

ENSAIO DE TOXICIDADE COM O EXTRATO DO ÓLEO 3-SPS-41D-TFR-01
CÓDIGO LET 3215 (MÉTODO TARZWELL) UTILIZANDO
***Mysidopsis juniae* (CRUSTACEA-MYSIDACEA)**

SOLICITANTE:

CENPES/PEDDS/AMA/PETROBRAS
Centro de Pesquisa Leopoldo Miguez de Mello
Ilha do Fundão - Cidade Universitária - Q7
Tel: (21) 3865-6191

EXECUTADO POR:

LABTOX – Laboratório de Análise Ambiental Ltda
Av. 24, s/n° - 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 2419TMJA

Rio de Janeiro

LAUDO DE TOXICIDADE

Empresa solicitante: CENPES/PDEDS/AMA/PETROBRAS

Técnico solicitante: Sônia Badaró

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

Telefone: (21) 3865 6191

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

Substância de referência: Zinco (sulfato de zinco heptahidratado)

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

Resultado do ensaio realizado com zinco em 04/01/2006: 0,26 mg.L⁻¹ (0,24 – 0,28 mg.L⁻¹)

Identificação da amostra pelo solicitante: Óleo 3-SPS-41D-TFR-01: Condensado original de
Mexilhão

Código LET 3215 - Método Tarzwell

Data de coleta: 20/06/2005

Código de entrada no Labtox: L241906

Data de entrada no Labtox: 12/01/2006

Data de início do ensaio: 16/01/2006

Data de término do ensaio: 20/01/2006

Obs₁: Os resultados apresentados neste laudo referem-se apenas ao ensaio realizado com a amostra acima citada.

Obs₂: Este laudo só pode ser reproduzido por completo. A reprodução de partes deste, só pode ser realizada com autorização escrita do Labtox.

RESULTADOS
CL(I)50; 96 horas: 76,19 ppm de óleo*
Intervalo de confiança (IC): 64,36 – 90,19 ppm de óleo*
Sobrevivência no controle: 100%

* Valores correspondentes a 7,61; 6,43 e 9,01% da fração dispersa do óleo em água (FDA).

1 - OBJETIVO

O objetivo deste ensaio, realizado de 16 a 20 de janeiro de 2006, foi avaliar a toxicidade aguda do extrato do óleo 3-SPS-41D-TFR-01 Código LET 3215 (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), com adaptações.

Jovens de *M. juniae* com 5 a 7 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 Dispersa do óleo em Água (FDA) foi preparada avolumando-se 3 mL de óleo para 3 litros, com água do mar, seguindo a metodologia descrita em Tarzwell (1969). Esta mistura foi agitada em homogeneizador elétrico por 5 segundos a uma velocidade de 13.000 rpm obtendo-se um extrato de óleo em água de 1.000 ppm (v/v), que corresponde a 100% da FDA. O extrato foi utilizado como solução-estoque para o preparo das seguintes soluções-teste: 31,25; 62,5; 125; 250; 500 e 1.000 ppm do óleo (Fichas em anexo). Na solução-teste de 1.000 ppm de óleo os organismos morreram no momento da 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 0,43 mg.L⁻¹ (31/10/2005).

L2419TMJA

O resultado da CL(I)50;96h obtido no ensaio realizado, em janeiro de 2006, com o zinco foi 0,26 mg.L⁻¹ (IC: 0,24 – 0,28 mg.L⁻¹).

RESUMO DAS CONDIÇÕES DE ENSAIO

Tipo de ensaio: ----- agudo
Temperatura de incubação: ----- 25 ± 1 °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: ----- 5 a 7 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: ----- 32 a 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 *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.

A CL(I)50;96h obtida com o extrato do óleo 3-SPS-41D-TFR-01- código LET 3215 (Método Tarzwell) foi de 76,19 ppm de óleo (IC: 64,36 – 90,19 ppm de óleo) 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:	31.25	62.5	125	250	500
Number Exposed:	30	30	30	30	30
Mortalities:	1	11	25	29	30
SPEARMAN-KARBER TRIM:				3.33%	
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: LC50:					76,19
95% Lower Confidence:				64,36	
95% Upper Confidence:				90,19	

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 3-SPS-41D-TFR-01- código LET 3215 (Método Tarzwell).

Solução-teste (ppm de óleo)	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	
31,25	10	9	9	9	9	3,3
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
62,5	10	6	6	6	6	36,7
	10	5	5	5	5	
	10	10	10	9	8	
125	10	4	3	2	2	83,3
	10	5	4	3	3	
	10	1	1	0	0	
250	10	1	0	0	0	96,7
	10	1	0	0	0	
	10	1	1	1	1	
500	10	0	0	0	0	100
	10	0	0	0	0	
	10	0	0	0	0	
1.000	10	0	0	0	0	100

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.
- Tarzwel, C.M. 1969. Standard methods for the determination of relative toxicity of oil dispersants and mixtures of dispersants and various oils to aquatic organisms. *In: Proceedings Joint Conference on Prevention and Control of Oil Spills*. American Petroleum Institute and Federal Water Pollution Control Administration. December 15-17, 1969. New York. P:179-186.

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 P

ELABORADO POR:

Dra. Marcia Vieira Reynier



REVISADO POR:

MSc Leila Aparecida da Silva Kraus



Rio de Janeiro, 24 de dezembro de 2006.