

**ENSAIO DE TOXICIDADE COM O EXTRATO DO ÓLEO FRADE CRUDE  
(MÉTODO ANDERSON) UTILIZANDO *Mysidopsis juniae*  
(CRUSTACEA-MYSIDACEA)**

SOLICITANTE:

Chevron Brasileira de Petróleo Ltda.  
Texaco Brasil BM-C-5 Ltda  
Av. República do Chile, 230/18º  
Rio de Janeiro, RJ CEP 20031-170  
Tel: (21) 2510 5979 Fax: (21) 2510-5909

Técnico solicitante: Sônia Lima  
E-mail: [soml@chevron.com](mailto:soml@chevron.com)

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](mailto:labtox@labtox.com.br)  
CEP: 21941-590

Laudo 2644AMJA

Rio de Janeiro

## LAUDO DE TOXICIDADE

## DADOS DO ENSAIO

Avaliação solicitada: Ensaio de toxicidade aguda com microcrustáceo misidáceo

Organismo-teste: *Mysidopsis juniae*

Tipo de ensaio: Agudo

Tempo de exposição: 96 horas

Resposta do ensaio: Efeitos sobre a sobrevivência

## VALIDADE DO ENSAIO

Sobrevivência dos organismos no controle:  $\geq 90\%$

Sensibilidade dos organismos do cultivo, à substância de referência, dentro da faixa estabelecida pelo Labtox

Substância de referência: Zinco ( sulfato de zinco heptahidratado)

Periodicidade dos ensaios com a substância de referência: mensal

Faixa de sensibilidade do organismo CL(I)50; 96h: 0,21 – 0,43 mg.L<sup>-1</sup> (31/10/2005)

## DADOS DA AMOSTRA

Identificação da amostra pelo solicitante: Óleo Frade Crude CRC 58369-2  
Método Anderson

Código de entrada no Labtox: L264406

Data de entrada no Labtox: 10/07/2006

Data de início do ensaio: 12/07/2006

Data de término do ensaio: 16/07/2006

| RESULTADOS   |
|--|
| CL(I)50;96 horas: 75,79% da FSA  |
| Intervalo de confiança: IC: 68,12 – 84,31% da FSA  |
| Sobrevivência no controle: 100 %   |
| Ensaio com Zinco (05/07/2006): 0,26 mg.L <sup>-1</sup> (IC: 0,24 – 0,28 mg.L <sup>-1</sup> ) |

FSA: Fração solúvel do óleo em água.

## 1 – OBJETIVO

Este ensaio, realizado de 12 a 16 de julho de 2006, teve como objetivo determinar a toxicidade aguda do extrato do óleo Frade Crude CRC 58369-2, pelo método Anderson, sobre o microcrustáceo *Mysidopsis juniae*.

## 2 – METODOLOGIA

A determinação da toxicidade aguda em relação à *M. juniae* seguiu a metodologia descrita em NBR 15.308 (ABNT, 2005).

Jovens de *M. juniae* com 2 a 5 dias de idade foram expostos a diferentes diluições do extrato, 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 Fração Solúvel do óleo em Água (FSA) foi preparada na proporção 1:9 (v/v) seguindo a metodologia descrita em Anderson *et al.* (1974). Esta mistura foi agitada em agitador magnético por 20 horas em frasco Mariotte, com vórtex medindo 1/3 do volume total, e decantada por uma hora. Após esse período, a fração aquosa foi retirada e utilizada como solução-estoque (100% da FSA) para o preparo das seguintes soluções-teste: 3,12; 6,25; 12,5; 25,0; 50,0 e 100% da FSA.



## RESUMO DAS CONDIÇÕES DE ENSAIO

Tipo de ensaio: .....agudo  
Temperatura de incubação: ..... 25 ± 1,0 °C  
Fotoperíodo: .....12 h luz/12 h escuro  
Frasco teste: .....béquer de 1000 mL  
Volume de solução-teste: .....900 mL  
Origem dos organismos: .....cultivo Labtox  
Idade dos organismos: .....2 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 *Artemia* sp. recém eclodidos/misidáceo/dia  
Água de diluição: .....água do mar natural filtrada  
Salinidade das soluções-teste: .....36 ‰  
pH das soluções-teste:.....7,89 a 8,17  
Oxigênio dissolvido das soluções-teste:.....4,89 a 5,84 mg.L<sup>-1</sup>  
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 *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 soluções-teste.

Os valores máximos e mínimos de oxigênio dissolvido, pH e salinidade medidos no início e ao final do ensaio, encontram-se na lista de resumo das condições de ensaio.



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 extrato do óleo Frade Crude (Método Anderson).

| Solução-teste<br>(% da FSA) | Número de misidáceos vivos |     |     |     |     | Mortalidade<br>após 96h<br>(%) |
|-----------------------------|----------------------------|-----|-----|-----|-----|--------------------------------|
|                             | 0 h                        | 24h | 48h | 72h | 96h |                                |
| Controle                    | 10                         | 10  | 10  | 10  | 10  | 0                              |
|                             | 10                         | 10  | 10  | 10  | 10  |                                |
|                             | 10                         | 10  | 10  | 10  | 10  |                                |
| 3,12                        | 10                         | 10  | 10  | 10  | 10  | 0                              |
|                             | 10                         | 10  | 10  | 10  | 10  |                                |
|                             | 10                         | 10  | 10  | 10  | 10  |                                |
| 6,25                        | 10                         | 10  | 10  | 10  | 10  | 0                              |
|                             | 10                         | 10  | 10  | 10  | 10  |                                |
|                             | 10                         | 10  | 10  | 10  | 10  |                                |
| 12,5                        | 10                         | 10  | 10  | 10  | 10  | 0                              |
|                             | 10                         | 10  | 10  | 10  | 10  |                                |
|                             | 10                         | 10  | 10  | 10  | 10  |                                |
| 25                          | 10                         | 10  | 10  | 10  | 10  | 0                              |
|                             | 10                         | 10  | 10  | 10  | 10  |                                |
|                             | 10                         | 10  | 10  | 10  | 10  |                                |
| 50                          | 10                         | 10  | 10  | 10  | 9   | 10                             |
|                             | 10                         | 10  | 10  | 10  | 9   |                                |
|                             | 10                         | 10  | 10  | 10  | 9   |                                |
| 100                         | 10                         | 8   | 3   | 3   | 2   | 77                             |
|                             | 10                         | 10  | 6   | 6   | 3   |                                |
|                             | 10                         | 10  | 3   | 3   | 2   |                                |

#### ANÁLISE ESTATÍSTICA

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

Raw Data:

Concentration:            3.12   6.25   12.5   25   50   100

Number Exposed:        30   30   30   30   30   30

Mortalities:              0   0   0   0   3   23

SPEARMAN-KARBER TRIM:            23,33%

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: LC50:            75,79

95% Lower Confidence:            68,12

95% Upper Confidence:            84,31



## GARANTIA DOS RESULTADOS

Os dados apresentados nesse laudo são confidenciais e referem-se unicamente aos resultados obtidos no ensaio com a amostra acima citada. Os dados brutos encontram-se à disposição da Empresa solicitante no Labtox.

Este laudo só pode ser reproduzido por completo. A reprodução de partes deste, só pode ser realizada com autorização escrita do Labtox.

## 4 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. 2005. Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade aguda – Método de Ensaio com misidáceos (Crustacea). NBR 15308, 17p.
- Anderson, J.W. *et al.* 1974. Characteristics of dispersal and water soluble extracts of crude and refined oil and their toxicity to marine crustaceans and fish. *Marine Biol.*, 27: 75-78.
- 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.

## 5 - EQUIPE TÉCNICA

### DIRETORAS:

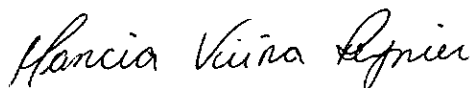
MSc Leila Aparecida da Silva Kraus - CRBio-2 - 12156/02  
Dra. Marcia Vieira Reynier - CRBio-2 - 07135/02  
Dra. Maria Cristina da Silva Maurat - CRBio-2 - 12671/02

### BIÓLOGAS:

Carina C. Gomes Machado - CRBio-2 – 32963/02  
Desideria Lima Calleja - CRBio-2 – 38219/02 P  
Gabrielle A. Correa da Rocha – CRBio-2 – 42496/02 P  
Viviane Euzébio Luiz – CRBio-2 – 42535/02

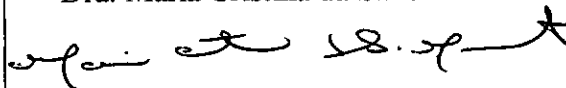
### ELABORADO POR:

Dra. Marcia Vieira Reynier



### REVISADO POR:

Dra. Maria Cristina da Silva Maurat



Rio de Janeiro, 26 de julho de 2006.