

**TESTE DE TOXICIDADE COM O FLUIDO DE PERFURAÇÃO SALGADO
(KCL/NaCl) TRATADO COM POLÍMERO CATIONICO(CÓD. 2.5.4.1)
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
CEP: 21941-590

Teste 1493 MJA

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 Salgado (KCl/NaCl) Tratado com Polímero Catiônico

Código: 2.5.4.1 – Fluido Polimérico

Data do preparo: Não informada

Código de entrada no Labtox: L149304

Data de entrada no Labtox: 13/08/2004

RESULTADOS
CL(I)50; 96 horas: 157.490,13 ppm
Intervalo de confiança: 143.313,91 – 173.068,62 ppm
Sobrevivência no controle: 100 %
Zinco: CL(I)50 = 0,32 mg.L ⁻¹ (IC: 0,28 – 0,35 mg.L ⁻¹)

1 - OBJETIVO

O objetivo deste teste, realizado de 20 a 24 de agosto de 2004, foi avaliar a toxicidade aguda do Fluido de Perfuração Salgado (KCl/NaCl) Tratado com Polímero Catiônico (Cód. 2.5.4.1), sobre o microcrustáceo *Mysidopsis juniae*.

2 - METODOLOGIA

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

Jovens de *M. juniae* com 3 a 7 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 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 esse 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: 1.953; 3.906; 7.813; 15.625; 31.250; 62.500; 125.000 e 250.000 ppm (fichas em anexo). Nas diluições de 500.000 e 1.000.000 ppm, os organismos morreram durante a montagem do teste.

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.

O resultado da CL(I)50; 96h obtido no teste realizado, em agosto de 2004, com o zinco foi 0,32 mg.L⁻¹ (IC: 0,28 – 0,35 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 1.000 mL
Volume de solução teste:	1.000 mL
Origem dos organismos:	cultivo Labtox
Idade dos organismos:	3 a 7 dias
Nº de organismos / frasco:	10
Nº de réplicas / diluição:	3
Nº de diluições:	8 + 1 controle *
Alimentação:	20 náuplios de <i>Artemia</i> 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 <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 diluições testadas.

A CL(I)50;96h obtida com o Fluido de Perfuração Tratado Salgado (KCl/NaCl) com Polímero Catiônico (Cód. 2.5.4.1), foi de 157.490,13 ppm (IC: 143.313,91 – 173.068,62 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 nas fichas em anexo.

ESTATÍSTICA

Test Type: agudo Duration: 96h Concentration Unit: %
Raw Data:
Concentration: 1953 3906 7813 15625 31250 62500 125000 250000
Number Exposed: 30 30 30 30 30 30 30 30
Mortalities: 0 0 0 2 1 0 5 30
SPEARMAN-KARBER TRIM: .00%

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: LC50: 157.490,13
95% Lower Confidence: 143.313,91
95% Upper Confidence: 173.068,62

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 Salgado (KCl/NaCl) Tratado com Polímero Catiônico (Cód. 2.5.4.1).

Diluição (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	
1953	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
3906	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
7813	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
15625	10	10	10	10	10	6,6
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	8	
31250	10	10	10	10	9	3,3
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
62500	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	

125000	10	*	*	*	8	16,6
	10	*	*	*	10	
	10	*	*	*	7	
250000	10	*	*	*	0	100
	10	*	*	*	0	
	10	*	*	*	0	

* Não foi possível realizar a contagem dos organismos, devido à coloração 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 Mysisopsis 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 (*Mysisopsis 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

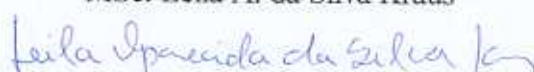
ELABORADO POR:

Dra. Maria Cristina da S. Maurat



REVISADO POR:

MSc. Leila A. da Silva Kraus



Rio de Janeiro, 03 de setembro de 2004.

Data Início: 20 / 08 / 04 Hora: 9:00 Término: 24 / 08 / 04

Organismo-teste: M. purpurea Operador(es): Danielina

Tipo de amostra: Líquido Cód. entrada 149304 Salinidade: 41 ‰ pH 8,57

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: — µL de HCl — µL de NaOH pH final: —

Água de diluição: Lote: 023 Salinidade: 35 ‰ pH: 8,00 OD: 4,70 mg.L⁻¹

Origem dos organismos: Cultivo Labtox Lote: MJ 192A Idade: 3 a 7 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>0,0</u>	<u>—</u>	<u>30-32</u>
<u>1.953</u>	<u>5,86</u>	<u>33-35</u>
<u>3.906</u>	<u>11,72</u>	<u>36-38</u>
<u>7.813</u>	<u>23,44</u>	<u>39-41</u>
<u>15.625</u>	<u>46,88</u>	<u>42-44</u>
<u>31.250</u>	<u>93,75</u>	<u>45-47</u>
<u>62.500</u>	<u>187,5</u>	<u>48-50</u>
<u>125.000</u>	<u>375</u>	<u>51-53</u>
<u>250.000</u>	<u>750</u>	<u>54-56</u>

OBS: Nas diluições de 500 até 1.000.000 ppm, os organismos morreram durante a montagem do teste.

ACOMPANHAMENTO DO TESTE

béquer nº	Nº de org. mortos				béquer nº	Nº de org. mortos			
	24h	48h	72h	96h		24h	48h	72h	96h
30	Ø	Ø	Ø	Ø	47	Ø	Ø	Ø	Ø
31	Ø	Ø	Ø	Ø	48	Ø	Ø	Ø	Ø
32	Ø	Ø	Ø	Ø	49	Ø	Ø	Ø	Ø
33	Ø	Ø	Ø	Ø	50	Ø	Ø	Ø	Ø
34	Ø	Ø	Ø	Ø	51	*	*	*	2
35	Ø	Ø	Ø	Ø	52	*	*	*	Ø
36	Ø	Ø	Ø	Ø	53	*	*	*	3
37	Ø	Ø	Ø	Ø	54	*	*	*	10
38	Ø	Ø	Ø	Ø	55	*	*	*	10
39	Ø	Ø	Ø	Ø	56	*	*	*	Ø 10
40	Ø	Ø	Ø	Ø					10 <i>Heniz</i>
41	Ø	Ø	Ø	Ø					
42	Ø	Ø	Ø	Ø					
43	Ø	Ø	Ø	Ø					
44	Ø	Ø	Ø	2					
45	Ø	Ø	Ø	L					
46	Ø	Ø	Ø	Ø					

Vol. da sol. de *Artêmia* sp.: 0h 35 µL 24h 30 µL 48h 27 µL 72h 27 µL
32

PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS DAS SOLUÇÕES-TESTE

* Não foi possível realizar a contagem dos organismos, devido à coloração da amostra. Sobrevivência no controle: 100 %

Diluição ()	Total de mortos	Mortalidade (%)	Início			Término			Béquer nº
			S %	OD (mg.L ⁻¹)	pH	S %	OD (mg.L ⁻¹)	pH	
0,0	Ø	Ø	35	4,70	8,00	35	5,29	8,25	31
1953	Ø	Ø	35	4,73	8,20	35	6,28	8,36	33
3906	Ø	Ø	35	4,93	8,28	35	6,49	8,32	37
7813	Ø	Ø	35	5,01	8,21	35	5,42	8,21	40
15625	2	6,6	35	5,01	8,21	35	5,39	8,28	43
31250	1	3,3	35	5,09	8,22	35	5,53	8,22	46
62500	Ø	Ø	35	5,14	8,09	36	6,03	8,34	49
125.000	5	16,6	35	5,08	8,21	36	5,92	8,19	51
250.000	30	100	35	5,05	8,15	37	6,86	8,28	54