

L2408MJA

**ENSAIO DE TOXICIDADE COM O FLUIDO DE PERFURAÇÃO CATIONICO
(CÓDIGO 2.16) 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
CEP: 21941-590

Ensaio 2408 MJA

Rio de Janeiro

Avenida 24, s/nº - Polo Bio-Rio - Laboratório 4 - Cidade Universitária - Ilha do Fundão
Cep: 21941-590 – Rio de Janeiro – RJ – Tel/Fax:(5521) 3867-5651 / 3867-5501 R: 220 – e-mail: labtox@labtox.com.br
Visite nosso site: www.labtox.com.br

LAUDO DE TOXICIDADE

Empresa 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 Tempo de exposição: 96 horas

Resposta do ensaio: Efeitos sobre a sobrevivência

Substância de referência: Zinco (sulfato de zinco heptahidratado)

Faixa de sensibilidade do organismo: 0,21 – 0,43 mg.L⁻¹ (31/10/2005)

Resultado do ensaio realizado com zinco em 04/01/2006: 0,26 mg.L⁻¹ (0,24 – 0,28 mg.L⁻¹)

Identificação da amostra pelo solicitante: Fluido de Perfuração Catiônico

Código: 2.16

Data: 03/01/2006

Código de entrada no Labtox: L240806

Data de entrada no Labtox: 04/01/2006

Data de início do ensaio: 09/01/2006

Data de término do ensaio: 13/01/2006

Obs₁: Os resultados apresentados neste laudo referem-se apenas ao ensaio realizado com a amostra acima citada.

Obs₂: Este laudo só pode ser reproduzido por completo. A reprodução de partes deste, só pode ser realizada com autorização escrita do Labtox.

RESULTADOS
CL(I)50; 96h: 130.447,25 ppm da FPS
Intervalo de confiança (IC): 106.834,14 – 159.279,47 ppm da FPS
Sobrevivência no controle: 100 %

FPS: Fração particulada suspensa

1 - OBJETIVO

Este ensaio, realizado de 09 a 13 de janeiro de 2006, teve como objetivo determinar a toxicidade aguda do fluido de perfuração Catiônico (Código 2.16) 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 4 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 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 seu preparo foi realizado 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: 7.812; 15.625; 31.250; 62.500; 125.000 e 250.000 ppm da FPS. Nas soluções-teste de 500.000 e 1.000.000 ppm da FPS, os organismos morreram durante a montagem do ensaio (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 0,43 mg.L⁻¹.

O resultado da CL(I)50; 96h obtido no ensaio realizado, em janeiro de 2006, com o zinco foi 0,26 mg.L⁻¹ (IC: 0,24 – 0,28 mg.L⁻¹).

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:	4 a 6 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:.....	32 a 33 ‰
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 de perfuração Catiônico (Código 2.16) foi de 130.447,25 ppm da FPS (IC: 106.834,14 – 159.279,47 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 ensaio encontram-se listados nas fichas em anexo.

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 de perfuração Catiônico (Código 2.16).

Solução-teste (ppm da FPS)	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	0
	10	*	*	*	10	
	10	*	*	*	10	
31.250	10	*	*	*	9	16,7
	10	*	*	*	8	
	10	*	*	*	8	
62.500	10	*	*	*	7	16,7
	10	*	*	*	9	
	10	*	*	*	9	
125.000	10	*	*	*	7	26,7
	10	*	*	*	8	
	10	*	*	*	7	
250.000	10	*	*	*	0	93,3
	10	*	*	*	1	
	10	*	*	*	1	

* Não foi possível realizar a contagem dos organismos, devido à turbidez das soluções-teste.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

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

Raw Data:

Concentration:	7812	15625	31250	62500	125000	250000
Number Exposed:	30	30	30	30	30	30
Mortalities:	0	0	5	5	8	28

SPEARMAN-KARBER TRIM: 6.67%

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: LC50: 130.447,25

95% Lower Confidence: 106.834,14

95% Upper Confidence: 159.279,47

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 - CRBio-2 - 12156/02
 Dra. Marcia Vieira Reynier - CRBio-2 - 07135/02
 Dra. Maria Cristina da Silva Maurat - CRBio-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. Marcia Vieira Reynier



REVISADO POR:

Dra. Maria Cristina da S. Maurat



Rio de Janeiro, 16 de janeiro de 2006.