

**TESTE DE TOXICIDADE COM A AMOSTRA FLUORESCÉINA 20%
(CORANTE) 30 PPM UTILIZANDO *Mysidopsis juniae* (CRUSTACEA-
MYSIDACEA)**

Solicitante:

Petróleo Brasileiro S.A. – PETROBRAS
Ativo de Barracuda / Caratinga
Rua General Canabarro, 500 / 10º andar, Maracanã

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 890

Rio de Janeiro

LAUDO DE TOXICIDADE

Órgão requisitante: Petróleo Brasileiro S.A. - PETROBRAS

Técnico requisitante: Giselle Cederian de Andrade

Endereço: Rua General Canabarro, 500 / 10º andar, Maracanã

Telefone: (21) 3876-1546

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: Solução de Fluoresceína 20% (corante) 30 ppm

Data: 23/01/2002

Código de entrada no Labtox: 130103

RESULTADO DEFINITIVO
CL50; 96 horas > 15 ppm
Sobrevivência no controle: 96,7%
Padrão (Zinco): 0,25 mg/L (IC: 0,22 – 0,29 mg/L)

1 - OBJETIVO

1 - OBJETIVO

O objetivo deste teste, realizado de 30 de janeiro a 03 de fevereiro de 2003, foi avaliar a toxicidade aguda da solução de Fluoresceína 20% (corante) 30 ppm 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.

São consideradas não tóxicas amostras que apresentam o máximo de 20% de mortalidade na concentração de 100%.

A cada série de amostra testada 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 estão respondendo dentro da faixa de toxicidade previamente estabelecida.



RESUMO DAS CONDIÇÕES DE TESTE

Tipo de teste: ----- estático sem renovação, com aeração
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: ----- 2 a 3
Nº de diluições: ----- 7 + 1 controle *
Alimentação: ----- 30 náuplios de *Artemia* sp. Recém eclodidos/
misidáceo/dia
Água de diluição: ----- água do mar natural filtrada
Salinidade da água: ----- 35 ± 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.

frans

PREPARO DA AMOSTRA

A amostra de Fluoresceína 20% (corante) 30 ppm foi enviada ao Labtox pela Petrobras. Em função da baixa salinidade da amostra (0 ‰), esta foi ajustada para 36‰ com 400 mL de salmoura, resultando em uma concentração final de 15 ppm (solução-estoque). A partir dessa solução foram retiradas alíquotas para as soluções-teste, sendo testadas as seguintes diluições: 0,003; 0,04; 0,19; 0,75; 3,75; 7,5 e 15,0 ppm (Fichas em anexo). Devido ao pequeno volume da amostra, nas diluições 3,75 e 7,5 ppm foram testadas apenas duas réplicas e na maior diluição (15 ppm) foi testada apenas uma réplica.

VALIDADE DO TESTE

O teste é considerado válido quando o percentual de sobrevivência no controle é maior ou igual a 90% e a resposta (CL50) ao zinco estiver dentro da faixa de sensibilidade estabelecida para a espécie pelo Labtox, que é de 0,23 – 0,38 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 foi maior que 15 ppm (maior concentração testada) 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.

O resultado da CL50; 96h obtido com o zinco foi 0,25 mg/L (IC: 0,22 – 0,29 mg/L).



Tabela 1 - Resultados de sobrevivência e do percentual de mortalidade de misidáceos durante a leitura realizada a cada 24 horas, no teste conduzido com Fluoresceína 20% (Corante) 30 ppm.

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	
0,003	10	10	10	10	10	6,6
	10	9	9	9	8	
	10	10	10	10	10	
0,04	10	9	9	9	9	10
	10	10	10	9	9	
	10	9	9	9	9	
0,19	10	9	9	9	9	16,6
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	6	
0,75	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
3,75	10	10	10	10	7	15
	10	10	10	10	10	
	-	-	-	-	-	
7,5	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	-	-	-	-	-	
15,0	10	10	10	10	9	10
	-	-	-	-	-	
	-	-	-	-	-	

João

4 - CONCLUSÃO

O resultado obtido com o padrão encontra-se dentro da faixa estabelecida para a espécie.

A sobrevivência no controle (96,7%) e os resultados obtidos nas análises químicas validam o teste realizado. Os resultados indicam que a amostra de Fluoresceína 20% (Corante) 30 ppm não apresentou efeito agudo para *Mysidopsis juniae* nas condições de teste, considerando que a maior concentração testada foi 15 ppm, em função do ajuste da salinidade.

5 - 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.



EQUIPE TÉCNICA:

Rio de Janeiro, 03 de fevereiro 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:

Priscila Reis da Silva
CRB-2 - 29935/02

Carina C. Gomes Machado
CRB-2 - 32963/02

AUXILIAR DE ANÁLISE:

Viviane Euzébio Luiz

ANEXOS

TESTE Nº 890 Operador(es): U. L. L.

Espécie: M. lunata

TESTE		
INÍCIO	Data: <u>30 / 01 / 03</u>	Hora: <u>10 h 20 min</u>
TÉRMINO	Data: <u>03 / 02 / 03</u>	Hora: <u>12 h 45 min.</u>
Preliminar ()	Estático: (Y)	Com aeração: (Y)
Definitivo (Y)	Semi-estático () Renovação: _____ h.	Sem aeração: ()

AMOSTRA		
Descrição: <u>Solução contrastante (30 ppm) Fluoresceína</u>		
Código de entrada no laboratório: <u>130103</u>	Data de entrada: <u>27 / 01 / 03</u>	Salinidade: <u>0</u> ‰ sem ajuste: () com ajuste (Y)
Ajuste da salinidade		
Volume de água destilada: _____ mL	Volume salmoura: <u>400</u> mL	Volume de amostra: <u>400</u> mL
Salinidade final da amostra: <u>36</u> ‰		Concentração final da amostra: <u>15</u> ppm
pH: da amostra (X) sem ajuste () com ajuste _____ µL de _____ pH final <u>8,34</u>		
Salmoura: Método <u>congelamento</u> Salinidade: <u>70</u> ‰ pH <u>8,14</u>		

ÁGUA DE DILUIÇÃO		
Fonte: Angra dos Reis	Data da coleta ou preparo: <u>23 / 01 / 03</u>	
Salinidade: <u>33</u> ‰	Oxigênio dissolvido: <u>5,21</u> mg/L	pH: <u>8,01</u>

Volume da solução-teste por béquer: 300 mL

Nº de organismos por béquer: 10

Nº de réplicas por concentração: 3 (2 réplicas em 3,75 ppm e 1 réplica em 15 ppm) 7,5 ppm

Avenida 24 - s/nº - Polo Bio-Rio - Incubadeira 3-4 - C. Case Universitária - Ilha do Fundão

Cep - 21941-590 - Rio de Janeiro - RJ - Tel (5521) 3967-5501 R. 220 - e-mail: labtox@biorio.org.br

Preparo da solução-estoque: 20 (ppm)(mg/L, %) Teste nº 890

400 mL (mg) da substância (amostra bruta) + 400 mL de água de diluição.

Unidade: µg/L Preparo das soluções-teste

Salmona

Solução 1 0,0 : — mL da solução-estoque + 1.000 mL de água de diluição.

Solução 2 0,003 : 0,25 * mL da solução-estoque + 999,75 mL de água de diluição.

Solução 3 0,04 : 2,5 * mL da solução-estoque + 997,5 mL de água de diluição.

Solução 4 0,19 : 12,5 * mL da solução-estoque + 987,5 mL de água de diluição.

Solução 5 0,75 : 50 mL da solução-estoque + 950 mL de água de diluição.

Solução 6 3,75 : 150 mL da solução-estoque + 450 mL de água de diluição.

Solução 7 7,5 : 300 mL da solução-estoque + 300 mL de água de diluição.

Solução 8 15 : 300 mL da solução-estoque + — mL de água de diluição.

Solução 9 — : — mL da solução-estoque + — mL de água de diluição.

* Aliquotas retiradas da solução de 30 ppm (salinidade 0‰)
PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS DAS SOLUÇÕES-TESTE

Concentração (ppm, mg/L, %)	Béquer nº	Início			Término		
		S ‰	OD (mg/l)	pH	S ‰	OD (mg/l)	PH
<u>00</u>	<u>28</u>	<u>33</u>	<u>5,21</u>	<u>8,01</u>	<u>34</u>	<u>5,79</u>	<u>8,13</u>
<u>0,003</u>	<u>31</u>	<u>33</u>	<u>4,73</u>	<u>7,96</u>	<u>34</u>	<u>5,64</u>	<u>8,05</u>
<u>0,04</u>	<u>34</u>	<u>33</u>	<u>5,57</u>	<u>8,18</u>	<u>34</u>	<u>6,01</u>	<u>8,12</u>
<u>0,19</u>	<u>37</u>	<u>33</u>	<u>4,94</u>	<u>8,19</u>	<u>34</u>	<u>5,62</u>	<u>8,04</u>
	<u>39</u>					<u>3,73</u>	<u>7,65</u>
<u>0,75</u>	<u>41</u>	<u>34</u>	<u>4,78</u>	<u>8,29</u>	<u>34</u>	<u>5,11</u>	<u>7,95</u>
<u>3,75</u>	<u>43</u>	<u>34</u>	<u>4,85</u>	<u>8,30</u>	<u>35</u>	<u>2,83</u>	<u>7,70</u>
	<u>44</u>				<u>35</u>	<u>5,28</u>	<u>7,99</u>
<u>7,5</u>	<u>45</u>	<u>35</u>	<u>4,87</u>	<u>8,33</u>	<u>35</u>	<u>5,07</u>	<u>8,04</u>
	<u>46</u>				<u>35</u>	<u>5,10</u>	<u>8,00</u>
<u>15</u>	<u>47</u>	<u>36</u>	<u>4,91</u>	<u>8,34</u>	<u>37</u>	<u>6,07</u>	<u>8,06</u>

ACOMPANHAMENTO DO TESTE

TESTE Nº 890

béquer nº	Nº de org. mortos				béquer nº	Nº de org. mortos			
	24h	48h	72h	96h		24h	48h	72h	96h
28	Ø	Ø	Ø	1	47	Ø	Ø	Ø	1
29	Ø	Ø	Ø	Ø	/				
30	Ø	Ø	Ø	Ø					
31	Ø	Ø	Ø	Ø					
32	1	Ø	Ø	1					
33	Ø	Ø	Ø	Ø					
34	1	Ø	Ø	Ø					
35	Ø	Ø	1	Ø					
36	1	Ø	Ø	Ø					
37	1	Ø	Ø	Ø					
38	Ø	Ø	Ø	Ø					
39	Ø	Ø	Ø	4					
40	Ø	Ø	Ø	Ø					
41	Ø	Ø	Ø	Ø					
42	Ø	Ø	Ø	Ø					
43	Ø	Ø	Ø	3					
44	Ø	Ø	Ø	Ø					
45	Ø	Ø	Ø	Ø					
46	Ø	Ø	Ø	Ø					

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

Volume da solução de *Artêmia* sp.: 0h 65 µL 24h 38 µL
48h 65 µL 72h 65 µL

REGISTRO DE DADOS

TESTE Nº 890

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		
Controle	1	9	0	10	0	10			1	3,3
0,003	0	10	2	8	0	10			2	6,6
0,04	1	9	1	9	1	9			3	10
0,19	1	9	0	10	4	6			5	16,6
0,75	0	10	0	10	0	10			0	0
3,75	3	7	0	10					3	15
7,5	0	10	0	10					0	0
150	1	9							1	10

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	28 - 30	3,75	43 - 44
0,003	31 - 33	7,5	45 - 46
0,04	34 - 36	15,0	47
0,19	37 - 39		
0,75	40 - 42		