

UNIVERSIDADE DA REGIÃO DE JOINVILLE – UNIVILLE  
MESTRADO EM SAÚDE E MEIO AMBIENTE

TAMILA KLEINE

**CINÉTICA DA TOXICIDADE AGUDA DA FRAÇÃO SOLÚVEL DE COMPOSTOS  
HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS (HPAs) ORIUNDAS DO  
PETRÓLEO EM MICROCRUSTÁCEOS MARINHOS**

JOINVILLE

2013

TAMILA KLEINE

**CINÉTICA DA TOXICIDADE AGUDA DA FRAÇÃO SOLÚVEL DE COMPOSTOS  
HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS (HPAs) ORIUNDAS DO  
PETRÓLEO EM MICROCRUSTÁCEOS MARINHOS**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação da Universidade da Região de Joinville – UNIVILLE, como requisito de defesa para obtenção do título de Mestre em Saúde e Meio Ambiente. Orientadora: Profa. Dra. Therezinha Maria Novais de Oliveira.

JOINVILLE

2013

Catálogo na publicação pela Biblioteca Universitária da Univille

K64c Kleine, Tamila  
Cinética da toxicidade aguda da fração solúvel de compostos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) oriundas do petróleo em microcrustáceos marinhos / Tamila Kleine ; orientadora Dra Therezinha Maria Novais de Oliveira – Joinville: UNIVILLE, 2013.

89f. : il. ; 30 cm

Dissertação (Mestrado em Saúde e Meio Ambiente – Universidade da Região de Joinville)

1. Ecotoxicologia. 2. Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) – Toxicidade. 3. Industrias petrolíferas – Acidentes ambientais. I. Oliveira, Therezinha Maria Novais de. (orient.). II. Título.

CDD 577.627

## Termo de Aprovação

**“Cinética da Toxicidade Aguda da Fração Solúvel de Compostos Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) Oriundas do Petróleo em Microcrustáceos Marinhos”**

por

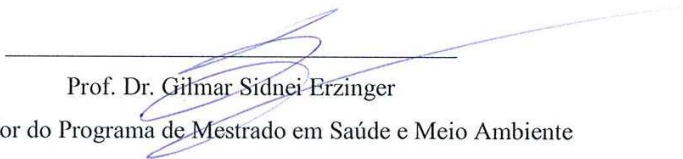
Tamila Kleine

Dissertação julgada para a obtenção do título de Mestre em Saúde e Meio Ambiente, área de concentração Meio Ambiente e aprovada em sua forma final pelo Programa de Mestrado em Saúde e Meio Ambiente.



---


Prof. Dra. Therezinha Maria Novais de Oliveira  
Orientadora (UNIVILLE)



---

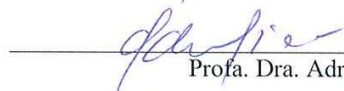
Prof. Dr. Gilmar Sidnei Erzinger  
Coordenador do Programa de Mestrado em Saúde e Meio Ambiente

### Banca Examinadora:




---

Prof. Dra. Therezinha Maria Novais de Oliveira  
Orientadora (UNIVILLE)



---

Prof. Dra. Adriana Gioda  
(PUC-RJ)



---

Prof. Dra. Sandra Helena Westrupp Medeiros  
(UNIVILLE)

Joinville, 24 de junho de 2013

**Ao melhor!**  
**E não tem nada nesse mundo que ocupe a falta que você faz.**  
**Não é medo, e sim pena.**

**Vô, Te amo!**

## RESUMO

Na última década, o setor petrolífero em regiões costeiras têm aumentado suas operações de forma acelerada tanto em plataformas quanto na área da navegação com o transporte que envolve o petróleo, podendo-se afirmar que está ocorrendo um aumento de potenciais acidentes ambientais neste ramo. A alteração da qualidade de água é a ocorrência mais comum de poluição, podendo causar efeitos tóxicos nestes ambientes. Os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs), derivados de petróleo encontrados em águas estuarinas, são considerados poluentes orgânicos prioritários em estudos ambientais pelo seu alto potencial de contaminação e intoxicação, estando estes associados ao aumento da incidência de diversos tipos de cânceres no ser humano. Visando o acréscimo de informações a respeito desses contaminantes, o objetivo desse trabalho foi determinar a cinética da toxicidade aguda de HPA's em microcrustáceos marinhos, possibilitando assim a melhoria no processo decisório quanto à tomada de ações preventivas e corretivas associadas a vazamentos ou acidentes com esses compostos em ambientes marinhos. Como o foco desse trabalho é obter dados para contribuir com informações que auxiliem no tempo de resposta a acidentes ambientais do setor petrolífero em ambiente marinho, optou-se por trabalhar com amostra de petróleo bruto e o microcrustáceo marinho, *Mysidopsis juniae*. A concentração letal ( $CL_{50}$ ) foi determinada por ensaio de toxicidade aguda, com base na NBR 15.308 (ABNT, 2011). A partir da determinação da concentração letal de HPA na amostra responsável pela  $CL_{50}$  do organismo teste, foi determinada a concentração de HPA na  $CL_{50}$  com auxílio de uma sonda fluorimétrica. Os resultados mostraram que a Concentração letal do HPA para o organismo teste é de aproximadamente 0,023 ppm, e que o tempo decorrido para letalidade de 50% da população é de aproximadamente 48 horas, ou seja, do derramamento inicial, tem-se 48 horas para que as ações de mitigação possam ser executadas evitando maiores danos para a cadeia trófica e, conseqüentemente para o ecossistema.

**Palavras chave:** Hidrocarbonetos. Ecotoxicologia. Cinética.

## ABSTRACT

The kinetics of acute toxicity of soluble fraction of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) compounds in marine microcrustaceans.

In the last decade the oil sector activities in coastal regions have increased their operations in an accelerated both platforms as the navigation area with transportation involving oil, we can state that is experiencing an increase in potential environmental accidents in this branch. The change in water quality is the most common occurrence of pollution, may cause toxic effects in these environments. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs), petroleum found in estuarine waters are considered priority organic pollutants in environmental studies for its high potential for contamination and poisoning, and these are associated with increased incidence of several cancers in humans. Aiming the additional information regarding these contaminants, the aim of this study was to determine the kinetics of the acute toxicity of PAH's in microcrustaceans marine, thus enabling improved decision making regarding the taking of preventive and corrective actions associated with spills or accidents involving these compounds in marine environments. As the focus of this work is to obtain data to contribute information to aid in the response time to environmental accidents of the oil sector in the marine environment, we chose to work with a sample of crude oil and microcrustacean marine *Mysidopsis juniae*. The lethal concentration (LC50) was determined by an acute toxicity test, based on NBR 15308 (ABNT, 2011). From the determination of lethal concentration of PAH in the sample responsible for the LC50 test organism was determined the concentration of PAH in LC50 with the aid of a fluorescence probe. The results showed that the lethal concentration of the HPA for the test organism is approximately 0,023 ppm 15.2 ml / l and the elapsed time for 50% of the population suffers mortality is approximately 48 hours, that is, the initial shedding has up to 48 hours for the mitigation actions have been implemented to prevent damage greater effect on ecosystems.

**Keywords:** Hydrocarbons. Ecotoxicology. Kinetics.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Principais Fontes de Hidrocarbonetos de Petróleo para o Ambiente Marinho (ITOPF, 1987) .....	14
Figura 2. Representação dos 16 Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos prioritários em estudos.....	15
<b>Figura 3.</b> Fêmea indicando a estrutura carregada de embriões (Marsúpio).....	38
Figura 4. Diagrama esquemático, Fase I. ....	42
Figura 5. Diagrama esquemático, Fase II. ....	43
Figura 6. Filtragem da Solução Estoque utilizando bomba á vácuo e kitasato, com filtro de 0,2 $\mu\text{m}$ .....	44
<b>Figura 7.</b> Leitor de resultados da Sonda responsável pela determinação de HPA .....	46
Figura 8. Processo de Utilização da Sonda.....	48
Figura 9. Carta Controle.....	50
Figura 11. Gráfico da concentração de HPA na $CL_{50(96\text{horas})}$ (1,52%). .....	56



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição dos principais elementos presentes no petróleo .....	12
Tabela 2. Propriedades físico-químicas do HPAs. ....	16
Tabela 3. Consequências e danos biológicos decorrentes da contaminação por hidrocarbonetos. ....	18
Tabela 4. Eventos acidentais de destaque no setor de petróleo e gás natural no Brasil. ....	21
Tabela 5. Limites individuais para alguns HPAs de acordo com a destinação do corpo d'água. ....	26
Tabela 6. Condições recomendadas para o cultivo de <i>Mysidopsis juniae</i> . ....	38
Tabela 8. Teste Agudo com Solução estoque de Álcool – Proporção 200 mL de água marinha reconstituída + 0,2 mL de álcool etílico 70%. ....	44
Tabela 7. Especificações Técnicas da Sonda. ....	47
Tabela 9. Resultados dos testes agudos realizados para o cálculo da CL <sub>50</sub> ao organismo teste <i>Mysidopsis juniae</i> em amostra contaminada com HPA. ....	52
Tabela 10. Cinética da Toxicidade Aguda de HPA. ....	55

## LISTA DE ABREVIATURAS

- ABNT** – Associação Brasileira de Normas Técnicas
- AFNOR** – Association Française de Normalisation
- ANP** – Agência Nacional de Petróleo
- ANTAQ** – Agência Nacional de Transporte Aquaviário
- APA** – Área de Preservação Permanente
- ASTM** – American Society for Testing and Materials
- AWWA** – American Water Works Association
- BaP** – Benzo[a]pireno
- CE<sub>50</sub>** – Concentração Efetiva Média de 50% dos organismos
- CETESB** – Companhia Estadual de Tecnologia Ambiental
- CL<sub>50(96 horas)</sub>** – Concentração Letal de 50% dos organismos em 96 horas de teste
- CONAMA** – Conselho Nacional de Meio Ambiente
- CPRH-PE** – Companhia Pernambucana de Meio Ambiente
- FATMA** – Fundação de Meio Ambiente de Santa Catarina
- FEEMA** – Fundação Estadual de Engenharia e Meio Ambiente
- FEPAM** – Fundação Estadual de Proteção Ambiental
- FISPQ** – Ficha de Informação de Segurança de Produto Químico
- HCs** – Hidrocarbonetos de Petróleo
- HPA** – Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos
- HS** – Hidrocarbonetos Saturados
- IAP** – Instituto Ambiental do Paraná
- ICSU** – Committee of the International Council of Scientific Unions
- ISO** – International Organization for Standardization
- IUPAC** – International Union of Pure and Applied Chemistry
- NOS** – Nitrogênio, Oxigênio e Enxofre
- OD** – Oxigênio Dissolvido
- Opep** – Organização de Países Exportadores de Petróleo
- pH** – Potencial Hidrogênico
- UNIVILLE** – Universidade da Região de Joinville
- USEPA** – Agência Americana de Proteção Ambiental
- UV** – Ultra Violeta

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	7
2. OBJETIVOS .....	11
2.1. Objetivo Geral .....	11
2.2. Objetivos Específicos.....	11
3. REVISÃO DA LITERATURA.....	12
3.1. Petróleo.....	12
3.2. Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos.....	13
3.3. Toxicidade dos Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos.....	17
3.4. Acidentes ambientais e HPAs .....	21
3.6. Toxicologia Ambiental.....	26
3.6.1. Toxicidade aguda .....	28
3.6.2. Teste de sensibilidade .....	29
3.6.3. Cinética .....	30
3.7. Análise de Misturas.....	30
3.8. Organismos testes.....	31
3.9. Novos rumos da Ecotoxicologia.....	32
3.10. Legislação para Ecotoxicologia.....	33
4. METODOLOGIA.....	36
4.1. Abordagem Metodológica .....	36
4.2. Amostra.....	37
4.3. Organismo Teste .....	37
4.3.1. Teste de Sensibilidade .....	40
4.4. Teste com HPA.....	40
4.4.3. Cinética .....	45
4.5. Análise de Dados .....	48
4.6. Questões éticas da pesquisa.....	48

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	50
5.1. Teste de Sensibilidade.....	50
5.2. Teste Preliminar Baseado no Acidente na Baía de Guanabara .....	51
5.3. Determinação da $CL_{50(96horas)}$ .....	52
5.4. Cinética do HPA .....	55
6. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES .....	58
7. REFERÊNCIAS .....	59
8. ANEXOS.....	75

## 1. INTRODUÇÃO

A água é uma substância indispensável à vida, sendo componente básico de todos os seres vivos, e mesmo tendo tal importância, com o passar dos anos, o homem continua degradando e poluindo este imprescindível recurso (BÖHM, 2008).

Portos, indústrias e residências são frequentemente construídos em regiões estuarinas e, devido à sua localização estratégica, todas essas atividades têm contribuído para o lançamento de contaminantes nesses locais, seja por deposição atmosférica, aporte fluvial ou vazamentos, causando assim risco à biota aquática local (POLAKIEWICZ, 2008).

A ocupação de zonas costeiras tem sido relacionada a vários impactos sobre este ecossistema, entre os quais pode-se citar o comprometimento da qualidade da água pela inserção de compostos possivelmente tóxicos, ocasionando uma quebra no equilíbrio do ecossistema local, com prejuízo para os organismos que ali residem ou se alimentam, comprometendo a cadeia alimentar (BÖHM, 2008).

Chama-se de poluição da água a introdução de materiais químicos, físicos ou biológicos na mesma, diminuindo assim a sua qualidade e afetando o equilíbrio do meio biótico e abiótico (BÖHM, 2010). Para avaliar a qualidade de determinado corpo de água, bem como o impacto de agentes químicos sobre organismos aquáticos, são realizados testes de toxicidade que subsidiam a avaliação dos riscos ambientais, com o objetivo de evitar ou minimizar os efeitos dos poluentes sobre a comunidade nos ecossistemas (ARAGÃO *et al.*, 2008).

No caso das atividades do setor de petróleo e gás natural *offshore*, a alteração da qualidade da água é a ocorrência mais comum de poluição de habitat. O óleo derramado acidentalmente no mar pode ser transportado por correntes e disperso em uma grande área. Sua toxicidade pode afetar organismos aquáticos que filtram a água durante seu processo de alimentação. Além disso, as espécies de aves e mamíferos predadores destes organismos também se expõem à contaminação, em níveis ainda mais tóxicos (PRIMACK; RODRIGUES, 2001).

No ambiente marinho, é significativa a contaminação causada por extração de petróleo, fluidos de perfuração, atividades portuárias, derramamentos acidentais de vários produtos químicos, lançamentos de emissários submarinos, esgotos domésticos e efluentes industriais (PRÓSPERI; NASCIMENTO, 2006).

Os países da Organização de Países Exportadores de Petróleo (Opep) tiveram uma queda relativa de 0,02% em suas reservas provadas, que ficaram em 1,07 trilhões de barris, enquanto os países que não fazem parte da Opep, aumentaram suas reservas em 2,2%, que chegaram a 314,8 bilhões de barris. Nas Américas Central e do Sul, a alta foi impulsionada pela Colômbia, Brasil e Peru, que viram suas reservas provadas crescerem 39,7%, 10,7% e 10,6%, respectivamente. Com este incremento, em parte devido às descobertas na área do Pré-sal, que segundo Lessa (2008), trata-se “[...] campos submarinos de petróleo existentes abaixo de um enorme e espesso lençol de sal.”, as reservas provadas brasileiras chegaram a 14,2 bilhões de barris de petróleo, e situou o país na 15<sup>o</sup> posição do ranking mundial de reservas (ANP, 2011).

Em 2010, o consumo mundial de petróleo foi 3,2% superior a 2009, totalizando 87,4 milhões de barris/dia (ANP, 2011). No final de 2010, as reservas totais de petróleo do Brasil foram contabilizadas em 28,5 bilhões de barris. Das reservas aprovadas, 93,6% se localizavam em mar (ANP, 2011).

Problemas decorrentes dos efeitos tóxicos nos ecossistemas aquáticos não se restringem apenas aos desequilíbrios ecológicos provocados nos corpos d’água, mas podem afetar, em longo prazo, a saúde humana, se considerada a possibilidade da ocorrência dos fenômenos de persistência e bioacumulação de poluentes tóxicos ao longo da cadeia alimentar (HOUK, 1992).

Os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) por vezes encontrados em águas estuarinas, oriundos principalmente dos óleos de embarcações, são considerados poluentes orgânicos prioritários em estudos ambientais, sendo alguns desses contaminantes descritos como precursores de ações mutagênicas e tumorais em sistemas biológicos (WHO, 1983).

As propriedades mutagênicas e carcinogênicas de alguns HPAs conferem a esses contaminantes a razão para a sua inclusão na maioria dos programas de monitoramento ambiental e saúde humana em diferentes países no mundo (WHO 1983; EPA 1986).

Estes compostos, por apresentarem propriedades hidrofóbicas quando lançados no ambiente aquático, podem ser absorvidos pelos organismos, ou então, serem rapidamente associados a partículas suspensas orgânicas ou inorgânicas e, subsequentemente, depositados no sedimento (POLAKIEWICZ, 2008).

HPAs são rapidamente absorvidos pelos pulmões, intestinos e pela pele de animais experimentais e altamente lipossolúveis, independente da rota de administração (MEIRE et al., 2007).

A contaminação de aquíferos por vazamentos de petróleo em tanques de armazenamento é uma preocupação a nível mundial e tem sido muito discutida também no Brasil, devido à alta ecotoxicidade dos hidrocarbonetos aromáticos presentes (KULKAMP, 2003).

Os HPAs apresentam alto coeficiente de partição entre solventes orgânicos e água, o que permite prever possíveis processos cumulativos em compartimentos como sedimentos e solos, assim como na bioacumulação em sistemas biológicos (NEFF, 1984).

A degradação ambiental de HPAs pode ocorrer por processos físico-químicos, como no caso da degradação por foto-oxidação, ou pela ação biológica de microorganismos (HWANG; CUTRIGHT, 2002). Para a ativação e formação de possíveis agentes carcinogênicos, o processo de biotransformação dos HPAs é crucial (HALL et al., 1989).

Devido à sua estabilidade química, os hidrocarbonetos sofrem pouca ou nenhuma alteração em uma determinada escala de tempo e, por apresentarem pouca ocorrência natural no ambiente, podem ser utilizados como marcadores geoquímicos, ou seja, por meio de sua identificação e quantificação é possível identificar as fontes de contaminação ambiental do local em estudo (MEDEIROS; BÍCEGOS, 2004).

Em geral, as contribuições de HPAs de diferentes origens em complexas misturas caracterizam fontes não pontuais de contaminação, exceto HPAs de origem petrogênica, pois esses podem estar associados a contaminações locais, como próximo a refinarias, rodovias e rotas marítimas de navegação (MANTIS et al., 2005).

Os HPAs também podem ser facilmente encontrados em sedimentos marinhos ou de rios. O caráter lipofílico e sua grande persistência nestes ambientes são os grandes responsáveis pela acumulação, que aumentam proporcionalmente com o aumento da massa molecular desses compostos (JUNIOR, 2006).

Estudos sobre HPA tratam, principalmente, de sua presença no sedimento e na atmosfera, devido às maiores concentrações encontradas nesses compartimentos (VASCONCELOS et al., 2003; PARK et al., 2001;

BOONYATUMANOND, et al., 2006; YIM et al., 2005). Entretanto, pouco tem sido feito com relação à determinação e estudo de HPA presentes em águas oceânicas, onde se encontram mais biodisponíveis para a fauna e flora aquáticas, especialmente considerando o risco de acidentes.

Como o ambiente marinho é repositório final dos hidrocarbonetos de petróleo (HCs), a preocupação a respeito de seu comportamento na água do mar, sedimentos e organismos tem sido cada vez maior. Esses produtos químicos podem exercer efeitos tóxicos em várias partes do ecossistema. Sendo assim, eles podem ser prejudiciais à saúde, não só dos organismos que habitam estas áreas como dos seus consumidores (BAINY, 1993). Porém, mesmo com todos esses dados, pouco tem sido feito em relação ao estudo de HPA em águas oceânicas impactadas, onde esses compostos estão biodisponíveis para a fauna e flora aquática (POLAKIEWICZ, 2008).

A ecotoxicologia é utilizada para referir-se à ciência que estuda os efeitos das substâncias naturais ou sintéticas sobre os organismos vivos, populações e comunidades, animais ou vegetais, terrestres ou aquáticos, que constituem a biosfera, incluindo assim a interação das substâncias com o meio nos quais os organismos vivem num contexto integrado, (TRUHAUT, 1977 apud ZAGATTO, 2006).

A velocidade com que as reações químicas ocorrem num determinado tempo é chamada de cinética (GONÇALVES, 2011). Portanto, este trabalho buscou apresentar um estudo da cinética da toxicidade dos HPAs ao organismo teste *Mysidopsis juniae*.



## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo Geral

Determinar a cinética da toxicidade aguda de HPAs em microcrustáceos marinhos, como uma contribuição para mitigação de riscos ambientais em acidentes com vazamento de HPA.

### 2.2. Objetivos Específicos

- Analisar a toxicidade aguda para diferentes concentrações de HPAs por meio de Testes ecotoxicológicos;
- Identificar a  $CL_{50(96\text{horas})}$  para *Mysidopsis juniae* em exposição à solução de petróleo;
- Identificar tempo médio para localização de 50% da letalidade dos organismos testes.

### 3. REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1. Petróleo

O petróleo é um líquido oleoso, pouco denso ( $d=0,65$  a  $0,9$  g/cm<sup>3</sup>) e não miscível em água, constitui uma das fontes mais importantes de hidrocarbonetos. Dependendo da região onde foi formado pode apresentar cor negra ou avermelhada, sendo constituído por milhares de compostos orgânicos, com grande predominância de hidrocarbonetos diversos (ZAKARIA et al., 2002; STOUT et al., 2004).

O petróleo tem sua origem em pequenos seres vegetais e animais da orla marítima, que foram soterrados há milhões de anos. Pela ação de microorganismos, do calor, da pressão e do tempo, essa matéria orgânica foi transformada em petróleo. A palavra petróleo vem do latim (*petrae*: pedra; *oleum*: óleo), lembrando que é um material oleoso extraído das rochas. É encontrado em bolsões profundos, às vezes em terra firme, outras vezes abaixo do fundo do mar. Acredita-se que 50% das jazidas mundiais de petróleo estejam sob o mar (ZAKARIA et al., 2002; STOUT et al., 2004).

O petróleo é uma mistura de hidrocarbonetos saturados (**HS**), hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (**HPA**), resinas (também chamada malteno), asfaltenos, e compostos com heteroátomos de nitrogênio, oxigênio e enxofre (**NOS**) (TISSOT; WELTER, 1984). A composição aproximada desses elementos encontra-se representado na Tabela 1.

**Tabela 1.** Composição dos principais elementos presentes no petróleo

<b>Elemento</b>	<b>Concentração %</b>
Carbono	81 a 88
Hidrogênio	10 a 14
Oxigênio	0,001 a 1,2
Nitrogênio	0,002 a 1,7
Enxofre	0,01 a 5

Fonte: Petrobrás (2005)

Os hidrocarbonetos são compostos químicos apolares (hidrófobos), o que limita sua solubilidade na água do mar, favorecendo a tendência de associação a partículas sólidas (CELINO, 2006).

Os hidrocarbonetos de petróleo podem ser agrupados em quatro classes distintas, baseados principalmente em sua composição molecular (API, 1999).

1 – Aromáticos: Hidrocarbonetos de cadeia benzênica. Estão presentes em quase todo tipo de petróleo, embora na maioria deles em pequenas quantidades. São os que possuem maior toxicidade e sua biodegradação é lenta, sendo eles associados a efeitos crônicos e carcinogênicos. Constituem-se os principais produtos da combustão incompleta da matéria orgânica, sendo potencialmente perigosos e amplamente distribuídos pelo meio ambiente por meio de misturas complexas.

2 –nos: Hidrocarbonetos de cadeias normais e ramificadas. Compreende a maioria dos petróleos. Suas características envolvem serem relativamente inodoros, incolores e poucos reativos. São facilmente biodegradados e sua toxicidade é baixa.

3 – Alcenos: Hidrocarbonetos de cadeia aberta, se diferenciando dos alcanos somente pela presença de ligação dupla entre os átomos de carbono. Aparecem em pequenas quantidades no petróleo ou estão ausentes, mas são abundantes em produtos de refino como a gasolina.

4 – Cicloalcanos: Hidrocarbonetos de cadeias fechadas e saturadas. Segunda maior fração da maioria dos petróleos.

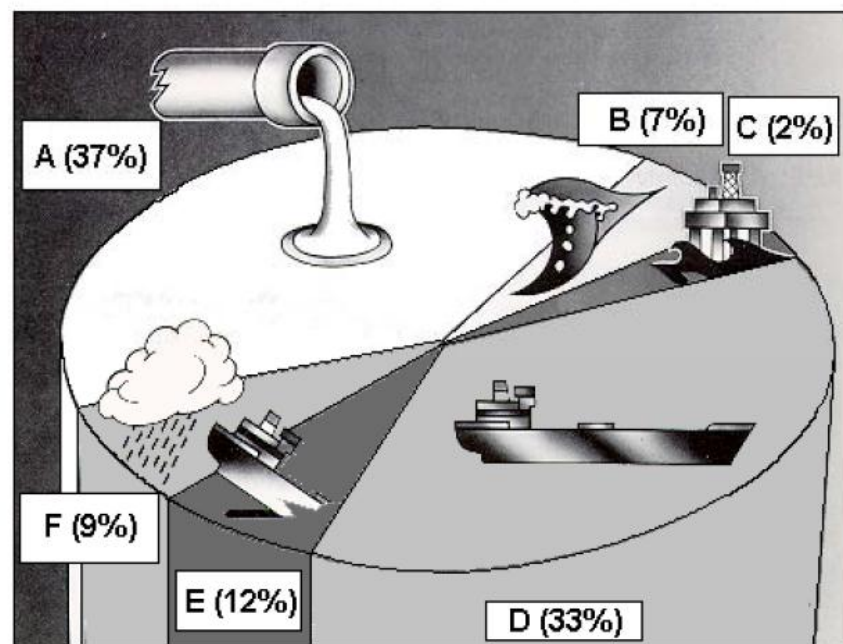
### **3.2. Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos**

Os hidrocarbonetos aromáticos, como o benzeno e os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), como o benzo[a]pireno (BaP), naftaleno, entre outros, são algumas das substâncias encontradas em resíduos e voláteis emitidos por diversas fontes (FRANZEN; TRUMBORE, 2000).

A formação desses contaminantes tem sua origem na combustão incompleta da matéria orgânica, origem essa influenciada, principalmente, por fatores como temperatura e pressão que direcionam o perfil constituinte dos mesmos (PAGE et al., 1999). Deste modo, incêndios florestais e de campos, assim como a queima de

combustível fóssil, seriam as principais fontes de HPAs para o meio ambiente (MEIRE, 2007).

As fontes mais comuns de liberação destes compostos para o ambiente marinho são: (a) resíduos produzidos na combustão natural de produtos orgânicos, (b) queima de combustíveis fósseis, (c) mineração, (d) vazamento de óleo e (e) utilização inadequada de agroquímicos em geral. Em consequência disso, o impacto ao meio ambiente pode provocar até a eliminação dos organismos que vivem nele. O nível de exposição e a concentração do contaminante são os responsáveis pelo impacto a biota (FAIRBROTHER et al., 2001).



A = Esgotos e Drenagem Urbana

B = Fontes Naturais

C = Exploração e Produção

D = Operações com Navios

E = Acidentes com Petróleo

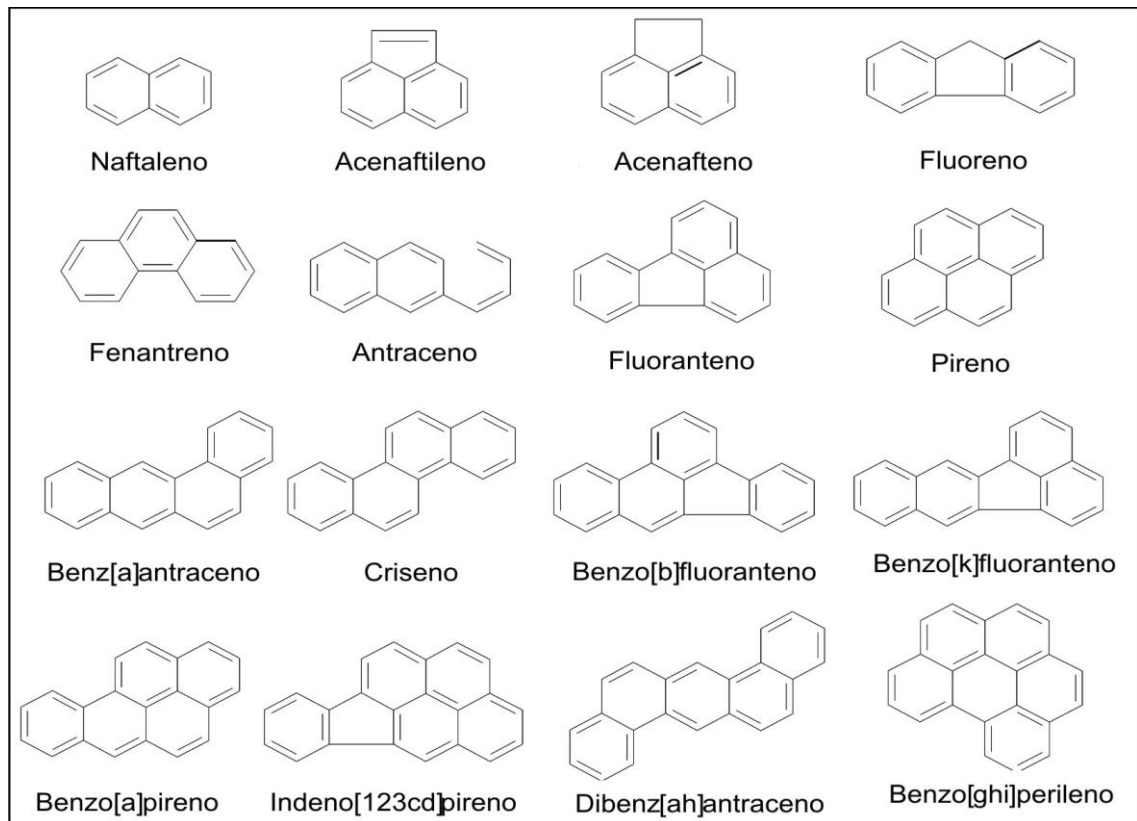
F = Trocas Atmosféricas

**Figura 1.** Principais Fontes de Hidrocarbonetos de Petróleo para o Ambiente Marinho (ITOPF, 1987)

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) constituem uma família de compostos caracterizada por possuírem 2 ou mais anéis aromáticos condensados. Estas substâncias bem como seus derivados, têm ampla distribuição e são

encontrados como constituintes de misturas complexas em todos os compartimentos ambientais (NETTO et al., 2000).

Devido às várias posições que os anéis aromáticos podem se ligar entre si, e à possibilidade de fusão de um número variável de anéis, há, atualmente, mais de 100 HPAs reconhecidos pela International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC). Porém, somente 16 HPAs são considerados, devido à sua importância industrial, ambiental e toxicológica, sendo eles: acenaftaleno, acenaftileno, antraceno, benzo(a)antraceno, benzo(a)pireno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(g,h,i)pireno, criseno, dibenzo(a,h)antraceno, fenantreno, fluoranteno, fluoreno, indeno(1,2,3-cd)pireno, naftaleno e pireno, representados na Figura 2. (POTIN et al., 2004).



**Figura 2.** Representação dos 16 Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos prioritários em estudos.

As características físico-químicas desses compostos são de extrema importância, pois direcionam a distribuição desses contaminantes entre as fases

solúvel e particulada em meio atmosférico, aquoso e abiótico (MEIRE et al., 2007), como pode ser observado na Tabela 2.

**Tabela 2.** Propriedades físico-químicas do HPAs.

<b>HPAs</b>	<b>Nº. de anéis</b>	<b>PM (g.mol<sup>-1</sup>)</b>	<b>S (MG.L<sup>-1</sup>)</b>	<b>PV (Pa)</b>	<b>H (Pa m<sup>3</sup>.mol<sup>-1</sup>)</b>	<b>Log K<sub>oa</sub></b>
Naftaleno	2	128	31	10,4	43,01	3,37
Acenaftileno	3	150	16,1	0,9	8,4	4,00
Acenafteno	3	154	3,8	0,3	12,17	3,92
Fluoreno	3	166	1,9	0,09	7,87	4,18
Fenantreno	3	178	1,1	0,02	3,24	4,57
Antraceno	3	178	0,045	0,001	3,96	4,54
Fluoranteno	4	202	0,26	0,00123	1,037	5,22
Pireno	4	202	0,132	0,0006	0,92	5,18
Benz[a]antraceno	4	228	0,011	2,80.10 <sup>-5</sup>	0,581	5,91
Criseno	4	228	Nd	5,70.10 <sup>-7</sup>	0,065	5,86
Benz[b]fluoranteno	5	252	0,0015	nd	Nd	5,80
Benz[k]fluoranteno	5	252	0,0008	5,20.10 <sup>-8</sup>	0,016	6,00
Benzo[a]pireno	5	252	0,0038	7,00.10 <sup>-7</sup>	0,046	6,04
Indeno[1,2,3-cd]pireno	6	278	Nd	nd	0,003	Nd
Dibenzo[a,h]antraceno	5	278	0,0006	0,0006	Nd	6,75
Benzo[g,h,i]perileno	6	268	0,00026	0,00026	0,075	6,50

Número de anéis aromáticos (N), Peso molecular (g.mol<sup>-1</sup>) (PM), Solubilidade (MG.L<sup>-1</sup>) (S), Pressão de vapor (Pa – Pascal) (PV), constante de Henry (Pa m<sup>3</sup>.mol<sup>-1</sup>) (H), Coeficiente de partição (octanol/água) (Log K<sub>oa</sub>)

Fonte: (LATIMER; ZHENG, 2003).

Estimativas do *National Research Council* (2003), através do Comitê de Estudo de Óleo no Mar, indicam que o volume total de óleo que atinge os oceanos anualmente é de cerca de 1.400.000 m<sup>3</sup>.

Há também meios de formação de HPAs que não estão ligadas à origem antropogênica, sendo um exemplo os HPAs produzidos por meio de processos biológicos, como, no tecido de plantas, ou impregnado na parede de cupinzeiros como fungicidas naturais (KRAUSS et al., 2005).

Substâncias contaminadas com HPA, ou até mesmo substâncias que simplesmente contenham HPA em sua composição, podem ter que ser descartadas,

havendo a necessidade assim da sua classificação para o correto descarte, a fim de evitar contaminação do meio ambiente.

### **3.3. Toxicidade dos Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos**

A NBR 10.004 – resíduos sólidos – classificação (ABNT, 2004), tem por objetivo classificar os resíduos sólidos quanto aos seus riscos potenciais ao meio ambiente e à saúde pública. Esta classificação é estabelecida em função das substâncias neles identificadas e em testes laboratoriais complementares, onde vários parâmetros químicos são analisados na massa bruta e nos extratos lixiviados e solubilizados dos resíduos. Duas categorias são previstas na norma: classe I – resíduos perigosos; classe II – resíduos não perigosos, sendo essa dividida em classe IIA – resíduos não inertes e classe IIB – resíduos inertes. Esta classificação é fundamental para o gerenciamento adequado dos resíduos uma vez que possibilita a determinação do seu correto manuseio, transporte, armazenamento e tratamento ou destinação final.

HPAs em resíduos é de relevante interesse para a saúde pública, uma vez que a classificação de um resíduo como perigoso implica a necessidade de formas adequadas de gerenciamento para evitar que ocorra contaminação ambiental e humana.

Os HPAs enquadram-se na classificação de resíduo perigoso, pois defini-se como resíduo perigoso qualquer material (substância ou mistura de substâncias) com potencial de causar danos a organismos vivos, materiais, estruturas ou ao meio ambiente; ou ainda, que pode se tornar perigosa por interação com outros materiais (IQ/UNESP, 2002).

Os HPAs, por suas omnipresenças, constituem uma ameaça potencial para a saúde de toda a população. No entanto, alguns grupos populacionais, como por exemplo, aqueles constituídos por pessoas que residem ou trabalham em ambientes diretamente influenciados por estas fontes, estão submetidos a um risco maior (NETTO et al, 2000).

Segundo Wania e Mackay (1996), HPAs são poluentes orgânicos que resistem a degradação ambiental. Devido a este fator os HPAs podem se acumular no meio ambiente, atingindo concentrações passíveis de prejudicar a saúde, sendo o caso mais conhecido o do benzopireno, presente na queima de combustível fóssil

bem como no tabaco do cigarro, e que possui efeito carcinogênico comprovado, pois interage diretamente no DNA das células provocando mutações e, conseqüentemente, câncer (JUHASZ; NAIDU, 2000; SAMANTA et al., 2002; BENGTTSSON; ZERHOUNI, 2003;).

Concentrações de HPA têm sido medidas no meio ambiente desde antes da década de 70. Porém, nos últimos anos, o estudo e a pesquisa de HPA têm atraído muita atenção de profissionais da área de química e de órgãos de proteção ambiental em todo mundo, devido ao seu alto poder carcinogênico e mutagênico e da existência de HPA numa imensa gama de amostras ambientais (JUNIOR, 2006).

Os compostos aromáticos são tóxicos, porém, alguns apresentam maior toxicidade (GUILLEN; SOPELANA, 2003). Evidentemente, a gravidade da intoxicação depende da natureza do composto aromático, da quantidade ingerida ou inalada, e do tempo de exposição a ele.

A presença de substâncias carcinogênicas dentre os HPAs, como o benzopireno e benzantrono, derivados do petróleo, podem causar tumores em diversos organismos como moluscos, briozoários e algas (GARCIA, et al., 2011), aumentando assim a importância do seu estudo.

Abaixo, a Tabela 3 representa as principais conseqüências e danos biológicos decorrentes da contaminação por hidrocarbonetos, nos principais grupos de animais.

**Tabela 3.** Conseqüências e danos biológicos decorrentes da contaminação por hidrocarbonetos.

Grupo	Conseqüências e danos biológicos
Mamíferos	As baleias, golfinhos, focas e leões marinhos raramente se vêem afetados por um derramamento de hidrocarbonetos. As lontras marinhas são mais vulneráveis devido aos seus hábitos e textura da pele
Aves	As aves que se movem na fronteira água-ar correm perigo, especialmente os araus. Quando muito impregnadas pelo petróleo costumam morrer. O tratamento exige conhecimentos especiais e medidas adequadas para não prejudicar as aves. A recuperação de população depende da existência de um número de jovens adultos que não estejam em estado de cria e que permitam repor as colônias, ou de



	uma elevada taxa de reprodução
Peixes	As ovas e larvas em baías de pouca profundidade podem estar sujeitas a uma elevada mortalidade em virtude de derramamentos, especialmente se ocorre o uso de dispersantes. Os peixes adultos costumam “se proteger” dos hidrocarbonetos. Não existem provas de que derramamentos tenham afetado a população de peixes consideravelmente, em mar aberto. Porém, a contaminação e morte de peixes adultos pode alterar a pesca realizada por comunidades locais, bem como o valor comercial do pescado
Invertebrados	Os invertebrados compreendem os mariscos (moluscos e crustáceos), ouriços e corais). Todos estes grupos podem sofrer fortes “baixas” caso atingidos por hidrocarbonetos
Organismos plânctonicos	Não foram observados efeitos severos no plâncton em mar aberto, possivelmente devido às taxas de reprodutividade e imigração fora da área afetada pelo derramamento
Algas grandes	O petróleo se adere sempre a grandes algas devido a sua “capa” exterior. Assim, as algas podem experimentar um excesso de peso levando ao rompimento das mesmas quando submetidas à ação das ondas. Muitas algas têm grande importância econômica, seja como alimento ou para extração de produtos, como Agar, por exemplo. As algas cultivadas com este fim perdem seu valor comercial quando contaminadas por hidrocarbonetos
Plantas de marismas	Algumas espécies de plantas são mais sensíveis do que outras ao petróleo. As perenes, com raízes subterrâneas costumam ser mais resistentes do que as de raízes menos profundas. Mas as primeiras a se recolonizarem são as de raízes menos profundas, pois produzem grande quantidade de sementes que são amplamente dispersadas
Manguezal	O termo manguezal aplica-se a diversas espécies de árvores e arbustos. Possuem diferentes formas de raízes aéreas que os permitem viver em uma “lama” fina pouco oxigenada. São

---

muito sensíveis aos hidrocarbonetos, em parte devido à impregnação do óleo nas raízes aéreas impedindo que o oxigênio chegue as raízes subterrâneas.

---

Fonte: IPIECA, 1991.

Para os contaminantes como os HPA, as propriedades físico-químicas e o comportamento ambiental do contaminante são de grande importância. Estas propriedades são: (I) solubilidade em água e lipofilidade, (II) adsorção no solo e (III) vaporização (JUNIOR, 2006). Os HPAs possuem uma baixa solubilidade em água.

Sabe-se bem que os contaminantes altamente solúveis são transportados em quantidades grandes através do ciclo hidrológico e, assim, encontram-se distribuídos extensamente a grandes distâncias de seus pontos de introdução no meio ambiente. Em contraste, os compostos hidrofóbicos tendem a ser mais estáticos, com pouca movimentação através do ciclo hidrológico (ISCAN, 2004).

O fator de persistência de um contaminante no meio ambiente depende da velocidade de degradação deste contaminante. Alguns poluentes estão sujeitos à ação metabólica de micro-organismos que transformam produtos químicos orgânicos complexos em substâncias inorgânicas. Estas transformações também podem ser provocadas pela ação da luz ou de substâncias químicas existentes no próprio ecossistema. Alguns compostos, entretanto, não podem ser degradados totalmente (FAIRBROTHER et al., 2001). Assim, esses que não são degradados facilmente persistem no meio ambiente como é o caso de certos HPA.

Muitos efeitos danosos são causados por HPA transportados na coluna d'água, já que a água é um solvente universal e, portanto, frequentemente utilizada como transporte e descarga de produtos industriais. Os compostos solúveis estão mais biodisponíveis, e assim relacionados com diversos processos metabólicos. Estes efeitos podem ser verificados nas células, nos tecidos dos organismos e nos materiais genéticos (NISHIGIMA, 2004).

Determinados contaminantes tendem a bioacumulação em organismos aquáticos, com sua concentração movimentando-se pela cadeia alimentar gerando efeitos tóxicos em organismos que não tiveram nenhuma exposição direta ao contaminante químico (FAIRBROTHER et al., 2001).

### 3.4. Acidentes ambientais e HPAs

Alguns acidentes recentes ocorridos no Brasil e no mundo, como o da plataforma da British Petroleum no Golfo do México, evidenciaram os riscos das atividades envolvendo HPAs para a biodiversidade. Segundo a “Teoria dos acidentes Normais”, desenvolvida por Perrow (1984), as falhas em sistemas complexos são inevitáveis, e não é possível eliminar completamente seus riscos inerentes. Sua estrutura e modo de funcionamento tendem a tornar “normal” a ocorrência de grandes acidentes, o que ressalta a importância da consideração do risco à biodiversidade em todas as instâncias do processo da tomada de decisão de toda indústria do petróleo (GARCIA, et al., 2011).

Em 15 de Novembro de 2004, o Navio Vicuña, de bandeira chilena, descarregava no Porto de Paranaguá – PR. No começo da noite ocorreram duas grandes explosões que provocaram o rompimento do casco do navio, seguido de incêndio na embarcação e em todo o restante da carga de metanol, que se espalhou pela água juntamente com o fogo. A resposta ao incêndio foi rápida, porém, a mancha de óleo decorrente do derramamento de combustível do navio se espalhou pela Baía de Paranaguá, provocando danos à fauna, à flora, às praias e aos manguezais. O prejuízo foi grande para os pescadores locais, que perceberam uma redução de cerca de 80% do volume de pescados após o acidente (ANTAQ, 2012).

Na Tabela 4 pode-se observar uma listagem dos eventos acidentais de destaque no setor do petróleo e gás natural no Brasil, uma grande fonte geradora de HPAs no meio ambiente.

**Tabela 4.** Eventos acidentais de destaque no setor de petróleo e gás natural no Brasil.

<b>Linha do Tempo</b>	<b>Evento Acidental</b>	<b>Área afetada</b>	<b>Aspectos de destaque da biodiversidade local</b>
2000	Ruptura de oleoduto (1,3 milhões de litros)	Baía de Guanabara (RJ)	Manguezais, área protegida (APA Guapemirim)
	Vazamento a partir de manobra para	Baía de Guanabara	Manguezais, área protegida (APA

	deslastramento do navio Catagalo (380 litros)	(RJ)	Guapemirim)
	Vazamento em operação de transferência navio/terminal <i>Almirante Soares Dutra</i> (18 mil de litros de óleo cru)	Tramandaí (RS)	Praia Jardim do Éden
2001	Explosões de gás e fundeamento da plataforma P-36 (reservatórios com 1,4 milhões de litros de diesel e cru)	Bacia de Campos (RJ)	Espécies endêmicas de aves marinhas
	Problema no duto proveniente da plataforma P- 27 (26 mil litros de óleo)	Bacia de Campos (RJ)	Espécies endêmicas de aves marinhas
	Derramamento a partir da plataforma P-7 (120 mil litros de óleo)	Bacia de Campos – 85 km da costa (RJ)	Área protegida (Parque Nacional Jurubatiba)
	Ruptura de duto (200 mil litros de óleo)	Barueri (SP)	Rio Tietê e Córrego Cachoeirinha
	Derramamento a partir de navio (volume desconhecido)	Costa do Sauipi (BA)	Praias turísticas (Buraquinho, Costa do Sauipi)
	Vazamento da estação Pitanga (volume desconhecido de gás natural)	46 km de Salvador (BA)	Manguezais
	2002	Risco de derramamento a partir dos reservatórios do FPSO P34 (12 milhões de litro de óleo)	Bacia de Campos (RJ)
2003	Vazamento devido á falha na conexão de um dos braços	São Sebastião (SP)	Praias turísticas (Ubatuba e

	de carregamento do petroleiro <i>Nordic Marita</i> (15 mil litros de óleo)		Caraguatatuba)
2004	Ruptura de duto de terminal marítimo (200 mil litros de óleo)	São Sebastião (SP)	Rio Guaecá, praias turísticas (São Sebastião)
	Vazamento em operação de abastecimento do navio mercante <i>Sardegna</i> (200 litros de <i>bunker</i> )	Baía de Paranaguá (PR)	Costa do Paraná, ecossistemas preservados (Ilha de Cobras)
2005	Colisão do navio Saga Mascote em dique (2 mil litros de óleo)	Baía de Guanabara (RJ)	Praia de Niterói (Boa Viagem, Icaraí, Gragoará, Praia das Flechas)
2008	Vazamento devido a rupturas em tubulações que levam óleo dos navios do Terminal Almirante Soares Dutra (Tedut) (cerca de 750 litros de óleo)	Litoral Norte (RS)	Tramandaí e balneário de Salinas
2009	Vazamento de óleo (OCB tipo exportação) durante operação de carregamento de navio panamenho Cabo Pilar (estimado em 10 mil litros)	Próximo a Madre de Deus (BA)	Recursos Pesqueiros
	Vazamento de óleo da Refinaria Landulpho Alves (cerca de 2,3 mil litros)	São Francisco do Conde (BA)	Praias de Coqueiro Grande até Caípe, recursos pesqueiros, manguezal

2010	Vazamento de óleo próximo à plataforma P 47 (Campos Marlim) durante operação de transferência para navio aliviador (1,5 mil litros)	Bacia de Campos (RJ) – 160 km da costa de Macaé	
2012	Falha na Operação de Monobóia da Petrobras – Transporte Marítimo (1,2 m <sup>3</sup> )	Tramandaí (RS)	Recursos Pesqueiros, fauna local
	Exploração e Produção de Petróleo - Navio Plataforma Dynamic Producer (FPSO) Campo Carioca Nordeste. 26 m <sup>3</sup> de petróleo	Bacia de Santos (SP)	Fauna local

Fonte: LIMA/COPPE/UFRJ, 2003;

Nos casos de derrame de óleo, já que os compostos com maior pressão de vapor vão evaporar mais facilmente, a volatilização é um fator importante na remoção dos hidrocarbonetos. A quantidade evaporada pode variar de 10% para óleos crus até 75% para os óleos leves (FERREIRA, 1995). Entretanto, a volatilização não provoca uma redução significativa dos hidrocarbonetos com mais de quatro anéis benzênicos (AZEVEDO, 1998).

A exposição humana aos HPAs se dá principalmente através da contaminação ambiental. De maneira geral, os HPAs não agredem somente o meio ambiente, pois tanto os HPAs quanto seus derivados estão associados ao aumento da incidência de diversos tipos de cânceres. A elevada taxa de mortalidade ligada ao câncer, e o fato de que os tratamentos para essa doença são extremamente demorados e dolorosos, expõe claramente os potenciais benefícios que o entendimento, a avaliação e o controle de exposição humana as substâncias que possuam atividades carcinogênicas/mutagênicas podem trazer (NETTO et al., 2000)

A ingestão de HPAs por seres humanos e animais pode ocorrer por diversas vias como, por exemplo, inalação do ar, a ingestão de águas, solo ou poeira contaminados, alimentos, contato através da pele, entre outros, sendo que cada um possui importância relativa diferente (WHO, 1988).

Em tentativas de prevenir os derrames de óleo foram feitas várias convenções internacionais. A mais importante delas foi a MARPOL 73/78. Ela é resultante da Convenção Internacional para a Prevenção da Poluição por Navios, realizada em 1973, que não chegou a entrar em vigor, sendo absorvida pelo protocolo da Conferência sobre Segurança de Petroleiros realizada em 1978 (International Maritime Organisation (IMO, 2006). A MARPOL 73/78 foi aprovada com reservas pelo Brasil em 1987.

Ainda segundo a IMO, em 1990 foi realizada em Londres a Convenção Internacional sobre Preparo, Resposta e Cooperação em Caso de Poluição por Óleo (OPRC), que estabelece medidas para lidar com incidentes de poluição por óleo, seja nacional ou em cooperação com outros países. Esta convenção também foi aprovada pelo Brasil pelo decreto legislativo nº 43, de 29 de maio de 1998 e pelo decreto nº 2.870, de 10 de dezembro de 1998.

Além das convenções internacionais, está em vigor atualmente no Brasil, a lei Federal nº 9.966, de 28 de abril de 2000, conhecida como “a lei do óleo”, que dispõe sobre a prevenção, o controle e a fiscalização da poluição causada por lançamento de óleo e outras substâncias (DA COSTA, 2003). Existe, ainda, uma série de outras regulamentações federais e estaduais relacionadas à poluição por óleo e à conservação do meio ambiente brasileiro.

### **3.5. Legislação ambiental referente à HPA**

No Brasil, o único estado que possui legislação a respeito da contaminação do solo e das águas subterrâneas com hidrocarbonetos é São Paulo. O estado do Rio Grande do Sul possui legislação a respeito do correto descarte de resíduos contaminados com hidrocarbonetos, impossibilitando assim o descarte do mesmo em Aterros Classe I ou em Centrais de Recebimento de Classe I no seu referido estado – Portaria Nº 016/2010, de 20 de Abril de 2010. Porém, em se tratando de termos mundiais, a legislação ambiental que visa esse tema está principalmente nos Estados Unidos e na União Europeia, sob competência da Agência Americana de Proteção Ambiental (USEPA) e Comissão das Comunidades Europeias e da Lista Holandesa de Valores da Qualidade do Solo e da Água Subterrânea, que também são seguidas por alguns órgãos ambientais brasileiros (JACQUES et al., 2007).

Em relação à contaminação por HPAs, está em vigor a Resolução nº 357 – CONAMA de 17 de março de 2005 que classifica as águas em doces, salobras e salinas, definindo qual a destinação de cada uma delas e os padrões de qualidade de água que devem ser periodicamente monitorados pelo Poder Público. Dentre os vários parâmetros de qualidade de água estabelecidos, foram estipulados limites individuais para alguns HPAs de acordo com a destinação do corpo d'água (Tabela 5).

**Tabela 5.** Limites individuais para alguns HPAs de acordo com a destinação do corpo d'água.

Tipo de corpo da água	Água doce Classe 1 e 2 <sup>1</sup>	Água destinada para pesca ou cultivo de organismos para fins de consumo intensivo <sup>2</sup>	Água doce Classe 3 <sup>3</sup>
HPA			
benzo(a)antraceno	0,05	0,018	-
benzo(a)pireno	0,05	0,018	0,7
benzo(a)fluoranteno	0,05	0,018	-
benzo(k)fluoranteno	0,05	0,018	-
Criseno	0,05	0,018	-
dibenzo(a,h)antraceno	0,05	0,018	-
indeno(1,2,3,-cd)pireno	0,05	0,018	-

Fonte: CONAMA (2005).

### 3.6. Toxicologia Ambiental

Vários modos de se estudar stress de organismos têm sido analisados desde as épocas mais antigas, avaliando assim a qualidade do meio em que vivem. Aristóteles na Idade Antiga submeteu peixes de água doce à água do mar para estudar suas reações. Em 1816 foi realizado o primeiro teste de toxicidade com organismos aquáticos, utilizando larvas de insetos aquáticos (BUIKEMA; VOSHELL, 1993).

Em junho de 1969, durante uma reunião do *Committee of the International Council of Scientific Unions (ICSU)*, em Estocolmo, foi sugerido, pelo toxicologista francês René Truhaut, o estudo do termo toxicologia ambiental.

Os estudos de ecotoxicologia aquática surgiram estabelecendo limites permissíveis para os poluentes em um corpo d'água, auxiliando assim a preservação da



flora e fauna (ZIOLLI; JARDIM, 1998), sendo que a ecotoxicologia complementa as análises físico-químicas, permitindo avaliar o efeito sinérgico que as substâncias e energias causam na biota (PEREIRA R. C.; SOARES-GOMES, A. 2002).

As análises ambientais utilizando organismos vivos como indicadores constituem-se de ensaios ecotoxicológicos, necessários para realização dos estudos de ecotoxicologia. Em um nível ecossistêmico, as ferramentas de análise são chamadas de Indicadores Biológicos ou Biomarcadores, os quais expressam a exposição e/ou o efeito tóxico de poluentes presentes no ambiente, através do estresse de um organismo (MAGALHÃES; FERRÃO FILHO, 2008).

As análises químicas buscam a determinação de substâncias isoladas, não detectam os efeitos em organismos, não dão respostas sobre que tipo de agente químico esta sendo responsável pela toxicidade além de não fornecer informações sobre as possíveis interações entre substâncias: aditivas, antagônicas ou sinérgicas (MAGALHÃES; FERRÃO-FILHO, 2008).

De maneira oposta, os procedimentos ecotoxicológicos têm por objetivo caracterizar os efeitos adversos causados por uma amostra tóxica sem a preocupação de identificar os agentes tóxicos isoladamente (MAGALHÃES; FERRÃO-FILHO, 2008).

Hoje em dia, vários ensaios de toxicidade já estão bem estabelecidos, sendo alguns padronizados nacional e internacionalmente por associações ou organizações de normalização, como a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), Association Française de Normalisation (AFNOR), American Society for Testing and Materials (ASTM), American Water Works Association (AWWA), International Organization for Standardization (ISO) e United States Environmental Protection Agency (USEPA) (ARAGÃO; ARAÚJO, 2006).

Os métodos padronizados apresentam a vantagem de poderem ser utilizados por diferentes laboratórios, permitindo que os resultados obtidos sejam comparados entre si, há uma padronização (ROMANELLI, 2004).

Obviamente, é inviável que um laboratório realize testes com todas as espécies de um ecossistema. Em função disso, nos anos 50, em vários países, como Alemanha, Estados Unidos, França, Inglaterra, organismos foram selecionados, ainda do ponto de vista ecossistêmico, representantes dos grupos mais importantes de cada nível da cadeia trófica e com papéis importantes na comunidade aquática (KNIE; LOPES, 2004).

Como determinações químicas, geralmente, não detectam ação sinérgica entre contaminantes, apenas técnicas de biomonitoramento baseadas no uso de espécies sensíveis poderiam ser utilizadas para medir integrativamente as repostas aos efeitos interativos de tais substâncias. Conseqüentemente, a legislação para ser eficientemente aplicada, necessitaria de testes acessíveis, rápidos, de baixo custo, capazes de possibilitar diagnóstico e previsão de riscos de lançamentos de produtos ou efluentes em corpos receptores salinos (ARAÚJO; NASCIMENTO, 1999).

Muitas pesquisas foram realizadas com diversas espécies de vegetais e animais, a fim de indicar os organismos que fossem mais representativos de cada ecossistema, e que mesmo dentro de um mesmo grupo taxonômico, cada espécie possui uma sensibilidade diferente. A partir da enorme gama de organismos pesquisados nos anos 50 e 60, alguns foram normatizados e são hoje utilizados nos laboratórios de diversos países. Muitos critérios foram considerados na escolha de tais bioensaios, como: importância na cadeia alimentar, fácil manuseio e obtenção (KNIE; LOPES, 2004).

### **3.6.1. Toxicidade aguda**

Desde 1975, vários métodos de ensaio de toxicidade aguda e crônica foram desenvolvidos utilizando alguns grupos de organismos de diferentes espécies, como, por exemplo, algas (ABNT 1992; CETESB 1994), microcrustáceos (ABNT 1993; CESTEB 1994) e peixes (CETESB 1990; ABNT 2004) de águas continentais e marinhas (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2006).

Os efeitos agudos são respostas rápidas que os organismos apresentam quando expostos a um estímulo. Os efeitos crônicos são aqueles que produzem efeitos deletérios aos organismos. Ambos os efeitos podem ser determinados por bioensaios de toxicidade, nos quais uma quantidade conhecida de organismos é exposta ao agente estressante por períodos conhecidos de tempo, e os efeitos são avaliados (ESPÍNDOLA *et al.*, 2003).

Os testes de toxicidade aguda avaliam efeitos tóxicos letais, obtendo assim uma resposta rápida dos organismos aquáticos a um estímulo que se manifesta, num intervalo de 0 a 96 horas. (RAND; PETROCELLI, 1985).

O efeito observado é a mortalidade ou outra manifestação do organismo que a anteceda, como o estado de imobilidade em invertebrados. O resultado se

expressa com a Concentração Letal Media ( $CL_{50(96\text{horas})}$ ) ou a Concentração Efetiva Média ( $CE_{50(96\text{horas})}$ ), ou seja, concentração do agente tóxico que causa mortalidade ou imobilidade, respectivamente, a 50% dos organismos teste após determinado tempo de exposição (MAGALHÃES; FERRÃO FILHO, 2008).

Segundo Magalhães e Ferrão Filho (2008, p. 362), os testes agudos de forma geral, são mais simples de desenvolver, portanto, mais baratos. Porém, possuem algumas limitações como:

- Não há como avaliar de que maneira a mortalidade aumentara após a exposição, uma vez que estes testes são de curta duração (0-96h). Em certos casos, após uma exposição a curto ou médio prazo, o efeito adverso só aparece depois de um período de latência, e os curtos períodos de exposição empregados nos testes agudos podem não abranger este período;
- Geralmente é realizado com uma única espécie. Em um contexto de multiespécies, o agente tóxico pode ser transferido pela cadeia alimentar, ocorrendo a *biomagnificação*, onde, os níveis de exposição por ingestão podem resultar em níveis maiores do que os que causam mortalidade a partir de uma dada concentração na água. Além disso, competição, predação e outras interações interespecíficas podem aumentar o estresse dos organismos, resultando no aumento da sensibilidade.
- Apenas um estágio de vida é testado. A sensibilidade das espécies no estágio juvenil, larval e ovos são frequentemente diferente, geralmente maior, do que no estágio adulto.
- A sensibilidade de um organismo a um poluente pode variar. Um nível seguro para uma espécie de peixe "A" pode não ser para espécie "B" que faz parte da mesma comunidade biológica.
- Não é sensível a efeitos subletais que podem levar a morte por exposição prolongada. As concentrações subletais de produtos tóxicos no ambiente aquático podem causar uma série de efeitos que não causam a morte imediata dos organismos, mas que representam perturbações importantes, consideradas como 'morte ecológica', as quais impedem que o organismo realize suas funções no ecossistema, inclusive podendo progredir para a morte. Entre estes efeitos estão: a dificuldade na localização de presas, problemas na percepção química e motora, inibição da desova, aborto, deformação de órgãos reprodutores, perda de membros, alterações respiratórias, alterações na taxa de fotossíntese, desenvolvimento de carcinomas, etc. Muitos efeitos indiretos e subletais podem ocorrer a médio/longo prazo, em diferentes intensidades, podendo causar a redução das populações das espécies atingidas.

### 3.6.2. Teste de sensibilidade

Para que se tenha uma confiabilidade nos testes é necessário que se realize testes com substâncias de referência, como o Dodecil Sulfato de Sódio (DSS), com grau de pureza de 98 a 100%, que é um detergente comumente utilizado no ambiente marinho na dispersão de óleos (ABNT, 2005).

O DSS é apenas uma das muitas substâncias químicas utilizadas pelo homem, que acaba de forma direta ou indireta aportando nos rios, que é uma das principais vias de transporte de poluentes para o mar, que erroneamente são considerados sorvedouros de efluentes correspondentes das atividades antrópicas, como dejetos humanos, agrícolas (pesticidas) e industriais (metais pesados, detergentes, derivados de hidrocarbonetos) (BÖHM, 2008).

### **3.6.3. Cinética**

A velocidade com que as reações químicas ocorrem num determinado tempo é chamada de cinética (GONÇALVES, 2011). Neste estudo, será utilizado o termo cinética da toxicidade para evidenciar a mortalidade dos organismos em função do tempo de exposição ao agente tóxico, visto que serão considerados apenas os efeitos globais desse agente e não seus efeitos específicos, pois segundo Oga (2003), a toxicocinética é o estudo entre a quantidade de um agente tóxico que atua sobre o organismo em função do tempo. Diversos fatores interferem na cinética de agentes tóxicos, sendo a forma como o agente tem acesso ao organismo um dos mais importantes (OGA, 2003).

### **3.7. Análise de Misturas**

Com a evolução das substâncias utilizadas no dia a dia, as análises toxicológicas tiveram que se adequar, podendo analisar não somente substâncias separadamente, mas também um conjunto de misturas.

O emprego de várias substâncias misturadas é considerado vantajoso em relação à aplicação de um único composto em algumas situações do dia a dia, pois com a mistura de substâncias, aumenta-se a eficiência em cima da espécie alvo, aumenta a segurança sob o organismo não-alvo, diminui a quantidade de aplicações do produto, evitando assim maiores quantidades de substâncias tóxicas no meio ambiente, reduzindo assim custos para aplicação (MARKING, 1985).

Entretanto, a misturas de vários agentes pode ocorrer inadvertidamente, pois alguns compostos persistem por longos períodos no meio ambiente.

Há dados sobre o estudo de toxicidade de misturas de inseticidas organofosforados, no qual se observou o aumento da toxicidade quando foram

comparados os resultados de aplicação individuais. Há também relatos de exposições de múltiplos compostos químicos, onde ocorreu incompatibilidade, pois a exposição a mistura de um agente químico resultou em um efeito menor do que aquele esperado se a exposição ocorresse individualmente (MARKING, 1985).

A compreensão do efeito da toxicidade de misturas e o desenvolvimento da capacidade para calcular quantitativamente a toxicidade de misturas de agentes químicos podem se tornar ferramentas úteis para se determinar as vantagens/desvantagens do uso dessas misturas (MARKING, 1985).

### **3.8. Organismos testes**

Estudar e conhecer os efeitos que uma substância tem sobre um organismo representativo de um ecossistema é muito importante, pois possibilita a utilização desses dados para uma avaliação e uma tomada de decisão sobre a utilização desse ambiente, dando um suporte teórico para que se construam os padrões de qualidade de água (ZIOILLI; JARDIM, 1998).

Devido a inviabilidade da realização de testes com todas espécies de um ecossistema em laboratório, nos 50 anos, em vários países (como Alemanha, Estados Unidos, França, Inglaterra) organismos foram selecionados, ainda do ponto de vista ecossistêmico, representantes dos grupos mais importantes de cada nível da cadeia trófica e com papéis importantes na comunidade aquática, são os denominados organismos testes (KNIE; LOPES, 2004).

Muitas pesquisas foram realizadas com diversas espécies de vegetais e animais, buscando assim a indicação de organismos que fossem mais representativos dentro de cada ecossistema, e que mesmo de dentro do mesmo grupo taxonômico, possuísse uma sensibilidade diferente (KNIE; LOPES, 2004).

A partir da enorme gama de organismos pesquisados nos anos 50 e 60, alguns foram normatizados e são hoje utilizados nos laboratórios de diversos países. Muitos critérios foram considerados nessas escolhas, como: importância na cadeia alimentar, fácil obtenção e simples manuseio (KNIE; LOPES, 2004).

Com a conclusão desse imenso trabalho, muitos organismos possuem a normatização, tanto para testes de toxicidade aguda como crônica, Zagatto e Bertoletti (2006), citam algumas normas já existentes para diferentes grupos: algas

(ABNT 1992; CETESB 1994), microcrustáceos (ABNT 1993; CETESB, 1994) e peixes (CETESB 1990; ABNT, 2004) (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2006).

O organismo *Mysidopsis juniae* é indicado como organismo teste na avaliação da água marinha e estuarina por Zagatto e Bertoletti (2006). Este pequeno crustáceo marinho de hábitos epibênticos, característico de regiões costeiras é reconhecido internacionalmente como organismos-padrão em testes de toxicidade por seguirem alguns critérios tais como os adultos terem grande potencial reprodutivo, a fácil aquisição e manutenção no laboratório e os testes apresentarem boa reprodutibilidade (OLIVEIRA et al., 2006).

Os misidáceos, por suas características reprodutivas e curto ciclo de vida, têm sido cada vez mais utilizados como bioindicadores. O Misidáceo trata-se de um pequeno crustáceo marinho, característico de regiões costeiras.

Esses pequenos crustáceos marinhos são reconhecidos internacionalmente como organismos-padrão em testes de toxicidade, pois seguem estes critérios: Os organismos adultos têm grande potencial reprodutivo; são de fácil aquisição e manutenção no laboratório; os testes apresentam boa reprodutibilidade (OLIVEIRA et al., 2006).

### **3.9. Novos rumos da Ecotoxicologia**

O estudo da toxicidade de substâncias é uma área em plena evolução, pois conforme há a descoberta de novas substâncias, novos estudos e novas metodologias devem ser adotadas, mantendo assim lado a lado as descobertas e suas possíveis conseqüências, visando assim evitar grandes desastres ambientais.

A área de Nanociências e nanotecnologias são amplamente vistas como enorme potencial de trazer benefícios para várias áreas da pesquisa e aplicação. Ao mesmo tempo, é reconhecido que a sua aplicação pode levantar novos desafios da segurança, regulamentar ou ética, domínios exigindo realização de inúmeros estudos sobre os desenvolvimentos atuais e futuros desta nova ciência e seus possíveis impactos (The Royal Society e The Royal Academy of Engineering, 2004).

Segundo este mesmo instituto, a investigação sobre os perigos e as várias vias de exposição de nanopartículas é necessária para reduzir a incertezas relacionadas a seus possíveis impactos sobre saúde, segurança e meio ambiente (The Royal Society e The Royal Academy of Engineering, 2004).

Os primeiros estudos realizados sobre a toxicidade de nanomateriais (já na última década do século XX), investigaram materiais que em escala micrométrica não apresentavam toxicidade, mas que em escala nanométrica, como nanoparticulados, apresentavam algum efeito tóxico. Um dos primeiros trabalhos sobre esta temática foi realizado porque, em um ensaio *in vivo* com ratos, observaram a inflamação de tecidos intersticiais somente dos indivíduos que foram expostos a partículas nanométricas de 20 nm, enquanto que os demais, expostos a partículas de 250 nm, mantiveram-se saudáveis (SEATON et al., 1995).

Juntamente com o surgimento de novos compostos, há a necessidade do conhecimento de seus potenciais riscos, principalmente às questões relacionadas à saúde humana. Surge então a partir dos estudos de toxicidade e de ecotoxicidade o termo nanotoxicologia, que tem como objetivo estudar e avaliar a toxicidade de partículas cujos componentes são atóxicos em escala macro ou microscópica diretamente relacionada a saúde do homem. De forma paralela, o termo nanoecotoxicologia é utilizado para estudos voltados à avaliação dos efeitos de nanomateriais ao ambiente, apontando os caminhos de transferência do agente tóxico, e suas rotas de exposição. Tanto a nanotoxicologia quanto a nanoecotoxicologia, incluem a caracterização adequada dos compostos investigados e os mecanismos de toxicidade destes, para que seus riscos potenciais sejam avaliados de maneira segura (PASCHOALINO et al., 2010)

Diferente dos já padronizados testes de toxicidade, não há padronização para a avaliação da toxicidade de nanopartículas. Os estudos realizados atualmente são adaptações dos procedimentos padrões utilizados para outras substâncias, podendo ser estes realizados em culturas de células (*in vitro*) ou com organismos testes (*in vivo*) (PASCHOALINO et al., 2010).

Sayes et al. (2004) realizou testes de toxicidade de nanomateriais, *in vitro*, usando culturas de células de mamíferos, as quais foram extraídas das mais diferentes partes do corpo. O emprego preferencial desta técnica deve-se ao fato de que são muito menos dispendiosas do que estudos *in vivo* e requerem pouco tempo.

### **3.10. Legislação para Ecotoxicologia**

A ecotoxicologia é uma ciência ainda pouco explorada no Brasil e há poucas leis ambientais indicando estudos ecotoxicológicos na avaliação da poluição

aquática. Zagatto (2006) acham conveniente falar sobre a diferenciação entre os critérios e padrões de uso e os padrões de qualidade de água, enquanto um se refere aos dados científicos que regem os limites relacionados ao uso o outro se refere a todos os aspectos sócio-econômicos e políticos da destinação de cada ambiente. Colocando em prática, os critérios são definidos pelas ferramentas analíticas disponíveis e os padrões pelos órgãos competentes.

Masutti et al. (2006) ressaltam a importância na determinação de concentrações seguras de agentes químicos para a preservação da vida aquática e para a qualidade das águas e dos sedimentos.

Para águas superficiais, a Resolução CONAMA nº 357/2005 é uma das poucas que, além de estabelecer a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, também regulamenta as condições e padrões de lançamento de efluentes, proibindo o lançamento em níveis nocivos ou perigosos para os seres humanos e outras formas de vida, ou seja, os efluentes líquidos industriais e domésticos devem atender aos Padrões de Emissão, atendendo aos Padrões de Qualidade, em situações críticas de vazão.

Em seu artigo 7º, esta resolução limita uma série de potenciais contaminantes no ambiente e acrescenta, que “Eventuais interações entre substâncias, especificadas ou não nesta Resolução, não poderão conferir às águas características capazes de causar efeitos letais ou alteração de comportamento, reprodução ou fisiologia da vida, bem como de restringir os usos preponderantes previstos”. Também descreve que no caso de lançamento de efluentes líquidos industriais provenientes de indústrias químicas, petroquímicas e siderúrgicas, poderão ser determinadas exigências extras para cada caso específico, em alusão aos testes de toxicidade crônica.

Já no art. 8º deixa bem claro nos seguintes parágrafos a importância de estudos toxicológicos:

§ 3º A qualidade dos ambientes aquáticos poderá ser avaliada por indicadores biológicos, quando apropriado, utilizando-se organismos e/ou comunidades aquáticas.

§ 4º As possíveis interações entre as substâncias e a presença de contaminantes não listados nesta Resolução, passíveis de causar danos aos seres vivos, deverão ser investigadas utilizando-se ensaios ecotoxicológicos, toxicológicos, ou outros métodos cientificamente reconhecidos.

Por sua vez, uma legislação federal, a resolução Nº 357 do CONAMA é mais ampla e necessita da formulação de leis mais restritas de acordo com a necessidade



de cada estado brasileiro, ficando estes livres para estabelecerem seus próprios limites de toxicidade.

Muitos são os órgãos que recomendam a utilização da análise de toxicidade através de testes com organismos-padronizados como um importante instrumento para avaliação do potencial de impacto das substâncias químicas ou efluentes lançados no ambiente, não só em nível nacional como o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente (IBAMA), mas também em nível estadual, como a Companhia Estadual de Tecnologia Ambiental (CETESB-SP), Fundação de Meio Ambiente de Santa Catarina (FATMA-SC), Fundação Estadual de Engenharia e Meio Ambiente (FEEMA-RJ), Fundação Estadual de Proteção Ambiental (FEPAM-RS), Instituto Ambiental do Paraná (IAP-PR) e a Companhia Pernambucana de Meio Ambiente (CPRH-PE).

O FATMA e o IAP-PR vêm estudando desde o ano de 1992 a implementação de metodologias para estudos de toxicidade para avaliação de efluentes com objetivo de criar uma proposta de lei, onde contenha limites de lançamento de substâncias tóxicas oriundas dos efluentes industriais (MAGALHÃES; FERRÃO FILHO, 2008).

A Legislação Ambiental do Estado de Santa Catarina fixou limites de toxicidade para efluentes industriais de diferentes ramos de atividade, através da Portaria nº 017/02 – FATMA de 18/04/2002, determinando limites máximos de toxicidade aguda para efluentes de diferentes origens. Esses limites são estabelecidos através do fator de toxicidade que representa o menor fator de diluição que causa até 10% de efeito nos organismos (FATMA, 2002).

Sendo assim, o monitoramento de qualidade das águas é um importante instrumento de gestão ambiental, seja qual for a legislação ou os padrões adotados para realizar o acompanhamento sistemático dos aspectos qualitativos das águas através dos estudos ecotoxicológicos. Sua regulamentação tem fornecido subsídios legais para as autoridades governamentais para que se exija o cumprimento dos critérios mínimos de proteção à vida aquática (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2006).

## 4. METODOLOGIA

### 4.1. Abordagem Metodológica

O método utilizado nesta pesquisa foi quantitativo. De acordo com Günther (2006), em uma pesquisa quantitativa, a utilização de uma amostra representativa assegura a possibilidade de uma generalização dos resultados, apoiado em um processo indutivo, partindo de elementos individuais para se chegar às hipóteses e generalizações. A pesquisa quantitativa permite a mensuração de opiniões, reações, hábitos e atitudes em um universo, por meio de uma amostra que o represente estatisticamente. Suas características principais, segundo Denzin e Lincoln (2005), são:

- a) Obedece a um plano pré-estabelecido, com o intuito de enumerar ou medir eventos;
- b) Utiliza a teoria para desenvolver as hipóteses e as variáveis da pesquisa;
- c) Examina as relações entre as variáveis por métodos experimentais ou semi-experimentais, controlados com rigor;
- d) Emprega, geralmente, para a análise dos dados, instrumental estatístico;
- e) Confirma as hipóteses da pesquisa ou descobertas por dedução, ou seja, realiza previsões específicas de princípios, observações ou experiências; e,
- f) Utiliza dados que representam uma população específica (amostra), a partir da qual os resultados são generalizados, entre outros.

No decorrer do estudo, foram realizados testes de toxicidade aguda com o organismo *Mysidopsis juniae*, das amostras de petróleo bruto + água marinha reconstituída. Para atingir o objetivo, foram feitos bioensaios em amostras de petróleo, buscando encontrar a  $CL_{50(96horas)}$  e a cinética de toxicidade do HPA em organismos marinhos.

Para realização da medição de HPA nas amostras, utilizou-se a sonda Trios Optical Sensors enviro Flu-HC, pelo método de fluorimetria altamente sensível para detectar óleo em água e HPAs, em unidades de microgramas por litro.

## 4.2. Amostra

Como o foco desse trabalho é obter dados para contribuir com informações que auxiliem no tempo de resposta a acidentes ambientais do setor petrolífero, em ambiente marinho, optou-se por trabalhar com amostra de petróleo bruto.

O petróleo utilizado foi fornecido por meio de doação, pela empresa Petróleo Brasileiro S. A. (Petrobras®), através da filial Transpetro, em São Francisco do Sul/SC, por via de um ofício de solicitação (Anexo 1).

Este petróleo é de origem da Floating Production, Storage and Offloading – FPSO (Unidade Flutuante de Armazenamento e Transferência), da cidade de Niterói-RJ. O Marlim Jabuti, como é chamado, é proveniente do reservatório de Jabuti, instalado no Campo de Marlim Leste, da Bacia de Campos. Jabuti é a primeira acumulação comercial de petróleo leve (29º API) descoberta em reservatórios carbonáticos em águas ultraprofundas (Tribuna do Norte, 2009).

Por ser um produto considerado perigoso, juntamente com a amostra foi fornecida a FISPQ (Ficha de Informação de Segurança de Produto Químico) (Anexo 2), onde se pode visualizar as principais características do produto, além de seus perigos mais importantes, efeitos do produto, elementos apropriados da rotulagem, composição e informação sobre os ingredientes que o compõe, medidas de primeiros socorros, medidas de combate a incêndio, medidas de controle para derramamento ou vazamento, manuseio e armazenamento, controle de exposição e proteção individual, propriedades físico-químicas, estabilidade e reatividade, informações toxicológicas, informações ecológicas, entre outros.

## 4.3. Organismo Teste

As atividades envolvendo petróleo são, na sua grande maioria, de navegação oceânica e/ou plataformas. Optou-se, então, por trabalhar com um microcrustáceo marinho, *Mysidopsis juniae*, obtido do cultivo no Laboratório de Toxicologia Ambiental da Universidade da Região de Joinville – UNIVILLE, na Unidade São Francisco do Sul – SC, que está em acordo com a norma da CETESB L5.251 (CETESB, 1992) e NBR 15.308 (ABNT, 2011).

Alguns aspectos importantes do cultivo estão descritos na Tabela 6.

**Tabela 6.** Condições recomendadas para o cultivo de *Mysidopsis juniae*.

Condições do cultivo	Recomendado
Troca de água reconstituída (água deionizada + sal reconstituída)	1 vez por semana
Salinidade	32
Temperatura	25 °C
Fotoperíodo	12 horas luz/12 horas escuro
Alimentação	<i>Artemia sp.</i> enriquecida com óleo de peixe e óleo de fígado de bacalhau
Aeração	Branda e contínua
Sistema	Semi-estático
Volume de água de diluição	100 mL/indivíduo

Fonte: Adaptado em ABNT, 2011.

Misidáceos são pequenos crustáceos marinhos de hábito epibêntico, parecidos com pequenos camarões (RUPPERT; BARNES, 2005). Uma das características marcantes dos misidáceos é a presença do marsúpio nas fêmeas (Figura 3), onde elas carregam seus ovos, que após tornarem-se juvenis, com forma semelhante a um adulto são liberados para o ambiente (GAMA et al., 2009).



**Figura 3.** Fêmea indicando a estrutura carregada de embriões (Marsúpio).  
Fonte: BÖHM (2008)

Os misidáceos, em sua maioria, são omnívoros e capazes de se alimentar de pequenas partículas aderidas à superfície do seu corpo, além de capturar organismos planctônicos significativamente grandes comparados ao seu tamanho (RUPPERT et al., 2005). Normalmente, capturam animais inteiros, mas estudos relatam que em estômagos de misidáceos de ambientes costeiros, foram observados detritos identificados como partes de diatomáceas, tintinídeos e partes de outros pequenos crustáceos (MURANO, 1999).

A distribuição geográfica das espécies de misidáceos é pouco conhecida. Sabe-se, no entanto, que são encontrados em todos os três grandes oceanos e em todas as latitudes, ocorrendo, assim, nas mais variadas condições de temperatura. São também encontrados em água doce onde atuam como importante parte da dieta de muitas espécies de peixe, assim como no meio marinho (MAUCHLINE, 1982).

*Mysidopsis juniae* (SILVA, 1979) é uma espécie de hábito epibentônico e omnívora. A principal característica morfológica para a distinção da espécie é o formato do telson, que, observado ao microscópio estereoscópico, apresenta um tubérculo distal no ápice. Tem ocorrência registrada no canal de São Sebastião, litoral norte do Estado de São Paulo e Rio de Janeiro (ABNT, 2005).

Este grupo possui uma grande significância ecológica, devido seu importante papel na cadeia trófica, sendo um dos componentes da dieta de várias espécies de peixes, muitas delas utilizadas para consumo humano. Os peixes como outros organismos bioacumulam em seus tecidos os produtos tóxicos advindos da sua alimentação, portanto, a contaminação dos misidáceos pode acarretar sérias conseqüências para a cadeia alimentar e o ecossistema. Outro fator que colabora com esta questão é o fato da grande migração vertical da maioria das espécies de misidáceos, transportando tóxicos da superfície para os sedimentos marinhos e vice-versa (EVANS et al., 1982).

*Mysidopsis juniae* são indicados como organismo teste na avaliação da água marinha e estuarina por Zagatto e Bertolletti (2006), reconhecidos internacionalmente como organismos-padrão em testes de toxicidade por seguirem alguns critérios tais como os adultos terem grande potencial reprodutivo, a fácil aquisição e manutenção no laboratório e pelos testes apresentarem boa reprodutibilidade (OLIVEIRA et al., 2006).

### 4.3.1. Teste de Sensibilidade

Para os testes de sensibilidade dos organismos seguiu-se a ABNT - NBR 15308/2011, optando-se por utilizar como substância de referência o Dodecil Sulfato de Sódio – DSS ( $C_{12}H_{25}NaO_4S$ ) por ter o DSS as vantagens de ação rápida e não seletiva, baixa toxicidade para o homem, além de agir dentro de uma faixa mais estreita de concentrações (ENVIRONMENT CANADA, 1990).

A partir dos 20 últimos resultados de testes com o DSS feitos periodicamente no laboratório de toxicologia Ambiental da Unidade da UNIVILLE - São Francisco do Sul, foram calculados a média e o desvio padrão, sendo que o intervalo de confiança, que comprova a repetibilidade dos resultados, não deve ser superior a dois.

A solução-estoque do DSS foi preparada na concentração de 100 mg/L. Os testes de sensibilidade foram de toxicidade aguda, onde em frascos estéreis de 200 mL foram colocados 10 organismos *Mysidopsis juniae* com aproximadamente 5 dias de vida em contato com a amostra. Os testes foram feitos com 5 concentrações, em triplicata, incluindo os frascos com 0% de DSS (Branco), sendo o controle. Aos organismos testes foram fornecidos náuplios de *Artemias* sp. uma vez ao dia. As leituras do teste de sensibilidade foram feitas com 96 horas de exposição do organismo ao contaminante, onde será observada sua mortalidade (NBR 15308/2011).

## 4.4. Teste com HPA

### 4.4.1. Preparo da Amostra

Para o preparo da amostra, utilizou-se como parâmetro inicial o acidente da Baía de Guanabara, ocorrido no dia 18 de Janeiro de 2000, onde cerca de 1,3 milhões de litros de óleo cru, originados da Refinaria Duque de Caxias, da Petrobrás, atingiram as águas da Baía de Guanabara. A causa do acidente foi o vazamento de uma das tubulações da refinaria. Esse foi o segundo maior derramamento ocorrido na Baía de Guanabara, e resultou em graves danos ao ecossistema local. A mancha de mais de 40 km<sup>2</sup> atingiu manguezais, praias,

inúmeras espécies de fauna e flora, além de causar prejuízos sociais e econômicos para a população local (ANTAQ, 2012).

A superfície da Baía da Guanabara mede aproximadamente 380 km<sup>2</sup>, com um volume médio de água em torno de 1,87x10<sup>9</sup> m<sup>3</sup> (KJERFVE et al., 1996).

Assim, com base nestes dados, foi determinada a diluição inicial de petróleo a ser utilizada, usando as mesmas proporções do acidente da Baía de Guanabara, um dos mais representativos que o Brasil já sofreu.

#### **4.4.2. Determinação da CL<sub>50(96horas)</sub>**

A CL<sub>50(96horas)</sub> foi determinada a partir de ensaio de toxicidade aguda, com base na NBR 15.308 (ABNT, 2011).

Para realização dos testes, foram colocados em frascos estéreis de vidro de 1 litro, 10 organismos testes (*Mysidopsis juniae*) com aproximadamente 5 dias de vida, sendo cada frasco devidamente identificado.

Todas as diluições foram realizadas em triplicata, visando assim a comprovação dos dados. Após a montagem do teste, os frascos foram mantidos em sala de teste com fotoperíodo (12 horas luz, 12 horas escuro) com temperatura controlada de 25 °C, sendo alimentados uma vez ao dia com náuplios de *Artemia sp*, enriquecidos com óleo de peixe e óleo de fígado de bacalhau. A leitura foi feita em 96 horas, observando a letalidade dos organismos. Na maioria dos testes realizados, precisou-se refinar o fator de diluição até conseguir chegar à CL<sub>50(96horas)</sub>.

Todos os testes foram agudos, rodando por 96 horas após a sua montagem, tendo a solução estoque elaborada 24 horas antes da sua utilização, garantindo assim uma adequada diluição do HPA na água marinha reconstituída por meio de agitação mecânica.

Esses ensaios foram realizados no laboratório de Toxicologia da Universidade da Região de Joinville – UNIVILLE, local utilizado para montagem dos testes, controlado 24 horas com o auxílio de ar-condicionado e inverter, mantendo-se a temperatura dos testes se manteve constante, em uma faixa de 24±1°C.

O controle de pH e OD (Oxigênio Dissolvido) foram realizados diariamente de forma aleatória no cultivo do organismo teste, mantendo a média exigida pela norma ABNT NBR 15.308/2011. Optou-se, então, pela não medição desses parâmetros nos

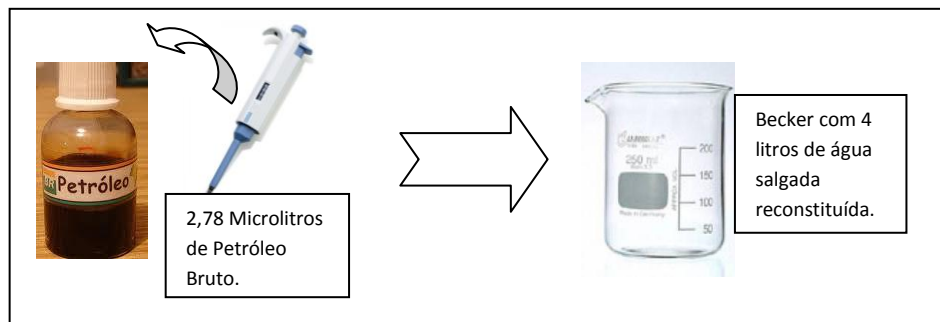
testes agudos de HPA, evitando assim o estresse dos organismos testes e/ou possíveis contaminações.

Optou-se pela utilização de água marinha reconstituída, composta de água deionizada + sal marinho reconstituída (Red Sea Salt), sendo que o parâmetro de salinidade manteve-se sempre dentro da média de 32 ppm, valor adequado de cultivo para o organismo teste, *Mysidopsis juniae* (KLEINE, 2010).

Em cada batelada de testes agudos, 5 diferentes diluições mais o teste controle foram realizados.

### FASE I – Teste Baía de Guanabara - Preliminar:

Para iniciar os testes, primeiramente com a amostra, foram diluídos 2,78 microlitros de petróleo bruto em um becker com 4 litros de água salgada reconstituída (salinidade 32), compondo a concentração semelhante ao acidente ocorrido na Baía de Guanabara (Figura 4).



**Figura 4.** Diagrama esquemático, Fase I.

A amostra permaneceu em processo de agitação por 24 horas para uma perfeita diluição. Esse fato diferencia-se da Baía de Guanabara, onde a dispersão do petróleo seguiu a dinâmica natural do ambiente.

Com relação às diluições utilizadas para realização dos testes agudos, utilizou-se como base inicial a diluição de 2,78  $\mu\text{L}$  de petróleo em 4 L de água salgada reconstituída, referente ao acidente da Baía de Guanabara, em frascos para teste agudo de 200 mL, sendo necessário, então, 0,139  $\mu\text{L}$  de petróleo bruto em 200 mL de água salgada reconstituída.

A escolha das diluições foi aleatória, tendo apenas como ponto inicial a diluição de 0,139 microlitros, baseando-se nos dados de sobrevivência dos



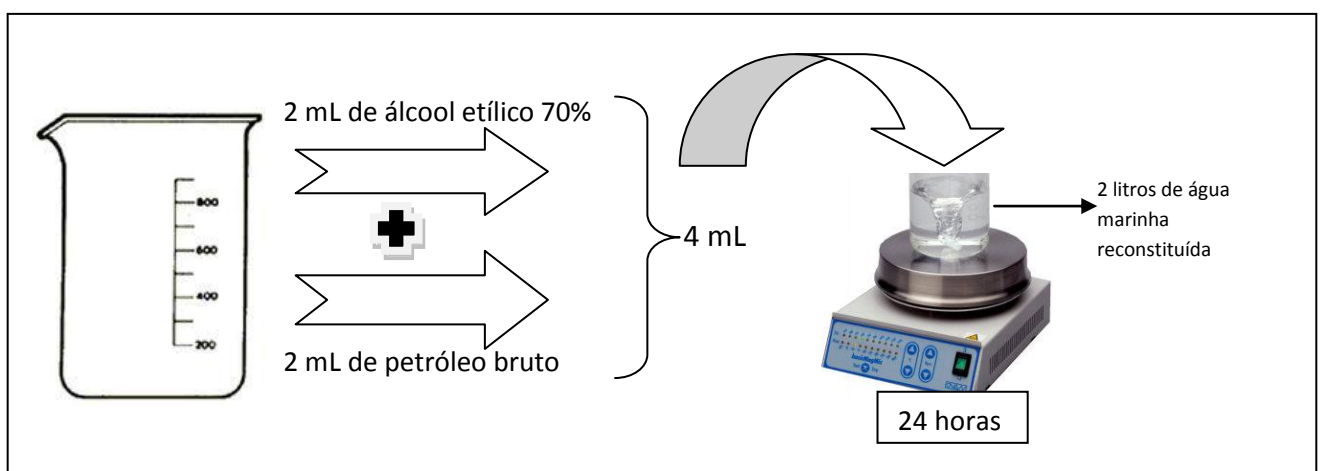
organismos testes após as 96 horas de ensaio para decisão das próximas diluições que foram utilizadas, com maior ou menor concentração.

Evitando a utilização de diluições com porções muito pequenas do elemento teste, optou-se pela elaboração de uma solução mãe (solução estoque), da qual as concentrações foram retiradas.

### **FASE II – Solução Estoque:**

Para a fabricação da solução estoque, em 2 litros de água marinha reconstituída diluiu-se 2 mL de álcool etílico 70% + 2 mL de petróleo bruto, deixando agitar por 24 horas para melhor diluição (Figura 5.). Quanto mais hidrofóbico o HPA, maior a solubilidade com o aumento da fração do co-solvente. A extensão da solubilidade depende também da concentração de etanol na mistura (KAIPPER; CORSEUIL, 2002).

A utilização do álcool etílico 70% juntamente ao petróleo bruto na elaboração da solução estoque, é importante para auxiliar na dissolução do HPA na água marinha reconstituída, não interferindo nos resultados dos testes devido ao seu alto poder de evaporação nas 24 horas de agitação (Tabela 7.). Para comprovação dessa informação, um teste agudo utilizando somente o álcool etílico 70% foi elaborado, não mostrando efeitos tóxicos nos organismos testes, como pode ser visto na Tabela 7:



**Figura 5.** Diagrama esquemático, Fase II.

**Tabela 7.** Teste Agudo com Solução estoque de Álcool – Proporção 200 mL de água marinha reconstituída + 0,2 mL de álcool etílico 70%.

Concentração:	Nº de Mortos após 96 horas de teste:	Total de Mortos:
100%	0 + 0 + 0	0

Antes da utilização da solução estoque para montagem dos testes agudos, a amostra foi sifonada, retirando para utilização somente a parte inferior da amostra, excluindo a porção superior onde o petróleo bruto não solúvel mantém-se devido a diferença de densidade petróleo X água.

A amostra sifonada, com a fração solúvel do petróleo, passou por processo de filtração, utilizando uma bomba a vácuo com filtro de 0,2  $\mu\text{m}$  e kitassato (Figura 6.)



**Figura 6.** Filtragem da Solução Estoque utilizando bomba á vácuo e kitassato, com filtro de 0,2  $\mu\text{m}$

Para todos os testes agudos, a montagem da solução estoque seguiu a mesma metodologia.

### **FASE III – CL<sub>50(96horas)</sub>:**

O efeito de poluentes nos organismos é complexo, resultante das interferências físico-químicas do meio externo e das funções vitais. Para monitorar a qualidade ambiental é necessário que sejam avaliados rapidamente estes efeitos. Ensaio de CL<sub>50(96horas)</sub>, que quantificam alterações nas taxas de mortalidade sob influências deletérias, são amplamente empregados para esse fim (BARBIERI, 2004).

Com a realização de vários testes agudos, encontrou-se as concentrações adequadas para alcançar a CL<sub>50(96horas)</sub>.

Foi realizado um Screening para identificar a faixa de concentração de HPA que oferece toxicidade aguda ao organismo teste. Nesta etapa, foram utilizadas diluições de 50% a 90% de solução estoque, causando mortalidade total nos organismos, necessitando assim uma baixa na concentração.

Foi abaixo dos 25% de solução estoque que se começou a se obter a toxicidade aguda necessária para localização da CL<sub>50(96horas)</sub> na realização dos testes.

No total, foram realizados 11 testes agudos, com concentrações de solução estoque variando de 25% a 0,0078%, com obtenção de CL<sub>50(96horas)</sub>. Por se tratar de números muito pequenos, com pouca variação, uma média de todas as CL<sub>50(96horas)</sub> localizadas foi realizada, baseando-se nessa para as demais fases do teste.

#### **4.4.3. Cinética**

Para realização do estudo de cinética, a diluição petróleo/água utilizada no teste agudo que gerou a média da CL<sub>50(96horas)</sub> foi repetida, confirmando o valor efetivo.

Um novo teste foi montado, seguindo a mesma metodologia supracitada, utilizando apenas a concentração ideal para CL<sub>50(96horas)</sub>, e realizando contagem dos organismos testes a cada, no máximo, 24 horas. Com essa periodicidade de contagem, pode ser observado o comportamento dos organismos em relação à amostra, e determinar a cinética, que busca evidenciar a mortalidade dos organismos em função do tempo de exposição ao agente tóxico. A contagem ocorreu a olho nu, como nos demais testes, sempre pela mesma pessoa responsável por estes.

A partir da determinação da concentração letal mediana de HPA na amostra responsável pela  $CL_{50(96\text{horas})}$  do organismo teste, foi determinada a concentração de HPA na  $CL_{50(96\text{horas})}$  com auxílio da sonda Trios Optical Sensors enviro Flu-HC (cedida pela empresa SILICOTOX®), responsável pela determinação do HPA através de um processo geral de fluorimetria na amostra, como se pode observar na Figura 7.



**Figura 7.** Leitor de resultados da Sonda responsável pela determinação de HPA

A Sonda Trio Optical Sensors enviro Flu-HC, pequena sonda fluorimétrica submersível, que permite monitorar online as concentrações de HPAs, medindo diretamente a quantidade de emissões de fluorescência de um determinado volume de amostra, devido a sua alta eficiência de flashes de luz xênon. O comprimento de onda necessário para detecção do HPA é selecionado devido a utilização de um filtro de interferência, instalado a 254 nm. Para realização dessa contagem, uma pequena intensidade de luz de detecção é refletida por um divisor de feixe de luz que é utilizado como sinal de referência, para avaliar as variações de energia.

O feixe de luz para detecção de HPA é focado aproximadamente a 2 mm na frente da abertura inferior formada por uma pequena lente. A luz fluorescente detectada no HPA é identificada pela mesma lente, que devido aos comprimentos da onda de luz de fluorescência possui um fotofiodo de grande área. Um filtro de interferência (360 nm) é utilizado em frente ao fotodiodo para discriminar os feixes de luz, selecionando assim somente as luzes de fluorescência.

Um circuito especial da sonda elimina a influência da luz ambiente, presente em águas superficiais.

As especificações técnicas da sonda podem ser visualizadas na Tabela 8.

**Tabela 8.** Especificações Técnicas da Sonda.

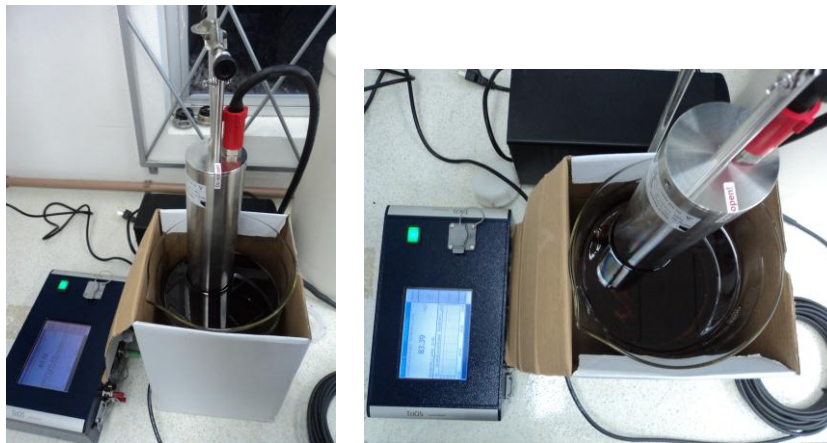
<b>Especificações Técnicas</b>	
<b><u>Ótico:</u></b>	
Fonte de luz	Miniatura de lâmpadas de Xenon com a interferência de energia saída do filtro controlado por referência interna de raios UV.
Detetor	Raios UV com filtro de interferência.
Janelas Óticas	Nano revestimento para evitar contaminações com óleo.
Faixas	0.50 µg/L, 0.500 µg/L
Limites de Detecção	0,1 µg/L em água pura
<b><u>Elétrico:</u></b>	
Voltagem	12.26 VCD
Interfaces	RS232, 0.5 VDC, 4.20 mA
Conector	SUBCONN micro, 8 pinos machos
<b><u>Mecânico:</u></b>	
Tamanho	Ø68 mm x 280 mm (sem conector)
Material	Plástico resistente a água, aço inoxidável (1.4571)
Peso	2,7 kg
Classificação de Profundidade	500 metros

Fonte: Manual da Sonda.

A medição de HPA em água é um grande problema, sendo indispensável a correta calibração dos equipamentos utilizados. As principais razões para isso são que os HPAs são diferentes em sua solubilidade em água, e também com a sua eficiência de fluorescência. Além disso, na maioria dos casos, a amostra contém uma mistura de diferentes HPAs. Portanto, essa sonda possui seu próprio padrão de

calibração de sensores de fluorescência, não necessitando de calibração para medir concentrações totais de HPA.

Para a leitura do teste, a sonda foi inserida na amostra e programada para realizar a medição de HPA a cada minuto, durante 96 horas (tempo de duração do teste agudo), como mostra a Figura 8. Para determinação da concentração de HPA na  $CL_{50(96\text{horas})}$ , foi analisado o resultado da concentração de HPA na amostra no mesmo momento em que foi analisado a  $CL_{50(96\text{horas})}$  no teste da cinética.



**Figura 8.** Processo de Utilização da Sonda.

#### 4.5. Análise de Dados

Os resultados foram organizados em tabelas e gráficos, tabulados com o auxílio do software Excel da Microsoft® e do programa MINITAB 14 com o método estatístico *General DOE (Design of experiment)* – Planejamento fatorial.

#### 4.6. Questões éticas da pesquisa

A Lei Federal N° 11.794/08, na qual o CEP (Comitê de Ética em Pesquisa da UNIVILLE) se baseia para conduzir as pesquisas e garantir os bons tratos aos animais, não se aplica a este estudo, já que o organismo teste empregado se trata de um microcrustáceo e não pertence ao filo Chordata.

Contudo, o presente estudo respeita as leis que regem a pesquisa envolvendo animais e adota os princípios dos 3rs: *Refinement* (Refinamento), *Reduction* (Redução), *Replacement* (Substituição), estabelecido em 1959 por Russel

e Burch. Uma vez que o teste agudo utilizado nesta pesquisa propõe a redução do número de animais utilizados, acompanhada pelo aumento da qualidade do tratamento estatístico dado para pequenas amostras, essa pode ser uma importante alternativa para se obter um máximo de informações com um mínimo de animais.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Teste de Sensibilidade

Semanalmente, realizam-se testes de sensibilidade com os organismos cultivados no laboratório de Toxicologia Ambiental da UNIVILLE – Unidade São Francisco do Sul – SC, de onde é proveniente o cultivo de *Mysidopsis juniae* utilizados nessa pesquisa.

A partir dos resultados do teste de sensibilidade, uma carta controle foi construída (verificação de  $CL_{50(96\text{horas})}$ ), de cada lote de organismo (Figura 9), para a substância de referência DSS (Dodecil Sulfato de Sódio), utilizando sempre os 20 últimos testes.

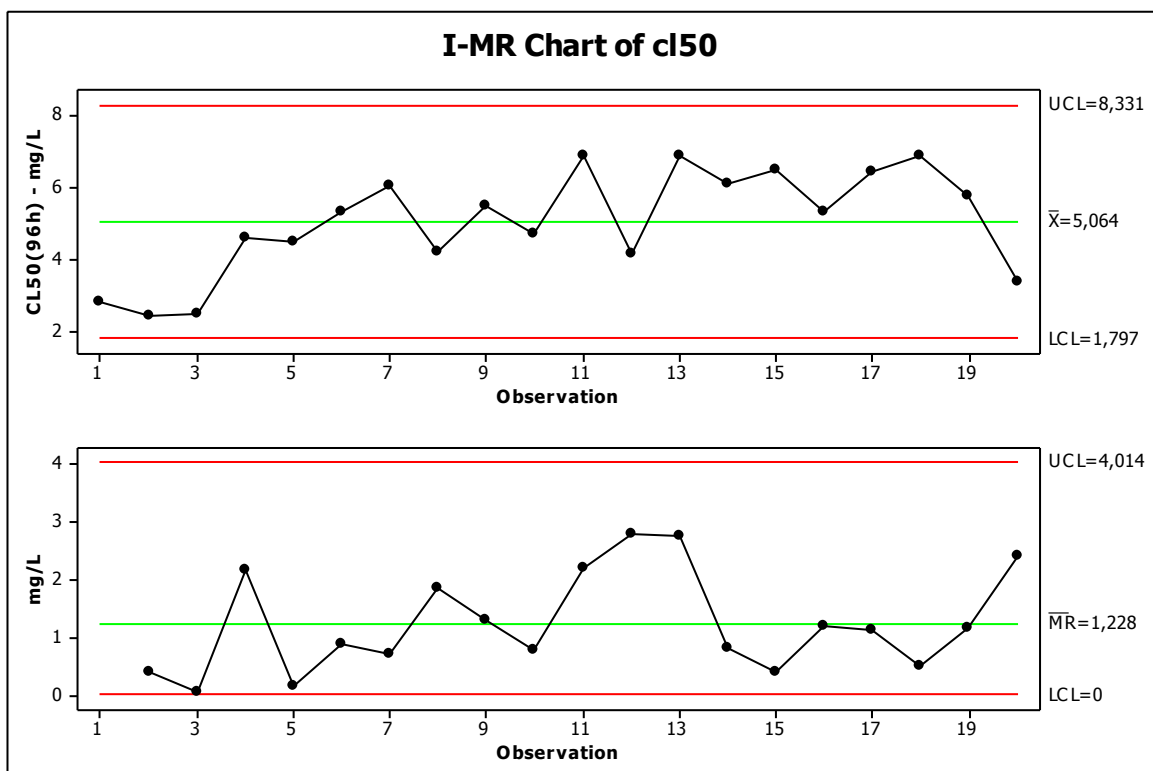


Figura 9. Carta Controle.



Pode-se observar que os resultados obtidos se encontram dentro do intervalo de confiança de 2 desvios-padrões, demonstrando que os organismos estão em condições normais e possuem sensibilidade necessária para a realização dos bioensaios, comprovando a possibilidade de repetibilidade do teste, conforme o que estabelece a ABNT/NBR 15.308 (2011). Verificou-se que a mortalidade dos organismos-teste estão dentro da porcentagem, estabelecida pela norma NBR15308, sendo inferior ou igual a 10%, validando todos os testes de toxicidades realizados no estudo.

## **5.2. Teste Preliminar Baseado no Acidente na Baía de Guanabara**

Os resultados do teste agudo, em triplicata, baseado no acidente da Baía de Guanabara para o organismo teste *Mysidopsis juniae* foram de zero mortos. Observa-se que para realização do teste em laboratório, utilizou-se das proporções de óleo cru originados no acidente, e a totalidade aproximada de água da Baía de Guanabara. No entanto, no caso do acidente, o óleo vazado concentrou-se em uma porção da Baía de Guanabara, e não em todo seu total, portanto, decidiu-se neste trabalho utilizar para os próximos testes toxicológicos agudos, valores maiores de concentração de HPA, a partir da concentração do acidente em questão.

De acordo com Kennish (1997), vários processos químico-físicos atuam durante um derrame de óleo na superfície do mar e alteram sua composição e potencial de toxicidade, sendo os processos mais importantes a evaporação, dissolução, oxidação fotoquímica, advecção e dispersão, emulsificação, e sedimentação.

Em caso de acidentes envolvendo HPA em água, o processo de evaporação é sempre levado em conta, pois com o passar do tempo, as concentrações vão diminuindo. Porém, com a evaporação, esses HPAs atingem outros meios, como a atmosfera.

Durante as primeiras 24/48 horas do derrame de petróleo, a evaporação e dissolução produzem a maior mudança na composição do óleo, causando uma perda rápida dos componentes mais leves, mais tóxicos e voláteis (KENNISH, 1996).

Porém, num acidente envolvendo HPA em ambientes marinhos, não se deve considerar o processo de evaporação, e sim realizar o atendimento o mais breve possível.

Nesse trabalho, utilizou-se do HPA como um marcador de toxicidade aguda em um determinado organismos teste (*Mysidopsis juniae*). Porém, em um vazamento de óleo cru (elemento utilizado para realização do teste), vários outros componentes o compõe, partículas insolúveis em água que aderem ao corpo de organismos, entre outras substâncias do petróleo, podendo essas ser responsáveis por maiores danos ao meio ambiente como um todo.

### 5.3. Determinação da $CL_{50(96horas)}$

Ao total, foram realizados 30 testes agudos, sendo que 11 deram  $CL_{50(96horas)}$  entre 0,6% a 2,67% utilizando as concentrações da solução estoque de 25% a 0,0078% + concentração controle, concentrações essas que mais se aproximaram a  $CL_{50(96horas)}$  do organismo teste *Mysidopsis juniae*.

A solução estoque utilizada possuía uma concentração de HPA inicial de 0,324 ppm.

Com a finalização dos 11 testes agudos necessários para busca da  $CL_{50(96horas)}$ , utilizou-se das médias dos resultados para determinação da  $CL_{50(96horas)}$  do organismo teste *Mysidopsis juniae* sob a amostra de HPA de petróleo bruto dissolvido em água marinha artificial para determinação da cinética.

A

Tabela 9 apresenta os resultados e média alcançada na determinação da  $CL_{50(96horas)}$  do organismo teste.

**Tabela 9.** Resultados dos testes agudos realizados para o cálculo da  $CL_{50}$  ao organismo teste *Mysidopsis juniae* em amostra contaminada com HPA.

Data	Concentrações de água com fração solúvel de petróleo	$CL_{50(96horas)}$ (%)
24/01/13 a 28/01/13	5%	2,67
	10%	
	15%	
	20%	
	25%	
05/03/13 a 09/03/2013	2%	0,85
	0,50%	
	0,125%	

	0,031%	
	0,0078%	
18/03/13 a 22/03/2013	2%	1,87
	1,00%	
	0,500%	
	0,100%	
	0,0500%	
18/03/13 a 22/03/2013	2%	2,17
	1,00%	
	0,500%	
	0,100%	
	0,0500%	
18/03/13 a 22/03/2013	2%	1,2
	1,00%	
	0,500%	
	0,100%	
	0,0500%	
21/03/13 a 25/03/2013	2%	0,63
	1,00%	
	0,500%	
	0,100%	
	0,0500%	
23/03/13 a 27/03/2013	2%	0,6
	1,00%	
	0,500%	
	0,100%	
	0,0500%	
23/03/13 a 27/03/2013	2%	1,47
	1,00%	
	0,500%	
	0,100%	
	0,0500%	
23/03/13 a 27/03/2013	2%	1,37
	1,00%	
	0,500%	
	0,100%	
	0,0500%	
23/03/13 a 27/03/2013	2%	1,53
	1,00%	
	0,500%	
	0,100%	
	0,0500%	
12/04/13 a 16/04/13	2%	0,83
	1,00%	
	0,500%	

	0,100%	
	0,0500%	

Para a análise dos dados apresentados na Tabela 9, utilizou-se da média da CL<sub>50</sub>(96horas) de 1,52% (em 15,2 mL/L) de todos os testes para dar continuidade ao processo, buscando a cinética da referida amostra.

Nas amostras de 15,2 mL/L (CL<sub>50</sub>(96horas)), a concentração de HPA variou de 0,022ppm a 0,025 ppm.

Segundo Anderson e colaboradores (1976), o organismo mais sensível para testes com óleo e hidrocarbonetos de petróleo é o *Mysidopsis almyra*, organismo esse da mesma ordem do organismo teste utilizado para essa pesquisa, *Mysidopsis juniae*.

Barron e colaboradores (1999) realizaram testes de toxicidade de óleo, determinando em testes agudos, testes de crescimento e sobrevivência com o *Mysidopsis bahia*. Para os testes de inibição de crescimento a concentração de mg de óleo necessária para iniciar a inibição variou de 0,3 a 1,1mg/L de hidrocarbonetos totais de petróleo, já para CL<sub>50</sub>(96horas) a Concentração letal média variou de 0,9 a 1,5 mg/l de hidrocarbonetos totais de petróleo.

Cabe ressaltar que o organismo-teste padronizado para análises agudas toxicológicas, citado em norma nacionais, é o organismo-teste utilizado nesse trabalho *Mysidopsis juniae*. O organismo-teste *Mysidopsis bahia* é mais indicado para análises em águas frias, indicado para trabalhos na América do Norte. Além disso, as amostras de petróleo utilizadas não são provenientes do mesmo local, podendo haver alterações em sua composição.

Segundo Ihara (2008), a CL<sub>50</sub>(96horas) obtida para *Mysidopsis juniae* após 96 horas de testes (teste agudo) foi de 3,2% para água contaminada produzida, coletada do Terminal Marítimo Almirante Soares Dutra – Transpetro S.A, sendo esses tanques de estocagem contendo óleo e água.

Na realização de análises físico-químicas da amostra para água contaminada produzida (água + óleo), o somatório dos 16 HPA's e da totalidade dos 20 HPA's analisados (20 parentais + alquilados) foi de 49,8 e 287,4 µg/l<sup>-1</sup>, respectivamente, observando-se uma predominância de 97,3% de HPA's com 2 e 3 anéis aromáticos (somatório de parentais e alquilados) em relação aos hidrocarbonetos de 4 e 6 anéis aromáticos (IHARA, 2008).

Os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos, foco desse estudo, constituem uma família de compostos caracterizada por possuir 2 ou mais anéis aromáticos. A amostra utilizada para preparação da solução estoque trata-se de petróleo bruto + água marinha reconstituída, amostra essa similar a utilizada no trabalho de Ihara (2008), composta 97,3% por HPA's com 2 ou 3 anéis aromáticos.

#### 5.4. Cinética do HPA

Com o resultado da média da  $CL_{50(96horas)}$ , de 1,52% (aproximadamente 0,023 ppm de HPA), buscou-se, então, a cinética da toxicidade aguda de HPA. A velocidade com que as reações químicas ocorrem num determinado tempo é chamada de cinética (GONÇALVES, 2011).

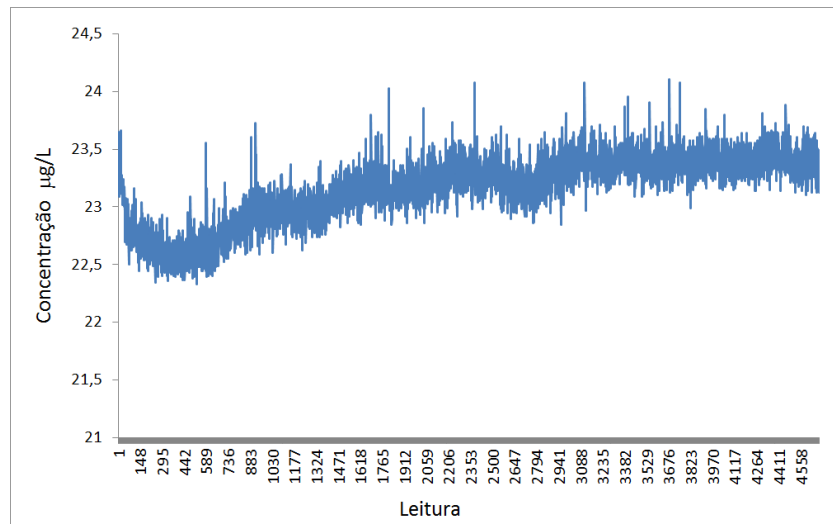
Realizando a contagem dos organismos-teste na amostra, a no mínimo a cada 24 horas, observou-se que a mortalidade de 50% dos organismos ocorreram próximo às 48 horas iniciais do teste, mantendo-se os outros 50% vivos até o final das 96 horas, como pode ser observado na Tabela 10 abaixo:

**Tabela 10.** Cinética da Toxicidade Aguda de HPA.

Montagem - 07/05/2013 às 15:30		
Total de Organismos expostos: 10 por amostra		
Concentração (%)	Nº de Organismos Vivos	Data e Hora da Contagem
1,52 I	9	08/05/2013 às 15:30
1,52 II	7	
1,52 III	7	
1,52 I	6	09/05/2013 às 09:00
1,52 II	5	
1,52 III	6	
1,52 I	5	09/05/2013 às 14:00
1,52 II	5	
1,52 III	5	
1,52 I	5	09/05/2013 às 16:50
1,52 II	5	
1,52 III	5	
1,52 I	5	10/05/2013 às 14:00
1,52 II	5	
1,52 III	5	
1,52 I	5	11/05/2013 às 14:40
1,52 II	5	

1,52 III	5
----------	---

A partir da localização aproximada da cinética da  $CL_{50(96\text{horas})}$ , elaborou-se um gráfico com a concentração de HPA na amostra (Figura 10).



**Figura 10.** Gráfico da concentração de HPA na  $CL_{50(96\text{horas})}$  (1,52%).

A concentração do HPA na  $CL_{5(96\text{horas})}$  não sofreu grandes alterações no decorrer das 96 horas.

Quando as porções de HPA na amostra alcançaram valores mais elevados, o processo de evaporação ocorreu de forma mais rápida. A partir de uma certa concentração de HPA, a amostra se estabiliza, mantendo valores aproximados em todas as 96 horas de teste.

Todas as concentrações foram realizadas em triplicatas, e o mesmo teste foi repetido três vezes para então confirmação dos dados.

Com a realização de testes com variados organismos, revela-se o *Mysidopsis almyra* e o poliqueta *Ceratitis capitata* serem mais sensíveis a hidrocarbonetos de petróleo afetados a baixas concentrações. Ambos invertebrados foram afetados pelas misturas óleo-água do mar em concentrações baixas. Estes resultados sugerem a informação de toxicidade de produtos petrolíferos para qualquer uma destas espécies indicadoras, demonstrando em geral, as concentrações letais de todas as espécies. Para o *Mysidopsis almyra*, em 48 horas de teste atingiu-se uma  $CL_{50(96\text{horas})}$  de 0,9 ppm (ANDERSON et al., 1976).

Para o organismo-teste *Mysidopsis juniae* a  $CL_{50(96\text{horas})}$  foi localizada em 48 horas de teste, mesmo período de tempo ao localizado no trabalho de Anderson e colaboradores (1976). Porém, com uma concentração de HPA de aproximadamente 0,023 ppm, valor menor se comparado às concentrações de Hidrocarbonetos de Petróleo necessárias para a localização da  $CL_{50(96\text{horas})}$  por Anderson e colaboradores (1976). Vale ressaltar esses mesmos autores realizaram os testes com medições de Hidrocarbonetos Totais de Petróleo, e o teste realizado com o organismo-teste *Mysidopsis juniae* realizou medições somente com HPA.

## 6. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

Com a realização deste estudo observou-se a importância dos ensaios de toxicidade, utilizando HPA como marcador de poluição por petróleo, especialmente em acidentes ambientais devido ao tempo de resposta necessário nesses eventos.

A concentração letal para 50% dos organismos estudados, de 0,023 ppm foi encontrada em torno de 48 horas, tempo que dependendo do tamanho do acidente pode ser despendido com eficácia no sentido de se ter um maior controle dos efeitos tóxicos dessa ocorrência.

Cabe ressaltar que testes agudos como os realizados neste trabalho são utilizados para analisar respostas rápidas que os organismos possuem quando expostos a determinado estímulo/substância. Porém, há substâncias que são bioacumuladoras, passando de geração em geração, não tendo um efeito pontual, mas atingindo gravemente gerações futuras, afetando assim o meio como um todo. Para análise destes efeitos, são necessários testes crônicos, que não foram alvo deste estudo.

Como recomendações, sugere-se que para trabalhos de toxicologia de HPAs sejam realizadas análises químicas da amostra, determinando as concentrações no mínimo dos 16 HPAs mais estudados e analisados, podendo-se utilizar como marcador não somente os HPAs como um todo, mais sim seu componente principal no momento da  $CL_{50(96horas)}$ , não sendo necessários estes estudos para levantamentos expeditos.

Recomenda-se, também, uma maior quantidade de testes agudos para maior confiabilidade das informações, utilizando números aproximados da  $CL_{50(96horas)}$  e suas respectivas concentrações de HPA empregando-se de métodos estatísticos mais aprofundados, bem como softwares que vinculem a  $CL_{50(96horas)}$ , a concentração e o tempo de resposta ao acidente.

Assim, este trabalho torna-se um ponto inicial para o desenvolvimento de tecnologia ambiental que vem ao encontro das necessidades do país, em função da crescente demanda do setor petrolífero.



## 7. REFERÊNCIAS

ABNT/9898 – **Preservação e técnicas de Amostragem de Efluentes Líquidos e Corpos receptores**. NBR 9898/87. 1987. 34 p.

ABNT/10004 - **Resíduos Sólidos – Classificação** – NBR 10.004 Rio de Janeiro, RJ. 1987.

ABNT/12648 - **Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica – Método de ensaio com algas (*Chlorophyceae*)**. NBR 12.648 Rio de Janeiro, RJ. 1992.

ABNT/12713 – **Ensaio de Toxicidade aguda com cladocera (Crustacea, Branchiopoda)**. NBR 12.648. 1993.

ABNT/15088 – **Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade Aguda – Métodos de ensaio com peixe**. NBR 12.713. 2004.

ABNT/15308. **Ecotoxicologia Aquática – toxicidade aguda – Método de ensaio com Misidácea (Crustacea)**. NBR 15.308. 2011.

ANDERSON, J. W.; COX, B. A.; TATEM, H. E. **The Toxicity of Oils and Petroleum Hydrocarbons to Estuarine Crustaceans**. Estuarine and Coastal Marine Science pag. 6, 365-373. 1978.

ANTAQ (Agência Nacional de Transportes Aquaviários) – **Contingências Portuárias** – Série Cartilhas Ambientais. Brasília, DF. 2012.

ANP (Agência Nacional do Petróleo) – **Anuário Estatístico de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis 2011**. Brasília, DF. 2011.

API – AMERICAN PETROLEUM INSTITUTE. **Fate of Spilled Oil in Marine Waters: Where does it go? What does it do? How to Dispersants Affect it?** In: API Publication Number 4691, USA. 1999.

ARAGÃO, J. S.; CASTRO, C. B.; COSTA-LOTUFO, L. V. **Toxicidade do metabissulfito de sódio em *Mysidopsis juniae***. Arq. Ciências do Mar, Fortaleza, CE. 2008. 41(1): 24-29.

ARAGÃO, M. A.; ARAÚJO, R. P. A. **Métodos de Ensaio de Toxicidade com Organismos Aquáticos**. p. 117-152. In: ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. [Eds]. Ecotoxicologia Aquática: Princípios e Aplicações. São Carlos: Editora Rima. 2006.

ARAÚJO, M. M. S.; NASCIMENTO, A. **Testes Ecotoxicológicos Marinhos: Análise de Sensibilidade**. Ecotoxicology and Environmental Restoration. 1999. 2(1): 41-42.

AZEVEDO, L.A.C. **Determinação de hidrocarbonetos em amostras de água e mexilhões da Baía de Guanabara**. Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química da Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, RJ. 1998. pp. 103.

BAINY, A. C. D. **How to evaluate the safety of chemical substances in aquatic environments?** Ciência e Cultura, v. 45. 1993. p. 10-11.

BARBIERI, E. **Emprego De *Poecilia Vivipara* (Cyprinodontiformes) E *Artemia Salina* (Crustacea) Para Determinar A Toxicidade Aguda Da Água De Produção De Petróleo Em Sergipe, Brasil**. Instituto de Pesca – SAASP. Universidade Federal de Sergipe. São Cristóvão – SE. 2004.

BARRON, M. G.; PODRABSKY, T.; OGLE, S.; RICKER, R. W. **Are aromatic hydrocarbons the primary determinant of petroleum toxicity to aquatic organisms?** Aquatic Toxicology pag. 46 - 253–268. 1999.

BENGTSSON, G.; ZERHOUNI, P. **Effects of Carbon Substrate Enrichment and DOC Concentration on Biodegradation of PAHs in Soil**. Journal Appl. Microbiol. Elsevier. n.94. 2003. p.608–617.

BENLAHCEN, K. T.; et al.,. **Distribution and Sources of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Some Mediterranean Coastal Sediments.** Marine Pollution Bulletin. v.34, n.5. 1997. p. 298-305.

BÍCEGO, M. C. **Alguns aspectos sobre a degradação fotoquímica e a deterioração de hidrocarbonetos do petróleo no ambiente marinho.** Tese (Doutorado) – Instituto de Química da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP. 1996.

BISPO, A.; JOURDAIN, M. J.; FAREED, K. H. **Toxicity and Genotoxicity of Industrial Soil Polluted by Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (HPA).** Organic Geochemistry. n.30. 1999. p.947-952.

BÖHM, R. F. S. **Avaliação da qualidade da água com a aplicação de teste de reprodução com *Mysidopsis juniae* a amostras de água da Foz do Rio Cachoeira – Baía da Babitonga/SC.** Trabalho de Conclusão de curso. Universidade da Região de Joinville - UNIVILLE . Joinville, SC. 2008

BÖHM, R. F. S. **Teste de Toxicidade Crônica com *Mysidopsis juniae* utilizando como amostra água da região de Maricultura, da Praia do Capri – Baía da Babitonga/SC.** Dissertação de Mestrado. Universidade da Região de Joinville – UNIVILLE. 2010.

BOONYATUMANOND, R.; et al.,. **Distribution and origins of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in riverine estuarine, and marine sediments in Thailand.** Marine Pollution Bulletin, v. 52, n. 8. 2006. p. 942-956.

BUIKEMA, A. L.; VOSHELL, J. R. **Toxicity studies using freshwater benthic macroinvertebrates.** P. 344-398. In: ROSENBERG, D. M.; RESH, V. H. [Eds]. Freshwater Biomonitoring and Benthic Macroinvertebrates. New York: Chapman & Hall. 1993.

CELINO, J. J. **Fonte e grau da contaminação por Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) de baixa massa molecular em sedimentos da Baía de Todos os Santos, Bahia.** REM: R. Esc. Minas, Ouro Preto, MG. 59 (3):265-270, jul. set. 2006.

CETESB. **Água do Mar – Teste de toxicidade aguda com *Artemia salina*.** Norma CETESB. L05.021/1987. São Paulo. SP. 1987.

CETESB. **Contaminantes na Bacia do rio Cubatão e seus Reflexos na Biota Aquática.** Relatório Técnico. São Paulo: Companhia Ambiental do Estado de São Paulo, SP. Norma CETESB. 1990. p. 81.

CETESB. **Água do Mar - Teste de toxicidade aguda com *Mysidopsis juniae* Silva, 1979.** Norma CETESB L25.251. São Paulo, SP. 1992.

CETESB. **Plano Estadual de Recursos Hídricos.** Lei nº 7.663/1991. São Paulo, SP. 1994.

CONAMA/357 – **Resolução** nº 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Alterada pela Resolução 410/2009 e pela 430/2011.

CONNELL, D. W.; et al.,. **Occurrence of Persistent Organic Contaminants and Related Substances in Hong Kong Marine Areas: an Overview.** Marine Pollution Bulletin. v.36, n.5. 1998. p.376-384.

DA COSTA, A. O. **Poluição por óleo na Baía de Guanabara: o caso do complexo industrial REDUC-DTSE.** Tese de mestrado apresentada a Coordenação dos Programas de Pós-Graduação de Engenharia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, pp 156, 2003.

DECRETO LEGISLATIVO Nº 43, DE 29 DE MAIO DE 1998. Aprova o Texto da Convenção Internacional Sobre Preparo, Resposta e Cooperação em Caso de Poluição por Oleo, 1990, Concluída em Londres, em 30 de Novembro de 1990.

DECRETO Nº 2870, DE 10 DE DEZEMBRO DE 1998. Promulga a Convenção Internacional sobre Preparo, Resposta e Cooperação em Caso de Poluição por Óleo, assinada em Londres, em 30 de novembro de 1990.

DENZIN, N. K.; LINCOLN, Y. S. **Handbook of qualitative Research**. Thousand Oaks: Sage. 2005.

EATON, J. G.; McKIM, J. M.; HOLCOMBRE, G. W.; **Metal toxicity to embryos and larvae of seven freshwater fish species. I. Cadmium**. *Bulletins Environmental Contaminates Toxicology*, v.19. 1978. p.95-103.

ENVIRONMENT CANADA. **Guidance document on control of toxicity test precision using reference toxicants**. Reports EPS 1/RM12, Agosto, 1990.

EPA - ENVIRONMENT PROTECTION AGENCY. **Quality criteria for water. EPA 440/5-86-001**. US Environmental Protection Agency, Washington, DC. 1986.

ESPÍNDOLA, E. L. G.; BRIGANTE, J.; DORNFELD, C. B. **Estudo ecotoxicológicos no Rio Mogi-Guaçu** In: *Limnologia fluvial um estudo no Rio Mogi-Guaçu*. 2003.

EVANS, M.; BATHELT, R.; RICE, C. **PCBs and other toxicants in *Mysis relicta***. *Hydrobiol.* 1982. p. 205-215.

FAIRBROTHER, A., et al. **Methods in Environmental Toxicology** (4th ed.). Philadelphia: Taylor & Francis. 2001.

FATMA. **PORTARIA Nº 017/02** – DE 18/04/2002. Estabelece os limites máximos de toxicidade aguda para efluentes de diferentes origens e dá outras providências. 2002.

FEPAM – Fundação Estadual de Proteção Ambiental. **Portaria Nº 016/2010, de 20 de Abril de 2010**. Rio Grande do Sul – RS.

FERREIRA, G. C. **Estudo dos mercados produtor e consumidor de areia industrial no Estado de São Paulo**. Rio Claro: Instituto de Geociências e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista. Tese de doutorado em Geociências. 1995. p. 142. P

FRANZEN, M. R.; TRUMBORE, D. C. **Reduction of asphalt fumes in roofing kettles**, *Environment Science Technology*. 34(12), 2582-2586. 2000.

GAMA, A. M. S.; MONTÚ, M. A.; D'ÍNCAO, F. D. **Ciclo de Mudase taxas de crescimento de *Metmysidopsis elongata atlântica* (Crustácea, Mysidaceae) cultivado em diferentes temperaturas e salinidades**. *Zoologia*. Porto Alegre, RS. 2009. p. 67-70.

GARCIA, K.; La ROVERE, E. L.; SOUZA Jr, A. B. **Inclusion of Environmental Risk Assessment with Strategic Environmental Assessment (SEA), as a Way to Ensure Biodiversity Conservation in Brazilian Offshore Oil and Gas Exploration & Production (E&P) Areas**. Artigo apresentado na IAIA SEA Prague conference – International experience and perspective in SEA, September, 2005. p. 26-30.

GONÇALVES, R. A. **Estudo da toxicidade aguda de nanopartículas de óxido de cobre ao organismo marinho *Mysidopsis juniae***. (Trabalho de conclusão de curso). Ciências Biológicas – UNIVILLE. Joinville – SC. 2011.

GUILLEN, M.D.; SOPELANA, P. **Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Diverse Food**. In: J.P.F. D'Mello Editor. *Food Safety: Contaminants and Toxins*. 2003.

GÜNTHER, H. **Pesquisa qualitativa versus pesquisa quantitativa: esta é a questão?** *Psicologia: Teoria e Pesquisa*, 22, 201-209. 2006.

HALL, M.; et al.,. **Relative contribution of various forms of cytochrome P450 to the metabolism of benzo[a]pyrene by human liver microsomes.** *Carcinogenesis*, Ed. 10. 1989. p. 1815-1821.

HALLARE, A. V.; et al.,. **Comparative embryotoxicity and proteotoxicity of three carrier solvents to zebrafish (*Danio rerio*) embryos** *Ecotoxicology and Environmental Safety* , v.63. 2006. p.378-388.

HOUK, V.S. The genotoxicity of industrial wastes and effluents - a review. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 277, p. 91-138, 1992.

HWANG, S.; CUTRIGHT, T.J. **Biodegradability of aged pyrene and phenanthrene in a natural soil.** *Chemosphere*. 2002. p. 891-899.

IHARA, P. M. **Aplicação De Ensaio Ecotoxicológicos Com Diferentes Organismos-Teste Na Determinação Da Toxicidade Da Água Produzida.** Dissertação de Mestrado em Oceanografia Física, Química e Geológica. Universidade Federal do Rio Grande. Rio Grande do Sul – RS. 2008.

IMO – INTERNATIONAL MARITIME ORGANIZATION - **Petroleum in the Marine Environment. Document MEPC 30/INF. 13.** Submetido à IMO pelos EUA na 30ª seção do Comitê de Proteção ao Ambiente Marinho (MEPC). Londres, 19 de Setembro de 1990. p. 45.

IMO. International Maritime Organization. **Maritime Labour Convention (MLC).** 2006

IPIECA. **Directrices sobre las consecuencias biológicas de la contaminación por hidrocarburos.** Repertório de Informes IPIECA, vol 1. International Petroleum industry Environmental Conservation Association. Londres, Reino Unido. 1991.

IQ/UNESP – **Gerenciamento de Resíduos Químicos Normas Gerais** – Revisão 2002.

ISCAN, 2004 in FURLAN JÚNIOR, O. 2006, **Distribuição de Hidrocarbonetos Policíclicos - Comparação entre Metodologias de Extração e Avaliação do Impacto Ambiental**. Tese de M.Sc, Programa de Pós-graduação em Química/FURB, Blumenau, SC, Brasil.

ITOPF. **The International Tanker Owners Pollution Federation**. Response to marine oil spills. London: Witherby, 1987

JACQUES, R. J. S.; et al., **Biorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos aromáticos policíclicos**. Ciências Rurais. Santa Maria. v. 37. n. 4. 2007. p. 1192-1201.

JUHASZ, A.L.; NAIDU, R. **Bioremediation of High Molecular Weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: a Review of the Microbial Degradation of benzo[a]pyrene**. Int. Biodet. Biodeg. n.45. 2000. p.57–88.

JÚNIOR, O. F. **Distribuição de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em solos na região da serra catarinense comparação entre metodologias de extração e avaliação do impacto ambiental**. Dissertação de Mestrado. Universidade Regional de Blumenau- FURB. Blumenau, 2006.

KAIPPER, B. I. A.; CORSEUIL, H. X.; **Aumento da solubilidade de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos em águas subterrâneas contaminadas com óleo diesel**. 21º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. Joinville – Santa Catarina. 2002.

KENNISH, M.J. **Practical handbook of estuarine and marine pollution**. CRC Press, Inc. Boca Raton, FL. 524p. 1996.

KENNISH, M.J. **Pollution impacts on marine biotic communities**. CRC Press LLC, Boca Raton, FL. 310p. 1997.



KJERFVE, B.; RIBEIRO, CHA; DIAS, GTM; FILIPPO, AM E QUARESMA, VS. **Característica Oceanográfico de uma baía costeira impactada: Baía de Guanabara**, Rio de Janeiro, Brasil. *Contin. Prateleira Res.* , 17 , 1609-1643. 1996.

KLEINE, T. *et al.* **Otimização de parâmetros físico-químicos para o cultivo de *Mysidopsis juniae* (Silva, 1979) em laboratório** In: XI Congresso Brasileiro de Ecotoxicologia, Bombinhas. 2010

KNIE, J. L. W.; LOPES, E. W. B. **Testes ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações.** Florianópolis: FATMA/GTZ. 2004.

KRAUSS, M.; et al,. **Atmospheric versus biological sources of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in a tropical rain forest** *Environmental Pollution*. 2005.

KULKAMP, M. S.; KAIPPER, B. I. A.; CORSEUIL, H. X.; **Influência do etanol na atenuação natural de hidrocarbonetos de petróleo em um aquífero contaminado com uma mistura de diesel e etanol.** 22° Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. Joinville – Santa Catarina. 2003.

LATIMER, J. S.; ZHENG, J. 2003. **The sources transport, and fate of PAHs in the marine environment.** In: PAHS: An ecotoxicological perspective. John Wiley & Sons. Ltd. 2002. p. 9-33 389.

LEMIÉRE, S.; et al,. **Genotoxic and CYP 1A enzyme effects consecutive to the food transfer of oil spill contaminants from mussels to mammals.** *Aquatic Living Resources*, v. 17. 2004. p.303-307.

LESSA, C. **O pré-sal e o enigmático futuro brasileiro.** *Jornal Valor Econômico*. Rio de Janeiro, RJ. março. 2008.

LIMA/COPE/UFRJ. **Avaliação Ambiental Estratégica para o setor de Petróleo e Gás Natural no Sul da Bahia.** Rio de Janeiro – RJ. 2003.

LUCKENBACH, T.; et al,. **Fish early stage tests as a tool to assess embryotoxic potentials in small streams.** Journal of Aquatic Ecosystem Stress, v.8. 2001. p.355-370.

MAGALHÃES, D. P.; FERRÃO-FILHO, A. S. **A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos.** Oecol. Bras., 2008. p. 355-381.

MANTIS, J.; CHALOULAKOU, A.; SAMARA, C. **PM10-bound polycyclic hydrocarbons (PAHs) in the greater area of Athens, Greece.** Chemosphere, v. 59. 2005. p. 593-604.

MARKING, L. L. **Toxicity of chemical mixtures.** In: RAND, G. M. & PETROCELLI, S. R. Fundamentals of aquatic toxicology: methods and application. Hemisphere, New York, NY. 1985. p.58.

MARPOL 73/78. Convenção Internacional para prevenção da poluição por navios. **Protocolo de 1978** relativo à convenção internacional para a prevenção da poluição por navios. 1973.

MASUTTI, M. B.; et al,. **Sensibilidade a Cobre e Cromo por *Oreochromis niloticus* e *Pistia stratiotes*.** Jour. Braz. Soc. Ecotoxicol., v. 1, 2006.

MAUCLINE, J. **The predation os mysids by fich os the Rockall Trough northeastern Atlantic Ocean.** Hydrobiologia. 1982.

McKIM, J. M. **Evaluation of tests with early life stages of fish for predicting long-term toxicity.** Journal of Fish Resource Board, v.34. 1977. p.1148-1154.

MEDEIROS, P. M.; BÍCEGO, M. C. Investigation of natural and anthropogenic hydrocarbon inputs in sediments using geochemical markers I. Santos – SP – Brazil. Marine Pollution Bulletin, v. 49. 2004. n. 09-10.

MEIRE, R.O. **Avaliação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em áreas de proteção permanente – sudeste brasileiro.** Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho. 2007.

MEYERS, T.R; HENDRICKS, J.D. **Histopatholgy.** In: RAND G.M.; PETROCELLI, S.R. (Ed.) Fundamentals of aquatic toxicology: methods and applications. Washington, D.C.: Hemisphere Publishing Corporation. 1985. p.283-331.

MURANO, M. **Mysidacea.** South Atlantic Zooplankton. 1999. p. 1099-1110.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL CANADA. 2003-2004. Annual Report. Also available in eletronic format at: <http://nrc-cnrc.gc.ca>.

NEFF, J.M. Bioaccumulation of organic micropollutants from sediments and suspended particulates by aquatic animals. Fresenius Journal of Analytical Chemistry, 319. 1984. p. 132-136.

NETTO, A. D. P.; et al,. **Avaliação da contaminação humana por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (hpas) e seus derivados nitrados (nhpas): uma revisão metodológica.** Química Nova, v. 23. 2000. p. 6.

NISHIGIMA, F. N. **Hidrocarbonetos Policíclicos aromáticos (PAHs) – Determinação do Balanço de massa na atmosfera, água e sedimentos no estuário de Santos, SP, Brasil.** Tese (Doutorado) – Insituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, São Paulo. 2004.

OGA, S. **Fundamentos de toxicologia.** 2. Ed. São Paulo: Atheneu. 2003. p. 474.

OLIVEIRA, T. M. N. de. et al.,. **Integridade Ambiental da Baía da Babitonga: Características físico-químicas, microbiológicas e ecotoxicidade.** p.49-60. In: CREMER, M. J. *et al.* [Eds]. **Diagnóstico Ambiental da Baía da Babitonga.** Joinville, SC: UNIVILLE. 2006.

OLLIVON, D.; BLANCHARD, M.; GARBAN, B. **PAH Flutuations in Rivers in the Paris Regions (France); Impacts of Flood and Rainy Events.** **Water, Air and Soil Pollution.** França. n.115. 1998. p.429-444.

PAGE, D.S.; et al.,. **Pyrogenic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in sediments record past human activity: A case study in Prince William Sound, Alaska.** *Marine Pollution Bulletin*, v. 38. 1999. p. 247-266.

PARK, J. S.; WADE, T. L.; SWEET, S. **Atmospheric distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons and deposition to Galveston Bay, Texas, USA.** *Atmospheric environment*, v. 35. 2001. p. 3241-3249.

PASCHOALINO, M. P.; MARCONE, G. P. S.; JARDIM, W. F. **Os nanomateriais e as questões ambientais.** Instituto de Química. Universidade Estadual de Campinas. Campinas – SP. 2010.

PERROW, C. **Normal accidents: living with high-risk technologies.** Basic Books. 1984.

PEREIRA, R. C.; SOARES-GOMES, A. (Org.). **Biologia Marinha.** Rio de Janeiro: Interciência. 2002. p.382.

PETROBRAS. Site: [www.petrobras.com.br](http://www.petrobras.com.br). Acesso em 24/07/2012.

POLAKIEWICZ, L. **Estudo de Hidrocarbonetos Policíclicos aromáticos nos estuários de Santos e São Vicente – SP utilizando diatomito como material absorvente.** Dissertação de Mestrado do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN “Autarquia Associada à Universidade de São Paulo”. São Paulo, SP. 2008.

POLAKIEWICZ, L.; et al., **Estudo de HPA no Estuário de São Vicente – SP, Brasil utilizando um amostrador cerâmico.** VI Simpósio de Engenharia Ambiental. Serra Negra – SP. 2008.

POTIN, O.; et al. **Bioremediation of na aged polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)-contaminated soil by filamentous fungi isolated from the soil.** International Biodeterioration and Biodegradation. Oxford. v. 54, n. 1. 2004. p. 45-52.

PRIMACK, R. B.; RODRIGUES, E. **Biologia da conservação.** Editora Planta. Londrina – PR. 2001.

PRÓSPERI, V. A.; NASCIMENTO, I. A. **Avaliação ecotoxicológica de ambientes marinhos e estuarinos.** In: ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. (Ed.). Ecotoxicologia Aquática: Princípios e Aplicações. São Carlos – SP.: RIMA Editora. 2006. p. 269-346.

RAND, G. M.; PETROCELLI, S. R. **Fundamentals of aquatic toxicology.** Washington. 665p. 1985.

ROMANELLI, M. F. **Avaliação da toxicidade aguda e crônica dos surfactantes DSS e LAS submetidos à irradiação com feixe de elétrons.** São Paulo. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Pesquisa Energéticas e nucleares (USP). 2004.

ROSENTHAL, H.; ALDERDICE, D. F. **Sublethal effects of environmental stressors, natural and pollution, on marine fish eggs and larvae.** Journal of Fish Resource Board, v.33. 1976. p.2047-2065.

RUBINGER, C. F. **Seleção de Métodos Biológicos para a Avaliação Toxicológica de Efluentes Industriais.** Programa de Pós-graduação em Saneamento Meio Ambiente e Recursos Hídricos. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, MG. 2009.

RUPPERT, E. B.; BARNES, R. D. **Zoologia dos invertebrados: Uma abordagem funcional evolutiva**. São Paulo: ROCA. p. 759-761. 2005.

RUSSELL, W. M. S., BURCH, R. L. **The principles of humane experimental technique**. London, Methuen. 1959.

SAMANTA, S. K.; SINGH, O. V.; JAIN, R. K. **Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Environmental Pollution and Bioremediation**. Trends in Biotechnology. n.20. 2002. p.243– 248.

SAYES, C. M.; et al,. **The differential cytotoxicity of water soluble fullerenes**. Nano Lett. 2004.

SEATON, A.; et al,. **Cytotoxicity of water soluble fullerenes**. Nano Lett. A, 2004. p.1881-1887.

SILVA, V. ***Mysidopsis junia*, nova espécie de Crustacea – Mysidacea**. Avulso do Departamento de Zoologia da Universidade do Rio de Janeiro, nº30. 1979.

SKIDMORE, J. F. **Resistance to zinc sulphate of the zebrafish at different phases of its history**. Annual Applied Biology, v.56, 1965. p.47-53.

STOUT, S.A.; UHLER, A.D.; EMSBO-MATTINGLY, S.D. **Comparative Evaluation of Background Anthropogenic Hydrocarbons in Surficial Sediments from Nine Urban Waterway**. Environmental Science and Technology. n.38. 2004. p.2987–2994.

The Royal Society & The Royal Academy of Engineering. Nanoscience and nanotechnologies:opportunities and uncertainties.Londres, 2004.

TISSOT, B.P; WELTER, D.H. **Petroleum formation and occurrence**, Ed. 2.. Springer-Verlag, New York, NY. 1984.

Tribuna do Norte. **Com novo poço da Bacia de Campos, Petrobras bate recorde mundial.** Publicação: 21/03/2009.

TRUHAUT, R. **Ecotoxicology: objectives principles and environmental safety**, 1:151-133. 1977. apud ZAGATTO, P. A. Ecotoxicologia in: ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. [Eds]. Ecotoxicologia Aquática: Princípios e Aplicações. São Carlos: Rima. 2006.

VASCONCELLOS, P. C.; et al,. **Measurements of polycyclic aromatic hydrocarbons in airborne particles from the metropolitan area of São Paulo City, Brazil.** Atmospheric Environment, v. 37. 2003. p. 3009-3018.

WANIA, F.; MACKAY, D. T. **Tracking the Distribution of Persistent Organic Pollutants.** Environment Science Technology. n.30,1996. p.390–396.

WEBER, R. R. **Sistemas costeiros e oceânicos.** Química Nova, v. 15. 1992. p. 137-143.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, Polynuclear Aromatic Compounds**, Part 1, chemical environmental and experimental data, 32. International Agency for Research on Cancer, World Health Organization. 1983. P. 477.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Selected Non-Heterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons.** IPCS (International Programme on Chemical Safety). Geneva. 1988

YIM, U. H.; et al,.. **Spatio-temporal distribution and characteristics of PAHs in sediments from Masan Bay, Korea.** Marine Pollution Bulletin, v.50, n. 3. 2005. p.319-326.

YUNKER, M. B.; et al,. **PAHs in the Fraser river basin: a critical appraisal of PAH ratios as indicators of PAH source and composition.** Organic Geochemistry. v.33. 2002. p.489-515.

ZAGATTO, P. A. **Ecotoxicologia**. *in*: ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. [Eds]. Ecotoxicologia Aquática: Princípios e Aplicações. São Carlos: Editora Rima, 1:1-13. 2006.

ZAKARIA, M.P.; et al.,. **Distribution of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Rivers and Estuaries in Malaysia: A widespread Input of Petrogenic PAHs**. Environmental Science and Technology. n.36. 2002. p.1907–1918.

ZIOLLI, R. L.; JARDIM, W. F. de. **Ensaio de toxicidade na avaliação da qualidade das águas**. Engenharia Sanitária e Ambiental. v.3, n. 1-2. 1998. p. 10-14.



## 8. ANEXOS

### **Anexo 1.** Ofício de solicitação de amostra de petróleo.

OFÍCIO N.05 06/2012

Joinville, 29 de Junho de 2012

Prezado Senhor,

Considerando o desenvolvimento de uma dissertação mestrado em Saúde e Meio Ambiente por mim orientada, que tem como objetivo determinar a cinética da toxicidade da fração solúvel do petróleo em água do mar, como contribuição para ações mais rápidas e eficazes em casos de derrames oriundos de acidentes, pois poderemos identificar em quanto tempo e em que concentração a fração solúvel começará a se tornar tóxica do ponto de vista da legislação, venho, respeitosamente solicitar a esta renomada empresa, se possível, a doação de 2 litros de petróleo com origem identificada, pois só poderemos nesse protótipo fazer inferências sobre o material analisado.

Acredito que os resultados obtidos com a pesquisa serão de grande valia para vossa companhia, e desde já me disponibilizo para fornecer mais detalhes do projeto, caso desejem.

Certa de sua atenção,

Profa. Dra. Therezinha Maria Novais de Oliveira

Pró-Reitora de Pesquisa e Pós-Graduação da UNIVILLE

Coordenadora do Projeto Toxicidade de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos - HPATOX

Ao Eng. Gilmar Ventura

Transpetro

Anexo 2. Ficha de Informação de Produto Químico – FISPQ, cedida pela Petrobrás.



## Ficha de Informação de Segurança de Produto Químico - FISPQ

PRODUTO: PETRÓLEO

Página 1 de 13

Data: 08/11/2010

Nº FISPQ: Pb0113\_p

Versão: 0.4P

Anula e substitui versão: Todas as anteriores

### 1 - IDENTIFICAÇÃO DO PRODUTO E DA EMPRESA

**Nome do produto:** PETRÓLEO

**Código interno de identificação:** Pb0113\_p

**Nome da empresa:** Petróleo Brasileiro S. A.

**Endereço:** Avenida Chile, 65  
20035-900 Rio de Janeiro (RJ) Brasil

**Telefone:** 0800-78-9001

### 2 - IDENTIFICAÇÃO DE PERIGOS

**PERIGOS MAIS IMPORTANTES** Líquido e vapores altamente inflamáveis. Nocivo se inalado. Causa irritação moderada à pele. Causa irritação ocular. Suspeito de causar defeitos genéticos. Suspeito de causar câncer. Pode causar irritação respiratória (irritação da área respiratória). Pode causar sonolência e vertigem (efeitos narcóticos). Causa dano aos pulmões e a pele através da exposição repetida ou prolongada. Pode ser mortal em caso de ingestão e por penetração das vias respiratórias. Este produto pode conter gás sulfídrico, extremamente tóxico e inflamável.

#### EFEITOS DO PRODUTO

**- Efeitos adversos à saúde humana:** Irritante aos olhos e à pele. Pode causar irritação do trato respiratório superior. Pode causar efeitos no sistema nervoso central (SNC). Pode causar distúrbios gastrointestinais. Suspeito de causar câncer e defeitos genéticos. Pode ser fatal se ingerido e por penetração nas vias respiratórias. Pode causar pneumonia química se aspirado.

**- Efeitos ambientais:** O produto pode ser perigoso para o meio ambiente em caso de grandes derramamentos.

**- Perigos físicos e químicos:** Líquido e vapores altamente inflamáveis.

**Perigos específicos:** Produto altamente inflamável. Recipientes podem explodir quando aquecidos. Quando aquecido pode liberar vapores tóxicos e irritantes.



## Ficha de Informação de Segurança de Produto Químico - FISPQ

PRODUTO: PETRÓLEO

Página 2 de 13

Data: 08/11/2010

Nº FISPQ: Pb0113\_p

Versão: 0.4P

Anula e substitui versão: Todas as anteriores

- Principais sintomas:** Vermelhidão nos olhos e sensação de queimação. Pele seca e com rachaduras. Irritação do nariz e da garganta. Náusea. Dor de cabeça, tontura, sonolência, embriaguez e perda de consciência.
- Classificação de perigo do produto:** Líquidos inflamáveis – Categoria 1  
Toxicidade aguda – Inalação – Categoria 4  
Corrosivo/irritante à pele – Categoria 3  
Prejuízo sério aos olhos/irritação aos olhos – Categoria 2B  
Mutagenicidade – Categoria 2  
Carcinogenicidade – Categoria 2  
Toxicidade sistêmica ao órgão-alvo após única exposição – Categoria 3  
Toxicidade sistêmica em órgão alvo após exposição repetida – Categoria 1  
Perigo por aspiração – Categoria 1
- Sistema de classificação adotado:** Norma ABNT-NBR 14725-Parte 2:2009.  
Adoção do Sistema Globalmente Harmonizado para a Classificação e Rotulagem de Produtos Químicos, ONU.
- Visão geral das emergências:** LÍQUIDO INFLAMÁVEL E PERIGOSO PARA A SAÚDE HUMANA.

### ELEMENTOS APROPRIADOS DA ROTULAGEM

**- Pictogramas**



**- Palavra de advertência**

PERIGO

**- Frases de perigo:**

Líquido e vapores altamente inflamáveis.  
Nocivo se inalado.  
Causa irritação moderada à pele.  
Causa irritação ocular.



## Ficha de Informação de Segurança de Produto Químico - FISPQ

PRODUTO: PETRÓLEO

Página 3 de 13

Data: 08/11/2010

Nº FISPQ: Pb0113\_p

Versão: 0.4P

Anula e substitui versão: Todas as anteriores

Suspeito de causar defeitos genéticos.

Suspeito de causar câncer.

Pode causar irritação respiratória (irritação da área respiratória).

Pode causar sonolência e vertigem (efeitos narcóticos).

Causa dano aos pulmões e a pele através da exposição repetida ou prolongada.

Pode ser mortal em caso de ingestão e por penetração das vias respiratórias.

### - Frases de precaução:

Mantenha afastado de calor [faíscas] [e chama] [não fume].

Armazene em local fresco/baixa temperatura, em local bem ventilado [seco] [afastado de fontes de calor e de ignição].

Nunca aspire (poeira, vapor ou névoa).

Quando em uso não [fume] [coma] [ou beba].

Não use em local sem ventilação adequada.

Evite contato com olhos e pele.

Use equipamento de proteção individual apropriado.

Se ingerido, lave a boca com água [somente se a vítima estiver consciente].

Em caso de indisposição, consulte um médico.

Use meios de contenção para evitar contaminação ambiental.

Não permita o contato do produto com corpos d'água.

### 3 - COMPOSIÇÃO E INFORMAÇÃO SOBRE OS INGREDIENTES

#### >>> SUBSTÂNCIA DE PETRÓLEO

**Grupo de substância de petróleo:** Petróleo Bruto.

Óleos brutos são compostos por hidrocarbonetos parafínicos, naftênicos (cicloparafínico) e aromáticos. A identificação é baseada na proporção predominante que apresenta similaridade com moléculas de hidrocarbonetos. Esta categoria engloba o petróleo leve, médio e pesado, assim como os óleos extraídos de areias asfálticas.



## Ficha de Informação de Segurança de Produto Químico - FISPQ

PRODUTO: PETRÓLEO Página 4 de 13  
 Data: 08/11/2010 N° FISPQ: Pb0113\_p Versão: 0.4P Anula e substitui versão: Todas as anteriores

**Número de registro CAS:** 8002-05-9

**Impurezas que contribuam para o perigo:** Este produto é uma mistura variável de hidrocarbonetos e pode conter quantidades variáveis de contaminantes orgânicos e inorgânicos.

### 4 - MEDIDAS DE PRIMEIROS SOCORROS

**Inalação:** Remova a vítima para local arejado e mantenha-a em repouso. Monitore a função respiratória. Se a vítima estiver respirando com dificuldade, forneça oxigênio. Se necessário aplique respiração artificial. Procure atenção médica. Leve esta FISPQ.

**Contato com a pele:** Remova as roupas e sapatos contaminados. Lave a pele exposta com grande quantidade de água, por pelo menos 15 minutos. Procure atenção médica. Leve esta FISPQ.

**Contato com os olhos:** Lave com água corrente por pelo menos 15 minutos, mantendo as pálpebras abertas. Retire lentes de contato quando for o caso. Procure atenção médica imediatamente. Leve esta FISPQ.

**Ingestão:** Lave a boca da vítima com água em abundância. NÃO INDUZA O VÔMITO. Procure atenção médica. Leve esta FISPQ.

**Proteção do prestador de socorros e/ou notas para médico:** Evite contato com o produto ao socorrer a vítima. Mantenha a vítima em repouso e aquecida. Não forneça nada pela boca a uma pessoa inconsciente. O tratamento sintomático deve compreender, sobretudo, medidas de suporte como correção de distúrbios hidroeletrólíticos, metabólicos, além de assistência respiratória.

### 5 - MEDIDAS DE COMBATE A INCÊNDIO

**Meios de extinção apropriados:** Produto altamente inflamável. Compatível com pó químico, dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e neblina de água.

**Meios de extinção não recomendados:** Jatos d'água. Água diretamente sobre o líquido em chamas.



## Ficha de Informação de Segurança de Produto Químico - FISPQ

PRODUTO: PETRÓLEO

Página 5 de 13

Data: 08/11/2010

Nº FISPQ: Pb0113\_p

Versão: 0.4P

Anula e substitui versão: Todas as anteriores

<b>Perigos específicos no combate:</b>	Recipientes podem explodir quando aquecidos. Vapores podem formar misturas explosivas em contato com o ar. Risco de explosão em ambientes fechados. Vapores podem formar misturas explosivas com o ar. Resfrie recipientes fechados com água pulverizada. Este produto pode conter gás sulfídrico, extremamente inflamável.
<b>Métodos especiais de combate:</b>	Contêineres e tanques envolvidos no incêndio devem ser resfriados com jatos d'água.
<b>Proteção de bombeiros/brigadistas:</b>	Equipamento de proteção respiratória do tipo autônomo (SCBA) com pressão positiva e vestuário protetor completo.

### 6 - MEDIDAS DE CONTROLE PARA DERRAMAMENTO OU VAZAMENTO

#### Precauções pessoais

- Remoção de fontes de ignição: Produto altamente inflamável. Remova todas as fontes de ignição. Impeça fagulhas ou chamas. Não fume.
- Prevenção da inalação e do contato com a pele, mucosas e olhos: Não toque nos recipientes danificados ou no material derramado sem o uso de vestimentas adequadas. Evite inalação, contato com os olhos e com a pele. Utilize equipamento de proteção individual conforme descrito na Seção 8.

#### Precauções ao meio ambiente:

Evite que o produto derramado atinja cursos d'água e rede de esgotos. Utilize spray d'água para reduzir a concentração de fumos no ar. Utilize sistema de ar forçado para manter as concentrações de gás abaixo da explosiva.

#### Métodos para limpeza

- Procedimentos a serem adotados: Colete o produto derramado e coloque em recipientes próprios. Adsorva o produto remanescente, com areia seca, terra, vermiculite, ou qualquer outro material inerte. Coloque o material adsorvido em recipientes apropriados e remova-os para local seguro.
- Prevenção de perigos secundários: Não descarte diretamente no meio ambiente ou na rede de esgoto. A água de diluição proveniente do combate ao fogo pode causar poluição.



## Ficha de Informação de Segurança de Produto Químico - FISPQ

PRODUTO: PETRÓLEO

Página 6 de 13

Data: 08/11/2010

Nº FISPQ: Pb0113\_p

Versão: 0.4P

Anula e substitui versão: Todas as anteriores

### 7 - MANUSEIO E ARMAZENAMENTO

#### MEDIDAS TÉCNICAS APROPRIADAS PARA O MANUSEIO

- Prevenção da exposição do trabalhador: Evite inalação e o contato com a pele, olhos e roupas. Evite respirar vapores/névoas do produto. Utilize equipamento de proteção individual ao manusear o produto, descritos na Seção 8.
- Precauções e orientações para manuseio seguro: Manuseie o produto somente em locais bem arejados ou com sistemas de ventilação geral/local adequado. Evite formação de vapores ou névoas.
- Medidas de higiene: Não coma, beba ou fume durante o manuseio do produto. Lave bem as mãos antes de comer, beber, fumar ou ir ao banheiro. Roupas contaminadas devem ser trocadas e lavadas antes de sua reutilização.

#### MEDIDAS TÉCNICAS APROPRIADAS PARA O ARMAZENAMENTO

- Apropriadas: Mantenha o produto em local fresco, seco e bem ventilado, distante de fontes de calor e ignição. O local de armazenamento deve conter bacia de contenção para reter o produto, em caso de vazamento. Mantenha os recipientes bem fechados e devidamente identificados. O local de armazenamento deve ter piso impermeável, não oxidante e com dique de contenção para reter em caso de vazamento.
- Inapropriadas: Temperaturas elevadas. Fontes de ignição. Contato com materiais incompatíveis.

#### Materiais seguros para embalagens:

- Recomendadas: Não especificado.

### 8 - CONTROLE DE EXPOSIÇÃO E PROTEÇÃO INDIVIDUAL

#### Parâmetros de controle específicos

- Limites de exposição ocupacional:

Componente	REL – TWA	PEL – TWA	REL – C



## Ficha de Informação de Segurança de Produto Químico - FISPQ

PRODUTO: PETRÓLEO

Página 7 de 13

Data: 08/11/2010

Nº FISPQ: Pb0113\_p

Versão: 0.4P

Anula e substitui versão: Todas as anteriores

	(NIOSH)	(OSHA)	(NIOSH)
	(mg/m <sup>3</sup> )	ppm	(mg/m <sup>3</sup> )
Destilados de petróleo (nafta)	350	500	18000

**Medidas de controle de engenharia:** Promova ventilação combinada com exaustão local, especialmente quando ocorrer formação de vapores/névoas do produto. É recomendado tornar disponíveis chuveiros de emergência e lava olhos na área de trabalho.

### Equipamento de proteção individual apropriado:

- Proteção respiratória: Recomenda-se a utilização de respirador com filtro para vapores orgânicos para exposições médias acima da metade do TLV-TWA. Nos casos em que a exposição exceda 3 vezes o valor TLV-TWA, utilize respirador do tipo autônomo (SCBA) com suprimento de ar, de peça facial inteira, operado em modo de pressão positiva. Siga orientação do Programa de Prevenção Respiratória (PPR), 3ª ed. São Paulo: Fundacentro, 2002.
  - Proteção das mãos: Luvas de proteção de PVC.
  - Proteção dos olhos: Óculos de proteção ou protetor facial contra respingos.
  - Proteção da pele e corpo: Avental de PVC.
- Precauções especiais:** Evite usar lentes de contato enquanto manuseia este produto.

## 9 - PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

- Aspecto: Líquido variável e escuro em temperatura ambiente.
- Odor: Característico.
- pH: Não aplicável.
- Ponto de fusão/ponto de congelamento: Não disponível.
- Ponto de ebulição inicial e faixa de temperatura de ebulição: 32 – 400 °C a 1 atm





## Ficha de Informação de Segurança de Produto Químico - FISPQ

Página 8 de 13

PRODUTO: PETRÓLEO

Data: 08/11/2010

Nº FISPQ: Pb0113\_p

Versão: 0.4P

Anula e substitui versão: Todas as anteriores

Ponto de fulgor:	- 7 °C (vaso fechado)
Taxa de evaporação:	Não disponível.
Inflamabilidade:	Produto altamente inflamável.
Limite inferior/superior de inflamabilidade ou explosividade:	Não disponível.
Pressão de vapor:	Não disponível.
Densidade de vapor:	Não disponível.
Densidade:	0,70 – 0,98 a 15 °C
Solubilidade:	Solúvel em água. Solúvel em solventes orgânicos.
Coefficiente de partição – n-octanol/água:	Não disponível.
Temperatura de auto-ignição:	Não disponível.
Temperatura de decomposição:	Não disponível.
Viscosidade:	Não disponível.

### 10 - ESTABILIDADE E REATIVIDADE

Estabilidade química:	Estável sob condições usuais de manuseio e armazenamento. Não sofre polimerização.
Possibilidade de reações perigosas:	Oxidantes fortes.
Produtos perigosos da decomposição:	Em combustão libera fumos e fumaça.

### 11 - INFORMAÇÕES TOXICOLÓGICAS



## Ficha de Informação de Segurança de Produto Químico - FISPQ

PRODUTO: PETRÓLEO

Página 9 de 13

Data: 08/11/2010

Nº FISPQ: Pb0113\_p

Versão: 0.4P

Anula e substitui versão: Todas as anteriores

### Toxicidade aguda:

Nocivo se inalado. Irritante aos olhos com vermelhidão e sensação de queimação. Irritante à pele com ressecamento e rachaduras. Pode causar irritação do trato respiratório superior com dor de garganta e irritação do nariz. Pode causar distúrbios gastrointestinais com náusea.

Pode causar efeitos no sistema nervoso central (SNC) com dor de cabeça, sonolência, tontura, embriaguez e perda de consciência. Este produto pode conter gás sulfídrico, extremamente tóxico.

DL<sub>50</sub> (oral, ratos): > 4300 mg/kg

CL<sub>50</sub> (inalação, ratos): 2,18 mg/l

### Toxicidade crônica:

Inalação pode causar irritação respiratória crônica da via aérea superior e conjuntivite crônica. Pode causar dermatite, desengorduramento e inflamação folicular após contato prolongado ou repetido com a pele.

### Efeitos específicos:

Carcinogenicidade: Estudo com camundongo resultou em tumores na pele, aplicando-se duas frações de destilados de óleos brutos na pele dos animais.

Não classificado como carcinogênico para humanos (IARC – Grupo 3).

Mutagenicidade: Aumento na frequência de aberrações cromossômicas em linfócitos do sangue periférico dos humanos que receberam a exposição ocupacional.

## 12 - INFORMAÇÕES ECOLÓGICAS

### Efeitos ambientais, comportamentos e impactos do produto

Ecotoxicidade:	Em caso de grandes derramamentos o produto pode ser perigoso para o meio ambiente devido à possível formação de uma película do produto na superfície da água diminuindo os níveis de oxigênio dissolvido.
Persistência e degradabilidade:	É esperada rápida degradação e baixa persistência.
Potencial bioacumulativo:	Não é esperado potencial de bioacumulação em organismos aquáticos.



## Ficha de Informação de Segurança de Produto Químico - FISPQ

Página 10 de 13

PRODUTO: PETRÓLEO

Data: 08/11/2010

Nº FISPQ: Pb0113\_p

Versão: 0.4P

Anula e substitui versão: Todas as anteriores

### 13 - CONSIDERAÇÕES SOBRE TRATAMENTO E DISPOSIÇÃO

#### Métodos recomendados para tratamento e disposição aplicados ao:

- Produto: Evite a exposição ocupacional ou a contaminação ambiental. Recicle qualquer parcela não utilizada do material para seu uso aprovado ou retorná-lo ao fabricante ou ao fornecedor. Outros métodos consultar legislação federal e estadual: Resolução CONAMA 005/1993, NBR 10.004/2004.
- Restos de produtos: Manter restos do produto em suas embalagens originais, fechadas e dentro de tambores metálicos, devidamente fechados, de acordo com a legislação aplicável. O descarte deve ser realizado conforme o estabelecido para o produto, recomendando-se as rotas de processamento em cimenteiras e a incineração.
- Embalagem usada: Nunca reutilize embalagens vazias, pois elas podem conter restos do produto e devem ser mantidas fechadas e encaminhadas para serem destruídas em local apropriado. Neste caso, recomenda-se envio para rotas de recuperação dos tambores ou incineração.

### 14 - INFORMAÇÕES SOBRE O TRANSPORTE

#### Regulamentações nacionais e internacionais

##### Terrestre

Decreto nº. 96.044, de 18 de maio de 1988: Aprova o Regulamento para o Transporte Rodoviário de Produtos Perigosos e dá outras providências.

Agência Nacional de Transportes Terrestres (ANTT): Resoluções Nº. 420/04, 701/04, 1644/06, 2657/08, 2975/08 e 3383/10.

##### Hidroviário

DPC - Diretoria de Portos e Costas (Transporte em águas brasileiras)

Normas de Autoridade Marítima (NORMAM)

NORMAM 01/DPC: Embarcações Empregadas na Navegação em Mar Aberto