

**ENSAIO DE TOXICIDADE COM A FRAÇÃO SOLÚVEL EM ÁGUA (FSA)
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

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

Laudo 3558 FSA LVC

Rio de Janeiro

LAUDO DE TOXICIDADE

DADOS DO ENSAIO

Avaliação solicitada: Ensaio embrionarval

Organismo-teste: *Lytechinus variegatus*

Tipo de ensaio: Crônico de curta duração

Tempo de exposição: 24 a 28 horas

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

VALIDADE DO ENSAIO

Desenvolvimento embrionarval 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⁻¹ (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: 21/11/2007

Data de término do ensaio: 22/11/2007

RESULTADOS	
CENO(I) 6,25 % da FSA	CEO(I) 12,5 % da FSA
VC(I) 8,84 % da FSA	
Controle: 86,25 % de pluteus	
Ensaio com DSS (21/11/2007): 1,11 mg.L ⁻¹ (IC: 1,03 – 1,94 mg.L ⁻¹)	

FSA: Fração solúvel do óleo em água. IC: Intervalo de confiança.

1 – OBJETIVO

Este ensaio, realizado em 21 de novembro de 2007, teve como objetivo determinar a toxicidade crônica de curta duração da fração solúvel em água (FSA) 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 FSA, 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 Solúvel do óleo em Água (FSA) foi preparada na proporção 1:9 (v/v) seguindo a metodologia descrita em NBR 15.469 (ABNT, 2007). Esta mistura foi agitada em agitador magnético por 20 horas em frasco Mariotte, com vórtex medindo 1/3 do volume total, e decantada por uma hora. Após esse período, a fração aquosa foi retirada e utilizada como solução-estoque (100% da FSA) para o preparo das seguintes soluções-teste: 6,25; 12,5; 25; 50 e 100% da FSA.

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.....	37 ‰
pH das soluções-teste:.....	8,02 a 8,14
Oxigênio dissolvido das soluções-teste:.....	6,23 a 7,42 mg.L ⁻¹
Duração do ensaio.....	26 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 solúvel em água (FSA) do óleo 1-ESS-103 A TFR 02 (Código LET 3571).

Solução-teste (% da FSA)	Pluteus Normais		Solução-teste (% da FSA)	Pluteus Normais	
	Número por réplica	% por solução-teste		Número por réplica	% por solução-teste
Controle	94	86,25	25*	48	46,0
	81			38	
	87			36	
	83			62	
6,25	87	85,75	50*	19	18,5
	87			16	
	83			11	
	86			28	
12,5*	51	60,5	100*	0	0
	60			0	
	68			0	
	63			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	0.138				
6.25	0.143	0.094		1.75	k= 1, v=15
12.5	0.395	4.866	*	1.84	k= 2, v=15
25	0.540	7.607	*	1.87	k= 3, v=15
50	0.815	12.804	*	1.88	k= 4, v=15

s = 0.075

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

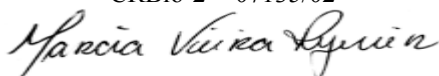
ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. 2006. Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade crônica de curta duração – Método de Ensaio com ouriço-do-mar (Echinodermata:Echinoidea). NBR 15.350, 17p.

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.

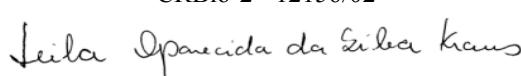
LAUDO ELABORADO POR:

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



REVISADO POR:

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



Rio de Janeiro, 27 de novembro de 2007.