.102,84 ppm da FPS
Sobrevivência no controle: 100 %
Zinco: CL(I)50: 0,29 mg.L <sup>-1</sup> (IC: 0,26 – 0,32 mg.L <sup>-1</sup> )

## 1 - OBJETIVO

Este ensaio, realizado de 17 a 21 de junho de 2005, teve como objetivo determinar a toxicidade aguda do Fluido BR-MUL - Código 1.1, sobre o microcrustáceo *Mysidopsis juniae*.

## 2 – METODOLOGIA

A determinação da toxicidade aguda em relação à *M. juniae* seguiu a metodologia descrita em Cetesb (1992), com adaptações.

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 ensaio a cada 24 horas.

### PREPARO DA AMOSTRA

A amostra do fluido foi mantida em temperatura aproximada de 4° C até a realização do ensaio 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 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 seguintes soluções-teste: 31.250; 62.500; 125.000; 250.000; 500.000 e 1.000.000 ppm (Fichas em anexo).

### VALIDADE DO ENSAIO

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

## CONTROLE DOS ENSAIOS DE *Mysidopsis juniae*

Mensalmente é realizado um ensaio de toxicidade com a substância de referência, zinco (Zn), na forma de sulfato de zinco heptahidratado, com o objetivo de verificar se a sensibilidade dos organismos cultivados no Labtox encontra-se dentro da faixa de toxicidade previamente estabelecida para a espécie pelo laboratório, que é de 0,21 a 0,41 mg.L<sup>-1</sup>.

O resultado da CL(I)50; 96h obtido no ensaio realizado, em junho de 2005, com o zinco foi 0,29 mg.L<sup>-1</sup> (IC: 0,26 – 0,32 mg.L<sup>-1</sup>).

### RESUMO DAS CONDIÇÕES DE ENSAIO

---

Tipo de ensaio: .....	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: .....	900 mL
Origem dos organismos: .....	cultivo Labtox
Idade dos organismos: .....	2 a 4 dias
Nº de organismos / frasco: .....	10
Nº de réplicas / solução-teste: .....	3
Nº de soluções-teste: .....	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:.....	35 ± 1 ‰
Duração do ensaio: .....	96 horas
Resposta: .....	mortalidade
Valor medido: .....	CL(I)50; 96h (diluição inicial letal a 50% dos organismos 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.

### 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 soluções-teste.

A CL(I)50;96h obtida com o Fluido BR-MUL - Código 1.1, foi de 276.022,38 ppm da FPS (IC: 223.358,89 - 341.102,84 ppm da FPS) e a sobrevivência no controle foi de 100 %.

Os valores de salinidade, pH e oxigênio dissolvido, medidos no início e no final do ensaio encontram-se listados nas fichas em anexo.

## ANÁLISE ESTATÍSTICA

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

Raw Data:

Concentration: 31250 62500 125.000 250.000 500000 1000000

Number Exposed: 30 30 30 30 30 30

Mortalities: 1 2 5 11 24 29

SPEARMAN-KARBER TRIM: 3.33%

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: LC50: 276.022,38

95% Lower Confidence: 223.358,89

95% Upper Confidence: 341.102,84

Tabela I - Resultados de sobrevivência e do percentual de mortalidade de misidáceos durante a leitura realizada a cada 24 horas, no ensaio conduzido com o Fluido BR-MUL - Código 1.1.

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	
31.250	10	10	10	10	10	3,3
	10	10	10	10	9	
	10	10	10	10	10	
62.500	10	10	10	10	10	6,6
	10	10	10	10	9	
	10	10	10	10	9	
125.000	10	10	10	10	6	16,6
	10	10	10	10	9	
	10	10	10	10	10	
250.000	10	10	10	10	8	36,6
	10	10	10	9	4	
	10	10	10	9	7	
500.000	10	10	10	8	4	80
	10	10	10	7	2	
	10	10	8	7	0	
1.000.000	10	1	1	1	1	96,6
	10	0	0	0	0	
	10	0	0	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.

#### 5 - EQUIPE TÉCNICA:

##### DIRETORAS:

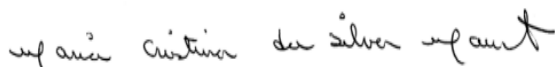
MSc Leila Aparecida da Silva Kraus - CRB-2 - 12156/02  
Dra. Marcia Vieira Reynier - CRB-2 - 07135/02  
Dra. Maria Cristina da Silva Maurat - CRB-2 - 12671/02

##### BIÓLOGAS:

Carina C. Gomes Machado – CRBio-2 - 32963/02  
Desideria Lima Calleja – CRBio-2 - 38219/02 P  
Gabriele A. Correa da Rocha – CRBio-2 - 42.496/02 P  
Viviane Euzébio Luiz – CRBio-2 - 42.535/02 P

ELABORADO POR:

Dra. Maria Cristina da S. Maurat



REVISADO POR:

MSc. Leila A. da Silva Kraus



Rio de Janeiro, 21 de junho de 2005.