

LI360MJA

**TESTE DE TOXICIDADE COM O FLUIDO DE PERFURAÇÃO SALGADO
(KCL E NaCL) – BASE ÁGUA - 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 1360 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 e NaCl), tratado com polímero catiônico.

Fluido Base água Código: 2.5.9

Data: 19/04/2004

Código de entrada no Labtox: L136004

Data de entrada no Labtox: 28/04/2004

RESULTADOS
CL(I)50; 96 horas: 396.850,26 ppm
Intervalo de confiança (IC: 334.322,02 - 471.073,17 ppm)
Sobrevivência no controle: 96,7 %
Zinco: CL(I)50 = 0,39 mg.L ⁻¹ (IC: 0,37 – 0,42 mg.L ⁻¹)

5

1 - OBJETIVO

O objetivo deste teste, realizado de 04 a 08 de maio de 2004, foi avaliar a toxicidade aguda do Fluido de Perfuração Salgado (KCl e NaCl) – Base água, 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 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 este período, a fração particulada suspensa (FPS) foi retirada e teve seu pH ajustado de 8,95 para 8,15 com 450µL de HCL. 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 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 maio de 2004, com o zinco foi 0,39 mg.L⁻¹ (IC: 0,37 – 0,42 mg.L⁻¹).

RESUMO DAS CONDIÇÕES DE TESTE

Tipo de teste:estático, com aeração
Temperatura de incubação:25 ± 1,0 °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 7 dias
Nº de organismos / frasco: 10
Nº de réplicas / diluição: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 de Perfuração Salgado (KCl e NaCl) – Base água, foi de 396.850,26 ppm (IC: 334.322,02 – 471.073,17 ppm) e a sobrevivência no controle foi de 96,7%.

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

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

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

Raw Data:

Concentration:	7.813	15.625	31.250	62.500	125.000	250.000	500.000	1.000.000
Number Exposed:	30	30	30	30	30	30	30	30
Mortalities:	1	2	0	3	0	10	16	30
Abbott's Corr. Morts.:	0	1	0	2	0	9	16	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: .00%

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: LC50: 396.850,26

95% Lower Confidence: 334.322,02

95% Upper Confidence: 471.073,17

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 e NaCL) – Base água.

Diluição (ppm)	Número de misidáceos vivos					Mortalidade após 96h (%)
	0 h	24h	48h	72h	96h	
Controle	10	10	9	9	9	3,3
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
7.813	10	10	10	10	10	3,3
	10	10	10	9	9	
	10	10	10	10	10	
15.625	10	10	9	9	9	6,6
	10	10	10	10	9	
	10	10	10	10	10	
31.250	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
62.500	10	10	10	9	9	10
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	8	
125.000	10	*	*	*	0	0
	10	*	*	*	0	
	10	*	*	*	0	
250.000	10	*	*	*	7	33,3
	10	*	*	*	6	
	10	*	*	*	7	
500.000	10	*	*	*	4	53,3
	10	*	*	*	4	
	10	*	*	*	1	
1.000.000	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 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 - CRB-2 – 32963/02
Desideria Lima Calleja - CRB-2 – 38219/02 P

AUXILIAR DE ANÁLISE: Viviane Euzébio Luiz

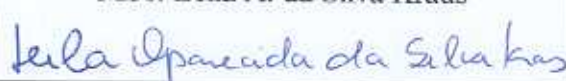
ELABORADO POR:

Dra. Maria Cristina Maurat



REVISADO POR

MSc. Leila A. da Silva Kraus



Rio de Janeiro, 12 de maio de 2004.

Data Início: 04 / 05 / 04 Hora: 14:30 Término: 08 / 05 / 04
Organismo-teste: M. quimias Operador(es): Dandara

Tipo de amostra: Fluido Cód. entrada 436004 Salinidade: 36 ‰ pH 8.95
Solução-estoque: 600 mL (mg) da substância (amostra bruta) + 5400 mL de água de diluição
Concentração final da solução-estoque: 1000000 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: 450 µL de HCl — µL de NaOH pH final: 8.15
Água de diluição: Lote: 016 Salinidade: 34 ‰ pH: 7.97 OD: 4.59 mg.L⁻¹

Origem dos organismos: Cultivo Labtox Lote: MI 132 B Idade: 2 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:			Vol <u>3000</u> mL
Diluição ppm	Vol. sol. estoque mL	Vol. água de diluição mL	Béquer n°
<u>0.0</u>	<u>—</u>	<u>3.000</u>	<u>15 - 17</u>
<u>7.813</u>	<u>23</u>	<u>2.977</u>	<u>42 - 44</u>
<u>15.625</u>	<u>47</u>	<u>2.953</u>	<u>45 - 47</u>
<u>31.250</u>	<u>93.8</u>	<u>2.906,2</u>	<u>48 - 50</u>
<u>62.500</u>	<u>188</u>	<u>2.812</u>	<u>51 - 53</u>
<u>125.000</u>	<u>375</u>	<u>2.625</u>	<u>54 - 56</u>
<u>250.000</u>	<u>750</u>	<u>2.250</u>	<u>57 - 59</u>
<u>500.000</u>	<u>1500</u>	<u>1.500</u>	<u>60 - 62</u>
<u>1000.000</u>	<u>3000</u>	<u>—</u>	<u>63 - 65</u>

OBS:

ACOMPANHAMENTO DO TESTE

béquer nº	Nº de org. mortos				béquer nº	Nº de org. mortos			
	24h	48h	72h	96h		24h	48h	72h	96h
15	0	1	0	0	56	*	*	*	0
16	0	0	0	0	57	*	*	*	3
17	0	0	0	0	58	*	*	*	4
42	0	0	0	0	59	*	*	*	3
43	0	0	1	0	60	*	*	*	6
44	0	0	0	0	61	*	*	*	6
45	0	1	0	0	62	*	*	*	9
46	0	0	0	1	63	*	*	*	10
47	0	0	0	0	64	*	*	*	10
48	0	0	0	0	65	*	*	*	10
49	0	0	0	0					
50	0	0	0	0					
51	0	0	1	0					
52	0	0	0	0					
53	0	0	0	2					
54	*	*	*	0					
55	*	*	*	0					

Vol. da sol. de *Artêmia* sp.: 0h 40 µL 24h 31 µL 48h 25 µL 72h 42 µL

* Não foi possível realizar a contagem dos organismos, devido a coloração da amostra.
PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS DAS SOLUÇÕES-TESTE

Sobrevivência no controle: 96,7 %

Diluição (ppm)	Total de mortos	Mortalidade (%)	Início			Término			Béquer nº
			S ‰	OD (mg.L ⁻¹)	pH	S ‰	OD (mg.L ⁻¹)	pH	
0,0	1	3,3	34	4,59	7,97	34	3,24	8,19	15
7813	1	3,3	34	5,15	7,98	34	4,40	7,98	42
15625	2	6,6	34	5,26	7,99	34	4,48	7,94	45
15625	0	0	34	5,21	8,04	34	4,89	7,95	48
61500	3	10	34	5,24	8,03	34	4,42	7,79	51
125000	0	0	34	4,92	8,11	34	4,71	7,87	54
250000	10	33,3	34	5,17	8,11	34	2,66	7,29	57
500000	16	53,3	35	5,15	8,07	35	2,80	7,46	60
1000000	30	100	36	4,63	8,35	37	1,38	7,11	63