

**TESTE DE TOXICIDADE COM O ÓLEO FPSO BRASIL CÓDIGO LET 2604  
(MÉTODO TARZWELL) UTILIZANDO *Mysidopsis juniae* (CRUSTACEA-  
MYSIDACEA)**

Solicitante:

SEAMB/CENPES/PETROBRAS  
Centro de Pesquisa Leopoldo Miguez de Mello  
Ilha do Fundão - Cidade Universitária - Q7  
Tel: (21) 3865-6100

Executado por:

LABTOX – Laboratório de Análise Ambiental Ltda  
Av. 24, s/nº - Pólo BIO-RIO - Incubadeira 3 - 4  
Cidade Universitária – Ilha do Fundão  
Tel: (21) 3867-5651 / 3867-5501 ramal 220  
e-mail: labtox@biorio.org.br  
CEP: 21941-590

Teste nº 1003

Rio de Janeiro

## LAUDO DE TOXICIDADE

Órgão requisitante: Petróleo Brasileiro S.A. - PETROBRAS

Técnico requisitante: Eduardo Platte

Endereço: Centro de Pesquisa Leopoldo Miguez de Mello Ilha do Fundão Cidade  
Universitária Q7

Telefone: (21) 3865 7128

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: Óleo FPSO Brasil  
Código Let 2604 Método Tarzwell  
Data: 27/03/2003

Código de entrada no Labtox: 050403 Labtox

RESULTADO DEFINITIVO
CL50; 96 horas: 22,61 ppm da FDA
Intervalo de confiança (IC: 19,07 – 26,82 ppm)
Sobrevivência no controle: 96,7 %
Padrão (Zinco): 0,31 mg/L (IC: 0,28 – 0,35 mg/L)

## 1 - OBJETIVO

O objetivo deste teste, realizado de 08 a 12 de maio de 2003, foi avaliar a toxicidade aguda da amostra de Óleo FPSO Brasil (Código Let 2604) – Método Tarzwell - 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 concentrações da amostra, 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 de óleo foi enviada ao Labtox pela Petrobras. Foi preparada uma solução-estoque de 1000 ppm (v/v) da Fração Dispersa do óleo em Água (FDA), colocando-se 3 mL de óleo e avolumando-se para 3 litros com água do mar, seguindo a metodologia descrita em Tarzwell (1969). Esta mistura foi agitada em um homogeneizador elétrico por 5 segundos a uma velocidade de 13.000 rpm. A solução foi decantada e, após esse período, a fração dispersa foi retirada e a partir dessa solução-estoque (1000 ppm da FDA) foram preparadas as soluções-teste, sendo testadas as seguintes diluições: 1,95; 3,9; 7,81; 15,63; 31,25; 62,5; 125 e 250 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%.

## RESUMO DAS CONDIÇÕES DE TESTE

Tipo de teste:	-----	estático sem renovação
Temperatura de incubação:	-----	25 ± 0,5 °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 4 dias
Nº de organismos / frasco:	-----	10
Nº de réplicas / concentração:	-----	3
Nº de diluições:	-----	8 + 1 controle *
Alimentação:	-----	30 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:	-----	CL50; 96h (concentração 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 com água de diluição: exposição do organismo à água de diluição (água do mar natural) nas mesmas condições da amostra.

### 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 0,22 – 0,42 mg/L.

O resultado da CL50; 96h obtido no teste realizado, em abril de 2003, com o zinco foi 0,31 mg/L (IC: 0,28 – 0,35 mg/L).

### 3 - RESULTADOS

A tabela I apresenta o percentual de misidáceos mortos e o número de misidáceos vivos durante a leitura realizada a cada 24 horas nas diferentes diluições testadas. A CL50;96h obtida com a amostra de Óleo FPSO Brasil (Código Let 2604) - Método Tarzwell foi de 22,61 ppm da FDA (IC: 19,07 – 26,82 ppm) e a sobrevivência no controle foi de 96,7%.

Os resultados de salinidade, pH e oxigênio dissolvido, medidos no início e no final do teste nas diferentes diluições, encontram-se listados nas fichas em anexo.

### 4- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

Cetesb – Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. 1992. Água do Mar – Teste de toxicidade aguda com *Mysidopsis juniae* SILVA, 1979 (Crustacea – Mysidacea). Norma Técnica L5.251. São Paulo, Cetesb, p.19.

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.

Tarzwell, C.M. 1969. Standard methods for determination of oil dispersants and mixtures of dispersants and various oils to aquatic organisms.

Tabela 1 - Resultados de sobrevivência e do percentual de mortalidade de misidáceos durante a leitura realizada a cada 24 horas, no teste conduzido com a amostra de Óleo FPSO Brasil (Código Let 2604) – Método Tarzwell.

Concentração da amostra (ppm)	Número de misidáceos vivos					Mortalidade após 96h (%)
	0 h	24h	48h	72h	96h	
Controle	10	10	10	10	9	3,3
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
1,95	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
3,9	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
7,81	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
15,63	10	10	9	9	8	36,7
	10	10	8	8	7	
	10	10	8	4	4	
31,25	10	7	6	5	5	63,3
	10	9	6	4	4	
	10	9	8	2	2	
62,5	10	7	1	0	0	100
	10	3	0	0	0	
	10	3	0	0	0	
125	10	0	0	0	0	100
	10	0	0	0	0	
	10	0	0	0	0	
250	10	0	0	0	0	100
	10	0	0	0	0	
	10	0	0	0	0	

EQUIPE TÉCNICA:

Rio de Janeiro, 14 de maio de 2003.

*Leila Aparecida da Silva Kraus*

MSc Leila Aparecida da Silva Kraus  
Diretora Administrativa e Financeira  
CRB-2 - 12156/02

*Marcia Vieira Reynier*

MSc Marcia Vieira Reynier  
Diretora Científica  
CRB-2 - 07135/02

*Maria Cristina da Silva Maurat*

MSc Maria Cristina da Silva Maurat  
Diretora Comercial  
CRB-2 - 12671/02

BIÓLOGA:

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

AUXILIAR DE ANÁLISE:

Viviane Euzébio Luiz

## **A N E X O S**

Teste 1003

Date: 08/05/03                      Test Type: Agudo  
Duration: 96 horas  
Chemical: Óleo COD. LET 2604 – Método Tarzwell  
Species: *M. juniae*  
Concentration Unit: ppm

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

Raw Data:

Concentration:	1.95	3.90	7.81	15.63	31.25	62.50	125	250
Number Exposed:	30	30	30	30	30	30	30	30
Mortalities:	0	0	0	11	19	30	30	30
Abbott's Corr. Morts.:	0	0	0	10	19	30	30	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: 22.61  
95% Lower Confidence: 19.07  
95% Upper Confidence: 26.82

Juan

TESTE Nº 1003 Operador(es): Leila Viviane

Espécie: M. funicul

ORIGEM DOS ORGANISMOS			
Cultivo (X)	Fonte:	<u>LABTOX</u>	
Campo ( )	Local de coleta:	Temperatura:	°C
/	Data:	Salinidade:	‰
	/	/	/

MANUTENÇÃO DOS ORGANISMOS:	
Alimento: náuplios de <i>Artemia</i> sp. <i>ad libitum</i>	Temperatura: <u>25 ± 1</u> °C
Tempo de cultivo: <u>—</u> dias	Salinidade: <u>34 ± 1</u> ‰
Idade dos organismos: <u>2 a 4</u> dias	Fotoperíodo: 12:12h

TESTE		
INÍCIO	Data: <u>08/05/03</u>	Hora: <u>11 h 00</u> min
TÉRMINO	Data: <u>12/05/03</u>	Hora: <u>11 h 30</u> min.
Preliminar ( )	Estático: (X)	Com aeração: ( )
Definitivo (X)	Semi-estático ( ) Renovação: _____ h.	Sem aeração: (X)

AMOSTRA				
Descrição: <u>CCD. LET 2604 - METODO TARZWELL - ÓLEO FPSO BRASIL</u>				
Código de entrada no laboratório: <u>050403</u>	Data de entrada: <u>07/04/03</u>	Salinidade: <u>34</u> ‰ sem ajuste: ( <input checked="" type="checkbox"/> ) com ajuste ( <input type="checkbox"/> )		
Ajuste da salinidade				
Volume de água destilada: _____ mL	Volume saimoura _____ mL	Volume de amostra: _____ mL	Salinidade final da amostra _____ ‰	Concentração final da amostra: _____ ppm
pH: dá amostra ( <input checked="" type="checkbox"/> ) sem ajuste <u>7,48</u> ( <input type="checkbox"/> ) com ajuste _____ μL de _____ pH final <u>7,48</u>				
Salmoura: _____ Salinidade: _____ ‰ pH _____				

ÁGUA DE DILUIÇÃO		
Fonte: Angra dos Reis	Data da coleta ou preparo: <u>30/04/05</u>	
Salinidade: <u>34</u> ‰	Oxigênio dissolvido: <u>5,64</u> mg/L	pH: <u>8,07</u>

Volume da solução-teste por béquer: 300 mL  
 N° de organismos por béquer: 10  
 N° de réplicas por concentração: 3

Preparo da solução-estoque: 1000 (ppm) (~~mg/L, %~~)      Teste nº 1003  
3 mL (mg) da substância (amostra bruta) + \_\_\_\_\_ mL de água de diluição.

Unidade: \_\_\_\_\_      Preparo das soluções-teste

- Solução 1 1,95 : 1,95 mL da solução-estoque + 998,05 mL de água de diluição.
- Solução 2 3,9 : 3,9 mL da solução-estoque + 996,1 mL de água de diluição.
- Solução 3 7,81 : 7,81 mL da solução-estoque + 992,2 mL de água de diluição.
- Solução 4 15,63 : 15,63 mL da solução-estoque + 984,4 mL de água de diluição.
- Solução 5 31,25 : 31,25 mL da solução-estoque + 968,75 mL de água de diluição.
- Solução 6 62,5 : 62,5 mL da solução-estoque + 937,5 mL de água de diluição.
- Solução 7 125 : 125 mL da solução-estoque + 875 mL de água de diluição.
- Solução 8 250 : 250 mL da solução-estoque + 750 mL de água de diluição.
- Solução 9    :    mL da solução-estoque +    mL de água de diluição.
- Solução 10    :    mL da solução-estoque +    mL de água de diluição.

**PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS DAS SOLUÇÕES-TESTE**

Concentração <u>ppm, mg/L, %</u>	Béquer nº	Início			Término		
		S %	OD (mg/l)	pH	S %	OD (mg/l)	pH
<u>0,0</u>	<u>100</u>	<u>34</u>	<u>5,64</u>	<u>8,07</u>	<u>34</u>	<u>4,29</u>	<u>7,97</u>
<u>1,95</u>	<u>103</u>	<u>34</u>	<u>5,76</u>	<u>7,93</u>	<u>34</u>	<u>4,04</u>	<u>8,04</u>
<u>3,9</u>	<u>106</u>	<u>34</u>	<u>5,76</u>	<u>7,63</u>	<u>34</u>	<u>4,14</u>	<u>8,06</u>
<u>7,81</u>	<u>109</u>	<u>34</u>	<u>5,72</u>	<u>8,02</u>	<u>34</u>	<u>3,45</u>	<u>7,99</u>
<u>15,63</u>	<u>112</u>	<u>34</u>	<u>5,63</u>	<u>7,91</u>	<u>34</u>	<u>3,54</u>	<u>8,00</u>
<u>31,25</u>	<u>115</u>	<u>34</u>	<u>5,72</u>	<u>7,85</u>	<u>34</u>	<u>3,66</u>	<u>8,05</u>
<u>62,5</u>	<u>119</u>	<u>34</u>	<u>5,76</u>	<u>7,98</u>	<u>34</u>	<u>4,40</u>	<u>7,66</u>
<u>125</u>	<u>122</u>	<u>34</u>	<u>5,69</u>	<u>8,05</u>	<u>34</u>	<u>3,74</u>	<u>7,00</u>
<u>250</u>	<u>125</u>	<u>34</u>	<u>5,68</u>	<u>7,94</u>	<u>35</u>	<u>3,47</u>	<u>7,28</u>

ACOMPANHAMENTO DO TESTE

TESTE Nº 1003

béquer nº	Nº de org. mortos				béquer nº	Nº de org. mortos			
	24h	48h	72h	96h		24h	48h	72h	96h
100	0	0	0	1	119	7	3	—	—
101	0	0	0	0	120	7	3	—	—
102	0	0	0	0	121	10	—	—	—
103	0	0	0	0	122	10	—	—	—
104	0	0	0	0	123	10	—	—	—
105	0	0	0	0	124	10	—	—	—
106	0	0	0	0	125	10	—	—	—
107	0	0	0	0	126	10	—	—	—
108	0	0	0	0					
109	0	0	0	0					
110	0	0	0	0					
111	0	0	0	0					
112	0	1	0	1					
113	0	2	0	1					
114	0	2	4	0					
115	3	1	1	0					
116	1	3	2	0					
117	1	1	6	0					
118	3	6	1	—					

Concentração de alimento: 30 náuplios de *Artêmia* sp. por misidáceo/dia.

Volume da solução de *Artêmia* sp.: 0h 58 µL    24h 63 µL  
 48h 72 µL    72h 35 µL

## REGISTRO DE DADOS

TESTE Nº 1003

Conc. nominal (ppm, % ou mg/L)	réplica 1		réplica 2		réplica 3		réplica 4		Total de mortos	Mortalidade %
	M	V	M	V	M	V	M	V		
0,0	1	9	0	10	0	10			1	3,3
1,95	0	10	0	10	0	10			0	0
3,9	0	10	0	10	0	10			0	0
7,81	0	10	0	10	0	10			0	0
15,63	2	8	3	7	6	4			11	36,7
31,25	5	5	6	4	8	2			19	63,3
62,5	10	0	10	0	10	0			30	100
125	10	0	10	0	10	0			30	100
250	10	0	10	0	10	0			30	100

M = número de organismos mortos

V = número de organismos vivos

Sobrevivência no controle: 96,7 %

Obs:

## RANDOMIZAÇÃO DE BÉQUERES

Concentração (ppm)	Béquer nº	Concentração (ppm)	Béquer nº
0,0	100 - 102	31,25	115 - 117
1,95	103 - 105	62,5	118 - 120
3,9	106 - 108	125	121 - 123
7,81	109 - 111	250	124 - 126
15,63	112 - 114		