



Av. Carlos Chagas Filho, 791
Pólo Bio-Rio // Laboratório 4
Cidade Universitária // Ilha do Fundão
CEP 21841-904 // Rio de Janeiro // RJ
55 (21) 3867 5651 // 55 (21) 3525 2466
Email: labtox@labtox.com.br
<http://www.labtox.com.br>

**ENSAIO ECOTOXICOLÓGICO COM O FLUIDO
MI-FBNA-048 (INÍCIO DA FASE IV) UTILIZANDO
Lytechinus variegatus (ECHINODERMATA-ECHINOIDEA)**

SOLICITANTE:

AECOM DO BRASIL LTDA
Praia de Botafogo, 440 – 24º Andar
Rio de Janeiro – RJ, CEP: 22.250-050
Tel: (21) 3526-8174

Técnico solicitante: Ana Cristina Santos
e-mail: anacristina.santos@aecom.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

Laudo 0305 LVC – Rev 00

Rio de Janeiro
Maio/2013

LAUDO DE TOXICIDADE



Av. Carlos Chagas Filho, 791
 Pólo Bio-Rio // Laboratório 4
 Cidade Universitária // Ilha do Fundão
 CEP 21841-904 // Rio de Janeiro // RJ
 55 (21) 3867 5651 // 55 (21) 3525 2466
 Email: labtox@labtox.com.br
 http://www.labtox.com.br

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 no desenvolvimento, até larva pluteus)

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: $CI_{50}(I)$: 1,46 - 2,51 mg.L⁻¹ (07/01/2013)

DADOS DA AMOSTRA

Identificação da amostra pelo solicitante: Fluido MI-FBNA 048

Poço: Caju 1

Início da Fase IV

Data: 25/04/2013

Código de entrada no Labtox: L030513 Data de entrada: 30/04/2013

Data de início do ensaio: 07/05/2013 Data de término: 08/05/2013

Composição da amostra:

| PRODUTOS | CONCENTRAÇÃO (kg/m ³) |
|--------------------------------|--------------------------------------|
| Cloreto de Cálcio | 17,57 |
| BIO-BASE 360 | 93,10 |
| ECOTROL RD | 0,73 |
| HIDRÓXIDO DE CÁLCIO (CAL-LIME) | 5,43 |
| RHEFLAT | 1,19 |
| RHETHIK | 0,83 |
| SUREMUL | 6,88 |
| VG-SUPREME | 0,49 |
| SUREWET | 0,63 |
| NOVAPLUS B | 88,63 |
| Barita | 91,93 |
| Carbonato de Cálcio | 3,71 |



Av. Carlos Chagas Filho, 791
 Pólo Bio-Rio // Laboratório 4
 Cidade Universitária // Ilha do Fundão
 CEP 21841-904 // Rio de Janeiro // RJ
 55 (21) 3867 5651 // 55 (21) 3525 2466
 Email: labtox@labtox.com.br
 http://www.labtox.com.br

| RESULTADOS |
|---|
| CENO(I) 62.500 ppm da FPS CEO(I) 125.000 ppm da FPS VC(I) 88.388 ppm da FPS |
| Controle: 86,0 % de pluteus |
| Ensaio com DSS (07/05/2013): 1,86 mg.L ⁻¹ (IC: 1,82 – 1,89 mg.L ⁻¹) |

FPS: Fração Particulada Suspensa IC: Intervalo de confiança

1 – OBJETIVO

Este ensaio teve como objetivo determinar a toxicidade crônica de curta duração da amostra, 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, 2012). 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 com base na 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: 62.500; 125.000; 250.000; 500.000 e 1.000.000 ppm da FPS.



Av. Carlos Chagas Filho, 791
Pólo Bio-Rio // Laboratório 4
Cidade Universitária // Ilha do Fundão
CEP 21841-904 // Rio de Janeiro // RJ
55 (21) 3867 5651 // 55 (21) 3525 2466
Email: labtox@labtox.com.br
http://www.labtox.com.br

RESUMO DAS CONDIÇÕES DE ENSAIO

| | |
|---|--|
| Tipo de ensaio..... | crônico |
| Temperatura de incubação..... | 25 ± 2° 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 |
| N° de organismos / frasco..... | 300 ovos |
| N° de réplicas / solução-teste..... | 04 |
| N° de soluções-teste..... | 05 + 1 controle* |
| Água de diluição..... | água do mar natural filtrada |
| Água de diluição:..... | Salinidade: 36 ‰.....OD: 7,84 mg.L ⁻¹pH: 8,01 |
| Solução-estoque:..... | Salinidade: 36 ‰.....OD: 8,25 mg.L ⁻¹pH: 8,25 |
| Salinidade das soluções-teste..... | 36 ‰ |
| pH das soluções-teste:..... | 7,77 a 8,25 |
| Oxigênio dissolvido das soluções-teste..... | 5,55 a 8,29 mg.L ⁻¹ |
| Duração do ensaio..... | 25 horas |
| Resposta..... | retardamento no desenvolvimento embriolarval 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 (FPS), 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 médio de pluteus normais obtido no controle e nas diferentes soluções-teste.



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 5651 // 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 | |
|----------------------------------|-----------------------|----------------------------|--------------------------------|-----------------------|----------------------------|
| | Número por réplica | % por solução- teste | | Número por réplica | % por solução- teste |
| Controle | 89 | 86,0 | 250.000* | 43 | 45,8 |
| | 84 | | | 49 | |
| | 87 | | | 45 | |
| | 84 | | | 46 | |
| 62.500 | 84 | 85,5 | 500.000* | 33 | 35,5 |
| | 82 | | | 40 | |
| | 87 | | | 35 | |
| 125.000* | 89 | 65,8 | 1.000.000* | 34 | 0,0 |
| | 67 | | | 0 | |
| | 66 | | | 0 | |
| | 64 | | | 0 | |
| | 66 | | | 0 | |

* Diferença significativa em relação ao 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 |
|----------------|--------------------|-------------------|--------------|-------------------|-----------------------|
| Controle | 0.140 | | | | |
| 62.500 | 0.145 | 0.275 | | 1.75 | k= 1, v=15 |
| 125.000 | 0.343 | 11.147 | * | 1.84 | k= 2, v=15 |
| 250.000 | 0.543 | 22.157 | * | 1.87 | k= 3, v=15 |
| 500.000 | 0.645 | 27.799 | * | 1.88 | k= 4, v=15 |

s = 0.026 Note: df used for table values are approximate when v > 20.



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

GARANTIA DOS RESULTADOS

Os dados apresentados neste laudo são confidenciais e referem-se unicamente aos resultados obtidos no(s) ensaio(s) com a(s) amostra(s) acima citada(s). 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.

4 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. 2012. 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.

Responsável Técnico:

MSc Leila A. Silva Kraus
CRBio-2 - 12156/02
Diretora

Rio de Janeiro, 16 de maio de 2013.