

ENSAIO ECOTOXICOLÓGICO COM A AMOSTRA
RP 02 UTILIZANDO *Lytechinus variegatus*
(ECHINODERMATA-ECHINOIDEA)



Av. Carlos Chagas Filho, 791
Pólo Bio-Rio // Laboratório 4
Cidade Universitária // Ilha do Fundão
CEP 21941-904 // Rio de Janeiro // RJ
55 (21) 3867 5651 // 55 (21) 3525 2466
Email: labtox@labtox.com.br
<http://www.labtox.com.br>

SOLICITANTE:

BJ SERVICES DO BRASIL LTDA.
Rua R 1 do 5º Prolongamento do Loteamento, s/nº
Novo Cavalheiros, Macaé, RJ - CEP 27930-375
Tel: (22) 2765-9150

Técnico solicitante: Mardonio Cruz
E-mail: mardonio.cruz@bjservices.com

EXECUTADO POR:

LABTOX – Laboratório de Análise Ambiental Ltda
Av. Carlos Chagas Filho, 791 - Pólo Bio-Rio - Laboratório 4
Cidade Universitária – Ilha do Fundão CEP: 21.941-904
Tel: (21) 3867-5651 / 3525-2466 / 3525-2442
e-mail: labtox@labtox.com.br

Lauda 3997 LVC

Rio de Janeiro

LAUDO DE TOXICIDADE

DADOS DO ENSAIO

Avaliação solicitada: Ensaio embriolarval

Organismo-teste: *Lytechinus variegatus*

Tipo de ensaio: Crônico de curta duração Tempo de exposição: 24 a 28 horas

Resposta do ensaio: Efeito no desenvolvimento embriolarval (retardamento e/ou ocorrência de anomalias)

VALIDADE DO ENSAIO

Desenvolvimento embriolarval no controle: $\geq 80\%$

Sensibilidade do lote de organismos utilizados, à substância de referência, dentro da faixa estabelecida pelo Labtox

Substância de referência: DSS (Dodecil sulfato de sódio)

Faixa de sensibilidade dos organismos: $CI_{50}(I)$: 0,96 – 2,01 mg.L⁻¹ (07/05/2008)

DADOS DA AMOSTRA

Identificação da amostra pelo solicitante: Amostra Rp 02

Data de preparo: 14/05/2008

Código de entrada no Labtox: L399708

Data de entrada: 14/05/2008

Data de início do ensaio: 19/06/2008

Data de término: 20/06/2008

Composição da amostra:	PRODUTO	CONCENTRAÇÃO	UNIDADE
	Salmoura de 18%NaCl	23,90	gal/bbl
	Ultraflush II	0,7	gal/bbl
	Paravan 25 XLB	12	gal/bbl

RESULTADOS
CENO(I) 61 ppm da FPS CEO(I) 122 ppm da FPS. VC(I) 86 ppm da FPS
Controle: 84,25 % de pluteus
Ensaio com DSS (19/06/2008): 1,69 mg.L ⁻¹ (IC: 1,59 – 1,75 mg.L ⁻¹)
FPS: Fração Particulada Suspensa IC: Intervalo de confiança



Av. Carlos Chagas Filho, 791
Pólo Bio-Rio // Laboratório 4
Cidade Universitária // Ilha do Fundão
CEP 21941-904 // Rio de Janeiro // RJ
55 (21) 3867 5851 // 55 (21) 3525 2466
Email: labtox@labtox.com.br
<http://www.labtox.com.br>

1 – OBJETIVO

Este ensaio, realizado em 19 de junho de 2008, teve como objetivo determinar a toxicidade crônica de curta duração da amostra Rp 02, sobre os embriões do ouriço-do-mar *Lytechinus variegatus*.

2 – METODOLOGIA

A determinação da toxicidade crônica em relação à *L. variegatus* seguiu a metodologia descrita em NBR 15.350 (ABNT, 2006), com adaptações. O ensaio consiste na exposição dos ovos a diferentes diluições da FPS, avaliando-se a solução-teste que causa retardamento no desenvolvimento embriolarval e/ou anomalias nos organismos expostos, nas condições de ensaio.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

O valor de CENO(I) (maior concentração nominal da amostra no início do ensaio que não causa efeito significativamente diferente do controle) e CEO(I) (menor concentração nominal da amostra no início do ensaio que causa efeito significativamente diferente do controle) foi obtido através do teste de Williams utilizando-se o programa estatístico TOXSTAT versão 3.3 (Gulley *et al.*, 1991).

Após a obtenção destes valores, foi calculado o VC(I) (valor crônico inicial), que representa a média geométrica de CENO(I) e CEO(I).

PREPARO DA AMOSTRA

A amostra foi mantida em temperatura inferior a 10°C até a realização do ensaio. O preparo da fração particulada suspensa (FPS), na proporção de 1:9, com água do mar, foi realizado segundo a metodologia descrita em NBR 15.469 (ABNT, 2007). A partir da FPS (solução-estoque de 1.000.000 ppm) foram preparadas as seguintes soluções-teste: 30; 61; 122; 244; 488; 976 e 1.953 ppm da FPS.



Av. Carlos Chagas Filho, 791
Pólo Bio-Rio // Laboratório 4
Cidade Universitária // Ilha do Fundão
CEP 21941-904 // Rio de Janeiro // RJ
55 (21) 3867 5851 // 55 (21) 3525 2466
Email: labtox@labtox.com.br
<http://www.labtox.com.br>

RESUMO DAS CONDIÇÕES DE ENSAIO



Av. Carlos Chagas Filho, 791
Pólo Bio-Rio // Laboratório 4
Cidade Universitária // Ilha do Fundão
CEP 21941-904 // Rio de Janeiro // RJ
55 (21) 3867 5851 // 55 (21) 3525 2466
Email: labtox@labtox.com.br
http://www.labtox.com.br

Tipo de ensaio.....	crônico
Temperatura de incubação.....	25 ± 1° C
Fotoperíodo.....	12h luz/12h escuro
Frasco-teste.....	tubos de ensaio
Volume de solução-teste.....	10 mL
Origem dos organismos.....	gametas obtidos de organismos coletados no campo
Nº de organismos / frasco.....	300 ovos
Nº de réplicas / solução-teste.....	04
Nº de soluções-teste.....	7 + 1 controle*
Água de diluição.....	água do mar natural filtrada
Água de diluição:Salinidade: 36 ‰pH: 8,16.....OD: 7,48 mg.L ⁻¹	
Solução-estoque:Salinidade: 45 ‰pH: 6,61.....OD: 8,05 mg.L ⁻¹	
Salinidade das soluções-teste.....	36 ‰
pH das soluções-teste:.....	8,11 a 8,18
Oxigênio dissolvido das soluções-teste.....	7,25 a 7,70 mg.L ⁻¹
Duração do ensaio.....	26 horas
Resposta.....	retardamento no desenvolvimento embriolaval ou anomalias
Expressão do resultado.....	CENO(I), CEO(I) e VC(I)
Método de cálculo.....	Toxstat (Gulley <i>et al.</i> , 1991)

*Controle: exposição do organismo à água de diluição (água do mar natural) nas mesmas condições da amostra.

3 – RESULTADOS

Os dados brutos de contagem e o percentual de pluteus normais, obtidos no controle e nas diferentes soluções-teste, são apresentados na tabela I.

Os valores de oxigênio dissolvido (OD), pH e salinidade da água de diluição e da solução-estoque, medidos no início do ensaio, bem como os valores máximos e mínimos destes parâmetros medidos nas soluções-teste, no início e final do ensaio, encontram-se na lista de resumo das condições de ensaio.

Tabela I: Número de pluteus normais de *L. variegatus* por réplica e percentual de pluteus normais obtido no controle e nas diferentes soluções-teste da FPS da amostra Rp 02.



Laboratório de Análise Ambiental

Av. Carlos Chagas Filho, 791
Pólo Bio-Rio // Laboratório 4
Cidade Universitária // Ilha do Fundão
CEP 21941-904 // Rio de Janeiro // RJ
55 (21) 3867 5851 // 55 (21) 3525 2466
Email: labtox@labtox.com.br
http://www.labtox.com.br

Solução-teste (ppm da FPS)	Pluteus Normais		Solução-teste (ppm da FPS)	Pluteus Normais	
	Nº por réplica	% por solução-teste		Nº por réplica	% por <i>solução-teste</i>
Controle	82	84,25	244*	0	0
	83			0	
	89			0	
	83			0	
30	85	85,75	488*	0	0
	87			0	
	89			0	
	82			0	
61	80	87,75	976*	0	0
	88			0	
	91			0	
	90			0	
122*	0	0	1.953*	0	0
	0			0	
	0			0	
	0			0	

* Significativamente diferente do controle.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Transform: NO TRANSFORMATION

WILLIAMS TEST (Isotonic regression model) TABLE 2 OF 2

IDENTIFICATION	ISOTONIZED MEAN	CALC. WILLIAMS	SIG P=.05	TABLE WILLIAMS	DEGREES OF FREEDOM
0.0	0.143				
30	0.143	0.640		1.78	k= 1, v=12
61	0.143	0.640		1.87	k= 2, v=12
122	1.000	35.924	*	1.90	k= 3, v=12

s = 0.033 Note: df used for table values are approximate when v > 20.

GARANTIA DOS RESULTADOS

Os dados apresentados neste laudo são confidenciais e referem-se unicamente aos resultados obtidos no ensaio com a amostra acima citada. Os dados brutos encontram-se à disposição da Empresa solicitante no Labtox.

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





Av. Carlos Chagas Filho, 791
Pólo Bio-Rio // Laboratório 4
Cidade Universitária // Ilha do Fundão
CEP 21941-904 // Rio de Janeiro // RJ
55 (21) 3867 5851 // 55 (21) 3525 2466
Email: labtox@labtox.com.br
<http://www.labtox.com.br>

4 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. 2006. Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade crônica – Método de Ensaio com ouriço-do-mar (*Echinodermata*, *Echinoidea*). NBR 15.350, 17 p.

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. 2007. Ecotoxicologia Aquática – Preservação e preparo de amostras. NBR 15.469, 7p.

Gulley,D.D.; Boelter,A.M.; Bergman,H.L. 1991. “*TOXSTAT Realease 3.3*”, Laramie, WY University of Wyoming, 19 p.

LAUDO ELABORADO POR:	REVISADO POR:
<p>Dra. Marcia Vieira Reynier CRBio-2 - 07135/02</p> 	<p>MSc Leila A. Silva Kraus CRBio-2 - 12156/02</p> 

Rio de Janeiro, 27 de junho de 2008.