

**ENSAIO DE TOXICIDADE COM O FLUIDO SOLUÇÃO DE CLORETO DE CÁLCIO
CÓDIGO 3.4.29.6 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

Ensaio 2005 MJA

Rio de Janeiro

LAUDO DE TOXICIDADE

Órgão 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

Resposta do ensaio: Efeitos sobre a sobrevivência

Identificação da amostra pelo solicitante: Fluido solução de cloreto de cálcio-Código 3.4.29.6
Data do preparo: 14/06/2005

Código de entrada no Labtox: L200505

Data de entrada no Labtox: 17/06/2005

Data de início do ensaio: 19/07/2005

Data de término do ensaio: 23/07/2005

RESULTADOS
CL(I)50; 96h 34.785,60 ppm da FPS
Intervalo de confiança: 30.321,70 – 39.906,66 ppm da FPS
Sobrevivência no controle: 100 %
Zinco: CL(I)50: 0,31 mg.L ⁻¹ (IC: 0,28 – 0,35 mg.L ⁻¹)

1 - OBJETIVO

Este ensaio, realizado de 19 a 23 de julho de 2005, teve como objetivo determinar a toxicidade aguda do Fluido solução de cloreto de cálcio - Código 3.4.29.6, sobre o microcrustáceo *Mysidopsis juniae*.

2 – METODOLOGIA

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

Jovens de *M. juniae* com 1 a 5 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 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 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 teve a salinidade ajustada de >100‰ para 37‰, resultando em uma solução-estoque de 319.667 ppm. A partir dela foram preparadas as seguintes soluções-teste: 1.249; 2.497; 4.994; 9.990; 19.979 e 39.958 ppm (Fichas em anexo). Nas diluições de 79.917; 159.834 e 319.667 ppm os organismos morreram durante a montagem do ensaio.

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 0,41 mg.L⁻¹.

O resultado da CL(I)50; 96h obtido no ensaio realizado, em julho de 2005, com o zinco foi 0,31 mg.L⁻¹ (IC: 0,28 – 0,35 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:	1 a 5 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:.....	35‰
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 solução de cloreto de cálcio - Código 3.4.29.6, foi de 34.785,60 ppm da FPS (IC: 30.321,70 – 39.906,66 ppm da FPS) e 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.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

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

Raw Data:

Concentration: 1249 2497 4997 9990 19979 39958 79917
 Number Exposed: 30 30 30 30 30 30 30
 Mortalities: 0 0 2 0 2 19 30
 SPEARMAN-KARBER TRIM: .00%
 SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: LC50: 34.785,60
 95% Lower Confidence: 30.321,70
 95% Upper Confidence: 39.906,66

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 solução de cloreto de cálcio - Código 3.4.29.6.

Diluição da FPS (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	
1.249	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
2.497	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
4.997	10	10	10	10	10	6,7
	10	10	10	10	10	
	10	9	9	9	8	
9.990	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
19.979	10	10	10	10	10	6,7
	10	9	9	9	9	
	10	10	10	9	9	
39.958	10	9	8	7	5	63,3
	10	6	5	3	0	
	10	10	8	8	6	

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

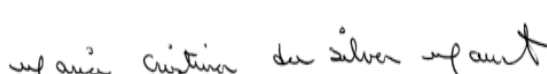
ELABORADO POR:

Dra. Marcia Vieira Reynier



REVISADO POR:

Dra. Maria Cristina da Silva Maurat



Rio de Janeiro, 26 de julho de 2005.