

**ENSAIO ECOTOXICOLÓGICO COM O FLUIDO MI-BNA048**  
**INÍCIO DA FASE IV UTILIZANDO *Lytechinus variegatus***  
**(ECHINODERMATA-ECHINOIDEA)**



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](mailto:labtox@labtox.com.br)  
<http://www.labtox.com.br>

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](mailto:anacristina.santos@aecom.com)

EXECUTADO POR:

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

Laudo 0497 LVC – Rev 01

Obs: Esta versão substitui e anula a(s) versão (ões) anterior(es) do Laudo L0497 LVC.

Rio de Janeiro  
Julho/2013

## 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 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<sup>-1</sup> (07/01/2013)

## DADOS DA AMOSTRA

Identificação da amostra pelo solicitante: Fluido MI-FBNA048

Início da Fase IV

Poço: Dende 1

Data: 16/07/2013

Código de entrada no Labtox: L049713      Data de entrada: 19/07/2013

Data de início do ensaio: 30/07/2013      Data de término: 31/07/2013

Composição da amostra:

PRODUTOS	CONCENTRAÇÃO kg/m <sup>3</sup>
Cloreto de Cálcio	9,03
G-SEAL PLUS	0,17
NUT PLUG FINE	0,13
ECOTROL RD	0,37
HRP	0,22
Hidróxido de Cálcio (Cal-Lime)	5,71
NOVATHIN	0,73
RHETHIK	0,17
SUREMUL	7,66
Argila Organofílica (VG-SUPREME)	0,42
SUREWET	1,83
NOVAPLUS B	66,21
BARITA	187,49
Carbonato de Cálcio Médio	0,26
Carbonato de Cálcio 2-44	0,26



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



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

RESULTADOS	
<b>CENO(I)</b> 125.000 ppm da FPS	<b>CEO(I)</b> 250.000 ppm da FPS
<b>VC(I)</b> 176.777 ppm da FPS	
Controle: 88,2 % de pluteus	
Ensaio com DSS (30/07/2013): 2,09 mg.L <sup>-1</sup> (IC: 2,05 – 2,13 mg.L <sup>-1</sup> )	

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 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

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
Nº de organismos / frasco.....	300 ovos
Nº de réplicas / solução-teste.....	04
Nº de soluções-teste.....	05 + 1 controle*
Água de diluição.....	água do mar natural filtrada
Água de diluição:.....	Salinidade: 36 ‰.....OD: 7,79 mg.L <sup>-1</sup> .....pH: 7,93
Solução-estoque:.....	Salinidade: 36 ‰.....OD: 8,35 mg.L <sup>-1</sup> .....pH: 8,21
Salinidade das soluções-teste.....	36 ‰
pH das soluções-teste:.....	7,89 a 8,21
Oxigênio dissolvido das soluções-teste.....	6,48 a 8,35 mg.L <sup>-1</sup>
Duração do ensaio.....	25 horas
Resposta.....	retardamento no desenvolvimento embrionário 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.

Solução-teste (ppm FPS)	Pluteus Normais		Solução-teste (ppm FPS )	Pluteus Normais	
	Número por réplica	% por solução-teste		Número por réplica	% por solução-teste
Controle	88	88,2	250.000*	83	81,0
	85			81	
	90			80	
	90			80	
62.500	86	86,0	500.000*	77	77,0
	89			78	
	84			79	
	85			74	
125.000	87	89,2	1.000.000*	38	33,8
	89			35	
	92			29	
	89			33	

\* Diferença significativa em relação ao controle.



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

## 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	0.117				
62.500	0.124	0.364		1.73	k= 1, v=18
125.000	0.124	0.364		1.82	k= 2, v=18
250.000	0.190	4.221	*	1.85	k= 3, v=18
500.000	0.230	6.550	*	1.86	k= 4, v=18
1.000.000	0.663	31.731	*	1.87	k= 5, v=18

s = 0.024 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(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.



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. 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, 14 de agosto de 2013.