

**TESTE DE TOXICIDADE COM O FLUIDO SOLUÇÃO DE CLORETO DE CÁLCIO
(CÓDIGO 3.4.29.5) 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 1856 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 Solução de Cloreto de Cálcio

(código 3.4.29.5)

Data de preparo: 28/03/2005

Código de entrada no Labtox: L185605

Data de entrada no Labtox: 29/03/2005

Data de início do teste: 01/04/2005

Data de término do teste: 05/04/2005

RESULTADOS
CL(I)50; 96 horas: 30.470,14 ppm da FPS
Intervalo de confiança: 26.842,13 - 34.588,51 ppm da FPS
Sobrevivência no controle: 90 %
Zinco: CL(I)50: 0,25 mg.L ⁻¹ (IC: 0,23 – 0,28 mg.L ⁻¹)

1 - OBJETIVO

O objetivo deste teste, realizado de 01 a 05 de abril de 2005, foi avaliar a toxicidade aguda do Fluido Solução de Cloreto de Cálcio (cód. 3.4.29.5), 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 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 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 a salinidade ajustada de 93 para 33‰, resultando em uma solução-estoque de 354.833 ppm. A partir dela foram preparadas as soluções-teste, sendo testadas as seguintes diluições: 693; 1.386; 2.772; 5.544; 11.088; 22.177 e 44.354 ppm da FPS (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 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⁻¹.

O resultado da CL(I)50; 96h obtido no teste realizado, em março de 2005, com o zinco foi 0,25 mg.L⁻¹ (IC: 0,23 – 0,28 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:2 a 4 dias
Nº de organismos / frasco: 10
Nº de réplicas / diluição:3
Nº de diluições: 7 + 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± 1 ‰
Duração do teste:96 horas
Resposta: mortalidade
Valor medido:CL(I)50; 96h (diluição 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 Solução de Cloreto de Cálcio (cód. 3.4.29.5), foi de 30.470,14 ppm da FPS (IC: 26.842,13 - 34.588,51 ppm) e a sobrevivência no controle foi de 90 %.

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:	693	1386	2772	5544	11088	22177	44354
Number Exposed:	30	30	30	30	30	30	30
Mortalities:	3	3	5	8	6	7	27
Abbott's Corr. Morts.:	0	0	2	6	3	4	27

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: 2

SPEARMAN-KARBER TRIM: 10.00%

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: LC50: 30.470,14

95% Lower Confidence: 26.842,13

95% Upper Confidence: 34.588,51

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 Solução de Cloreto de Cálcio (cód. 3.4.29.5).

Diluição da FPS (ppm)	Número de misidáceos vivos					Mortalidade após 96h (%)
	0 h	24h	48h	72h	96h	
Controle	10	10	10	10	9	10
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	8	
693	10	10	10	10	10	10
	10	10	10	10	9	
	10	10	10	10	8	
1.386	10	10	10	10	10	10
	10	10	10	10	8	
	10	10	10	10	9	
2.772	10	10	10	10	9	16,6
	10	10	10	10	8	
	10	10	10	10	8	
5.544	10	10	10	10	8	26,6
	10	10	10	10	7	
	10	10	10	10	7	
11.088	10	10	10	10	7	20
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	7	
22.177	10	10	10	10	7	23,3
	10	10	10	10	9	
	10	10	10	10	7	
44.354	10	10	1	0	0	90
	10	10	2	2	2	
	10	5	1	1	1	

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:

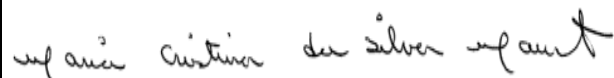
Carina C. Gomes Machado - CRB-2 – 32963/02

Desideria Lima Calleja - CRB-2 – 38219/02 P

Viviane Euzébio Luiz – CRB-2 – 42.535/02 P

ELABORADO POR:

Dra. Maria Cristina da S. Maurat



REVISADO POR:

Dra. Marcia Vieira Reynier



Rio de Janeiro, 11 de abril de 2005.