

**ENSAIO DE TOXICIDADE COM A FRAÇÃO DISPERSA EM ÁGUA (FDA)  
DO ÓLEO 1-ESS-103 A TFR 02 (CÓDIGO LET 3571) UTILIZANDO  
*Lytechinus variegatus* (ECHINODERMATA-ECHINOIDEA)**

SOLICITANTE:

Petróleo Brasileiro S.A. - PETROBRAS  
UN-ES/ATP-JUB CHT/SMS  
Rua Judith Tovar Varejão, 225  
Ed. Enseada Plaza, sala 202, CEP 29050-360  
Enseada do Suá, Vitória - ES  
Tel: (27) 3235-3519

Técnico solicitante: Paulo Roberto de Azevedo  
e-mail: [azv@petrobras.com.br](mailto:azv@petrobras.com.br)

EXECUTADO POR:

LABTOX – Laboratório de Análise Ambiental Ltda  
Av. Carlos Chagas Filho, 791- Pólo Bio-Rio - Laboratório 4  
Cidade Universitária, Ilha do Fundão  
Rio de Janeiro, RJ, CEP: 21941-904  
Tel: (21) 3867-5651 / 3525-2466 / 3525-2442  
e-mail: [labtox@labtox.com.br](mailto:labtox@labtox.com.br)

Laudo 3558 FDA 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:  $CI_{50}(I)$ : 0,95 – 2,07 mg.L<sup>-1</sup> (27/09/2007)

## DADOS DA AMOSTRA

Identificação da amostra pelo solicitante: Óleo 1-ESS-103 A TFR 02 (Código LET 3571)

Origem da amostra: Formação

Coleta: Montante do Choke

Data de coleta: 25/09/2007

Código de entrada no Labtox: L335807

Data de entrada no Labtox: 29/10/2007

Data de início do ensaio: 05/12/2007

Data de término do ensaio: 06/12/2007

RESULTADOS
<b>CENO(I)</b> 250 ppm de óleo* <b>CEO(I)</b> 500 ppm de óleo* <b>VC(I)</b> 353 ppm de óleo*
Controle: 87,8 % de pluteus
Ensaio com DSS (05/12/2007): 1,77 mg.L <sup>-1</sup> (IC: 1,73 – 1,80 mg.L <sup>-1</sup> )

\* Valores correspondentes a 25,0; 50,0 e 35,3% da Fração dispersa do óleo em água (FDA).  
IC: Intervalo de confiança.

## 1 – OBJETIVO

Este ensaio, realizado em 05 de dezembro de 2007, teve como objetivo determinar a toxicidade crônica de curta duração da fração dispersa em água (FDA) do óleo 1-ESS-103 A TFR 02 (Código LET 3571), 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 soluções-teste da FDA, 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 Fração Dispersa do óleo em Água (FDA) foi preparada avolumando-se 1,5 mL de óleo para 1.500 mL, com água do mar, seguindo a metodologia descrita em NBR 15.469 (ABNT, 2007). Esta mistura foi agitada em homogeneizador elétrico por 5 segundos a uma velocidade de 13.000 rpm obtendo-se um extrato de óleo em água de 1.000 ppm (v/v), que corresponde a 100% da FDA. O extrato foi utilizado como solução-estoque para o preparo das seguintes soluções-teste: 31,25; 62,5; 125; 250 e 500 ppm de óleo.

## RESUMO DAS CONDIÇÕES DE ENSAIO

---

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.....	5 + 1 controle*
Água de diluição.....	água do mar natural filtrada
Salinidade das soluções-teste.....	36 ‰
pH das soluções-teste:.....	7,71 a 8,17
Oxigênio dissolvido das soluções-teste:.....	5,38 a 6,42 mg.L <sup>-1</sup>
Duração do ensaio.....	27 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 máximos e mínimos de oxigênio dissolvido, pH e salinidade medidos 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 diluições da fração dispersa em água (FDA) do óleo 1-ESS-103 A TFR 02 (Código LET 3571).

Solução-teste (ppm de óleo)	Pluteus Normais		Solução-teste (ppm de óleo)	Pluteus Normais	
	Número por réplica	% por solução-teste		Número por réplica	% por solução-teste
Controle	85	87,8	125	91	91,2
	93				
	84				
	89				
31,25	93	92,2	250	82	84,8
	94				
	90				
	92				
62,5	83	87,2	500*	38	42,2
	88				
	91				
	87				

\* 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
Controle	0.100				
31.25	0.100	1.079		1.73	k= 1, v=18
62.5	0.108	0.719		1.82	k= 2, v=18
125	0.108	0.719		1.85	k= 3, v=18
250	0.153	1.438		1.86	k= 4, v=18
500	0.578	21.816	*	1.87	k= 5, v=18

s = 0.029

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.

## 4 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

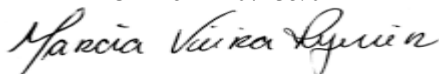
ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. 2006. Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade crônica de curta duração – Método de Ensaio com ouriço-do-mar (Echinodermata:Echinoidea). NBR 15.350, 17p.

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.

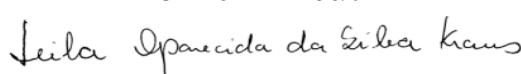
LAUDO ELABORADO POR:

Dra. Marcia Vieira Reynier  
CRBio-2 - 07135/02



REVISADO POR:

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



Rio de Janeiro, 10 de dezembro de 2007.