



**TESTE DE TOXICIDADE COM O ÓLEO FPSO BRASIL CÓDIGO LET 2604
(MÉTODO ANDERSON) 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 1001

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 Anderson

Data: 27/03/2003

Código de entrada no Labtox: 050403 Labtox

RESULTADO DEFINITIVO
CL50; 96 horas: 23,33 % da FSA
Intervalo de confiança (IC: 19,08 – 28,52 % da FSA)
Sobrevivência no controle: 90 %
Padrão (Zinco): 0,31 mg/L (IC: 0,28 – 0,35 mg/L)

IC = Intervalo de confiança

1 - OBJETIVO

O objetivo deste teste, realizado de 14 a 18 de abril de 2003, foi avaliar a toxicidade aguda da amostra de Óleo FPSO Brasil (Código Let 2604) – Método Anderson - 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. 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, a partir dessa solução-estoque (100% da FSA) foram preparadas as soluções-teste, sendo testadas as seguintes diluições: 0,78, 1,56, 3,13, 6,25, 12,5, 25,0, 50,0 e 100% da FSA (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: ----- $25 \pm 0,5$ °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 *Artemia* sp. Recém eclodidos/
misidáceo/dia
Água de diluição: ----- água do mar natural filtrada
Salinidade da água: ----- 33 ± 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 *et al.*,
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 1 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 Anderson) foi de 23,33 % da FSA (IC: 19,08 – 28,52 % da FSA) e a sobrevivência no controle foi de 90 %.

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:

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* vol 27, pgs 75-78.

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.

Juan

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.

Concentração da amostra (%)	Número de misidáceos vivos					Mortalidade após 96h (%)
	0 h	24h	48h	72h	96h	
Controle	10	10	9	9	9	10
	10	10	9	9	9	
	10	10	9	9	9	
0,78	10	10	10	10	10	6,6
	10	9	9	9	9	
	10	10	9	9	9	
1,56	10	10	10	10	8	13,3
	10	10	9	9	9	
	10	10	10	10	9	
3,13	10	10	10	10	8	20
	10	9	8	8	8	
	10	10	9	9	8	
6,25	10	10	10	10	9	3,3
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
12,5	10	9	9	6	5	40
	10	7	5	5	5	
	10	9	9	8	8	
25,0	10	9	3	3	2	53,3
	10	8	7	7	7	
	10	10	9	9	5	
50,0	10	7	3	2	2	83,3
	10	6	0	0	0	
	10	8	3	3	3	
100,0	10	10	0	0	0	100
	10	10	0	0	0	
	10	10	1	0	0	

fuas

EQUIPE TÉCNICA:

Rio de Janeiro, 22 de abril 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

ANEXOS

TESTE N° 1001 Operador(es): Dandimara

Espécie: M. juncea

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

MANUTENÇÃO DOS ORGANISMOS:			
Alimento: náuplios de <i>Artemia</i> sp. <i>ad libitum</i>		Temperatura:	25 ± 1 °C
Tempo de cultivo:	dias	Salinidade:	34 ± 1 ‰
Idade dos organismos:	24 dias	Fotoperíodo:	12:12h

TESTE			
INÍCIO	Data:	Hora:	
	14 / 04 / 03	13 h 00 min	
TÉRMINO	Data:	Hora:	
	15 / 04 / 03	14 h 00 min.	
Preliminar ()	Estático: (X)	Com aeração: ()	
Definitivo (X)	Semi-estático ()	Sem aeração: (X)	
	Renovação:	h.	



AMOSTRA				
Descrição: <u>Óleo FPSO Brasil - UE1 2604 (21/03/03) - Ilha de Angra dos Reis</u>				
Código de entrada no laboratório: <u>050403</u>		Data de entrada: <u>07 / 04 / 03</u>	Salinidade: <u>33</u> ‰ sem ajuste: (×) com ajuste ()	
Ajuste da salinidade				
Volume de água destilada: — mL	Volume salmoura — mL	Volume de amostra: — mL	Salinidade final da amostra — ‰	Concentração final da amostra: — ppm
pH: da amostra (×) sem ajuste () com ajuste — μL de — pH final <u>8,29</u>				
Salmoura: Método — Salinidade: — ‰ pH —				

ÁGUA DE DILUIÇÃO		
Fonte: Angra dos Reis	Data da coleta ou preparo: <u>27 / 03 / 03</u>	
Salinidade: <u>33</u> ‰	Oxigênio dissolvido: <u>5,44</u> mg/L	pH: <u>8,24</u>

Volume da solução-teste por béquer: 300 ml

Nº de organismos por béquer: 10

Nº de réplicas por concentração: 3

Preparo da solução-estoque: 100 ppm (mg/L, %) Teste n° 1001

500 mL (mg) da substância (amostra bruta) + 4500 mL de água de diluição.

Unidade: % Preparo das soluções-teste

Solução 1 0,0 : - mL da solução-estoque + 1000 mL de água de diluição.

Solução 2 0,48 : 4,81 mL da solução-estoque + 992,19 mL de água de diluição.

Solução 3 1,56 : 15,63 mL da solução-estoque + 984,37 mL de água de diluição.

Solução 4 3,13 : 31,25 mL da solução-estoque + 968,75 mL de água de diluição.

Solução 5 6,25 : 62,5 mL da solução-estoque + 937,5 mL de água de diluição.

Solução 6 12,5 : 125 mL da solução-estoque + 875 mL de água de diluição.

Solução 7 25 : 250 mL da solução-estoque + 750 mL de água de diluição.

Solução 8 50 : 500 mL da solução-estoque + 500 mL de água de diluição.

Solução 9 100 : 1000 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 ppm, mg/L, (%)	Béquer n°	Início			Término		
		S %	OD (mg/l)	pH	S %	OD (mg/l)	pH
0,0	1	33	5,44	8,24	33	2,98	8,01
0,48	4	33	5,50	8,28	33	2,71	8,00
1,56	7	33	5,64	8,33	33	3,71	7,99
3,13	10	33	5,80	8,31	33	3,30	7,94
6,25	13	33	5,84	8,34	34	3,23	7,83
12,5	16	33	5,85	8,35	34	2,98	8,00
25	19	33	5,72	8,34	33	2,79	7,78
50	22	33	5,93	8,35	33	3,04	7,81
100	27	33	6,54	8,29	34	4,50	7,62

ACOMPANHAMENTO DO TESTE

TESTE N° 1001

béquer n°	N° de org. mortos				béquer n°	N° de org. mortos			
	24h	48h	72h	96h		24h	48h	72h	96h
↓	∅	1	∅	∅	20	2	1	∅	∅
2	∅	1	∅	∅	21	∅	1	∅	4
3	∅	1	∅	∅	22	3 ∅ ^{plaus}	4	1	∅
4	∅	∅	∅	∅	23	4	6	_____	
5	↓	∅	∅	∅	24	2 ∅ ^{plaus}	5	∅	∅
6	∅	1	∅	∅	25	∅	10	_____	
7	∅	∅	∅	2	26	∅	10	_____	
8	∅	1	∅	∅	27	∅	9	1	_____
9	∅	∅	∅	1	/				
10	∅	∅	∅	2					
11	↓	1	∅	∅					
12	∅	1	∅	1					
13	∅	∅	∅	1					
14	∅	∅	∅	∅					
15	∅	∅	∅	∅					
16	↓	∅	3	1					
17	3	2	∅	∅					
18	↓	∅	1	∅					
19	↓	6	∅	↓					

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

Volume da solução de *Arismia* sp.: 0h 37 µL 24h 46 µL

48h 47 µL 72h 50 µL

REGISTRO DE DADOS

TESTE Nº 1001

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	1	9	1	9			3	10
0,78	0	10	1	9	1	9			2	6,6
1,56	2	8	1	9	1	9			4	13,3
3,13	2	8	2	8	2	8			6	20
6,25	1	9	0	10	0	10			1	3,3
12,5	5	5	5	5	2	8			12	40
25	8	2	3	7	5	5			16	53,3
50	8	2	10	0	7	3			25	83,3
100	10	0	10	0	10	0			30	100

M = número de organismos mortos

V = número de organismos vivos

Sobrevivência no controle: 90 %

Obs:

RANDOMIZAÇÃO DE BÉQUERES

Concentração (%)	Béquer nº	Concentração (%)	Béquer nº
0,0	1 - 3	12,5	16 - 18
0,78	4 - 6	25	19 - 21
1,56	7 - 9	50	22 - 24
3,13	10 - 12	100	25 - 27
6,25	13 - 15		

Teste no. 1001

Date: 14-04-2003 Test Type: agudo
Duration: 96 h
Chemical: Óleo FPSO Brasil LET 2604 - método Anderson
Species: *Mysidopsis juniae*
Concentration Unit: %

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

Raw Data:

Concentration:	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25.0	50.0	100.0
Number Exposed:	30	30	30	30	30	30	30	30
Mortalities:	2	4	6	1	12	16	25	30
Abbott's Corr. Morts.:	0	1	3	0	10	14	24	30

Control Group Number: 1

Number Exposed-Control: 10

Number Mortalities-Control: 1

Control Group Number: 2

Number Exposed-Control: 10

Number Mortalities-Control: 1

Control Group Number: 3

Number Exposed-Control: 10

Number Mortalities-Control: 1

SPEARMAN-KARBER TRIM: .00%

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: LC50: 23,33

95% Lower Confidence: 19,08

95% Upper Confidence: 28,52