

**TESTE DE TOXICIDADE COM O FLUIDO DE PERFURAÇÃO SCOL (CÓD. 2.6.6)
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 1494 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 SCOL

Código: 2.6.6 – Fluido base água “genérico”

Data de preparo: 12/08/2004

Código de entrada no Labtox: L149404

Data de entrada no Labtox: 13/08/2004

RESULTADOS
CL(I)50; 96 horas: 84.396,87 ppm
Intervalo de confiança: 70.344,64 – 101.256,21 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 23 a 27 de agosto de 2004, foi avaliar a toxicidade aguda do Fluido de Perfuração SCOL (Cód. 2.6.6), 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 4 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: 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%.

b

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:	4 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 SCOL (Cód. 2.6.6), foi de 84.396,87 ppm (IC: 70.344,64 – 101.256,21 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: 7813 15625 31250 62500 125000 250000 500000 1000000
 Number Exposed: 30 30 30 30 30 30 30 30
 Mortalities: 0 0 1 13 18 30 30 30
 SPEARMAN-KARBER TRIM: .00%
 SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: LC50: 84.396.87
 95% Lower Confidence: 70.344.64 95% Upper Confidence: 101.256.21

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 SCOL (Cód. 2.6.6).

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	
7.813	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
15.625	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	9	9	9	
	10	10	10	10	10	
62.500	10	10	10	9	5	43,3
	10	10	9	9	6	
	10	10	10	9	6	
125.000	10	9	7	6	5	60
	10	9	6	5	4	
	10	7	7	5	3	
250.000	10	*	*	*	0	100
	10	*	*	*	0	
	10	*	*	*	0	
500.000	10	*	*	*	0	100
	10	*	*	*	0	
	10	*	*	*	0	

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

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

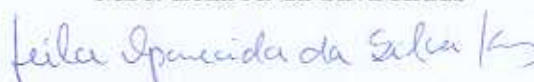
ELABORADO POR:

Dra. Maria Cristina da S. Maurat



REVISADO POR:

MSc. Leila A. da Silva Kraus



Rio de Janeiro, 03 de setembro de 2004.

Data Início: 23 / 08 / 04 Hora: 9:30 Término: 27 / 08 / 04

Organismo-teste: M. juncid Operador(es): Juivane

Tipo de amostra: Líquida Cód. entrada L149404 Salinidade: 35 ‰ pH 8,50

Solução-estoque: 600 mL (mg) da substância (amostra bruta) + 3400 mL de água de diluição

Concentração final da solução-estoque: 3.000.000 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: 8,14 OD: 5,40 mg.L⁻¹

Origem dos organismos: Cultivo Labtox Lote: MJ 193E Idade: 4 a 7 dias

Teste: Com aeração () Sem aeração () Estático () Semi-estático () renovação: — h

Vol. da solução-teste por béquero: 900 mL N° de organismos por béquero: 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*	Béquero n°
<u>9,0</u>	<u>—</u>	<u>1-3</u>
<u>7,813</u>	<u>23,44</u>	<u>4-6</u>
<u>15,625</u>	<u>46,88</u>	<u>7-9</u>
<u>31,250</u>	<u>93,75</u>	<u>10-12</u>
<u>62,500</u>	<u>187,5</u>	<u>13-15</u>
<u>125,000</u>	<u>375</u>	<u>16-18</u>
<u>250,000</u>	<u>750</u>	<u>19-21</u>
<u>500,000</u>	<u>1500</u>	<u>22-24</u>
<u>3.000.000</u>	<u>3000</u>	<u>25-27</u>

OBS: _____

ACOMPANHAMENTO DO TESTE

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

Vol. da sol. de *Artêmia* sp.: 0h 27 µL 24h 235 µL 48h 38 µL 72h 20 µL

* Não foi possível realizar a contagem dos organismos, devido

PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS DAS SOLUÇÕES-TESTE

à coloração da amostra

Sobrevivência no controle: 100 %

Diluição (ppm)	Total de mortos	Mortalidade (%)	Início			Término			Béquero n°
			S %	OD (mg.L ⁻¹)	pH	S %	OD (mg.L ⁻¹)	pH	
0,0	0	0	35	5,40	8,14	36	5,24	8,28	1
78,13	∅	∅	35	6,74	8,14	36	5,67	8,25	4
156,25	∅	∅	35	6,52	8,14	36	5,43	8,16	7
31,250	1	3,3	35	6,23	8,15	36	5,32	8,15	10
62,500	13	43,3	35	6,27	8,16	36	5,37	8,13	13
125,000	18	60	35	6,81	8,16	36	5,06	8,05	16
250,000	30	100	35	6,20	8,19	36	5,54	7,98	19
500,000	30	100	35	6,20	8,29	36	4,05	7,77	22
1.000,000	30	100	35-40	4,12	8,50	37	5,09	7,80	26