

TESTE DE TOXICIDADE COM O PRODUTO HW 525 (CÓDIGO LET 2630)
UTILIZANDO O OURIÇO-DO-MAR *Lytechinus variegatus*
(Echinodermata-Echinoidea)

SOLICITANTE:

CENPES/PDEDS/AMA/PETROBRAS
Centro de Pesquisa Leopoldo Miguez de Mello
Ilha do Fundão – Cidade Universitária – Q 7
CEP: 21.949-900 - Tel: (21) 3865-6100

Executado por:

LABTOX – Laboratório de Análise Ambiental Ltda
Av. 24, s/nº - Pólo BIO-RIO – Laboratório - 4
Cidade Universitária – Ilha do Fundão
Tel: (21) 3867-5651 / 3867-5501 ramal 220
e-mail: labtox@biorio.org.br
CEP: 21941-590

MR

Teste 1071LVC

Rio de Janeiro

LAUDO DE TOXICIDADE

Órgão requisitante: CENPES/PDEDS/AMA

Gerência de Avaliação e Monitoramento Ambiental

Técnico requisitante: Leticia Falcão Veiga

Endereço: Centro de Pesquisa Leopoldo Miguez de Mello Ilha do Fundão Cidade
Universitária Q7

Telefone: (21) 3865 7128

Avaliação solicitada: Teste embriolarval

Organismo teste: *Lytechinus variegatus*

Tipo de teste: crônico de curta duração

Resposta do teste: Efeitos no desenvolvimento dos embriões (retardamento e/ou
ocorrência de anomalias)

Identificação da amostra pelo solicitante: HW 525

Data: 29/05/2003

Código LET 2630

Código de entrada no Labtox: L107103

RESULTADO DEFINITIVO
TESTE EMBRIOLÓGICO CENO 1,56 ppm CEO 3,13 ppm VC = 2,21 ppm
Controle: 87,25% de pluteus
DSS: CE50 = 1,31 mg.L ⁻¹ (IC = 1,24 - 1,37 mg.L ⁻¹)

IC = Intervalo de confiança

MLB

1 - OBJETIVO

Este teste, realizado em 17 de junho de 2003, teve como objetivo determinar a toxicidade crônica do produto (Código do LET 2630) sobre os embriões do ouriço *Lytechinus variegatus*.

2 – METODOLOGIA

O teste embriológico seguiu a Norma CETESB (1999). Este teste consiste na exposição dos ovos a diferentes concentrações da substância, avaliando-se a concentração que causa retardamento no desenvolvimento embriolarval e/ou ocorrência de anomalias nos organismos expostos, nas condições de teste.

A cada série de amostra testada é realizado um teste de toxicidade com o padrão, dodecil sulfato de sódio (DSS), com o objetivo de verificar se os organismos estão respondendo dentro da faixa de toxicidade previamente estabelecida.

CÁLCULO DA CENO, CEO E VC

O valor de CENO (maior concentração utilizada que não causa efeito significativamente diferente do controle) e CEO (menor concentração utilizada que causa efeito significativamente diferente do controle) foi obtido através do teste de hipóteses utilizando-se o programa estatístico TOXSTAT versão 3.3 (Gulley *et al.*, 1991).

A normalidade e homocedasticidade da proporção de embriões desenvolvidos foi verificada através dos testes de “Chi-square” e “Bartlett”, respectivamente. A estimativa dos valores de CENO e CEO foi feita através do teste paramétrico de “Williams”.

Após a obtenção destes valores, foi calculado o VC (valor crônico), que representa a média geométrica de CENO e CEO e indica a concentração máxima aceitável da amostra.



RESUMO DAS CONDIÇÕES DE TESTE

Tipo de teste.....estático sem renovação
Temperatura de incubação..... $25 \pm 0,5^{\circ} C$
Fotoperíodo.....12:12h luz e 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 / diluição.....04
Nº de diluições.....8 + 1 controle*
Alimentação.....sem alimentação
Água de diluição.....água do mar natural filtrada (0,45 μ m)
Salinidade da água..... 34 ± 1 ‰
Duração do teste.....24 horas
Resposta.....embriões mal formados ou com o desenvolvimento retardado
Expressão do resultado.....CENO, CEO e VC
Método de cálculo.....Toxstat (Gulley *et al.*, 1991)

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

mf

PREPARO DA AMOSTRA

A amostra de HW 525 foi enviada ao Labtox pelo CENPES/PETROBRAS. Foi preparada uma solução-estoque de 100 ppm (v/v) do produto, utilizando-se 0,05 mL do produto e avolumando para 500 mL com água do mar. A partir dessa solução foram retiradas alíquotas para as soluções- teste, sendo testadas as seguintes diluições: 0,39; 0,78; 1,56; 3,13; 6,25; 12,5; 25 e 50 ppm (Fichas em anexo).

VALIDADE DO TESTE

O teste EMBRIOLÓGICO é considerado válido quando:

- Apresentar no controle o mínimo de 80% de embriões no estágio de pluteus;
- Os parâmetros de qualidade da água estiverem dentro dos limites estabelecidos para a espécie;
- O resultado com a substância de referência estiver dentro do limite estabelecido para a espécie pelo Labtox (1,1 - 2,68 mg.L⁻¹).

3 - RESULTADOS

Os dados brutos da contagem do número de pluteus mal formados e/ou com atraso no desenvolvimento são apresentados na tabela I.

O valor de CENO (concentração de efeito não observado) obtido com o produto HW 525 (Código do LET 2630) foi de 1,56 ppm, o valor de CEO (concentração de efeito observado) foi de 3,13 ppm e o VC (valor crônico) de 2,21 ppm.

O valor médio do percentual de pluteus saudáveis obtido no controle foi de 87,25 % e a CE50 obtida com a substância de referência (DSS) foi de 1,31 mg.L⁻¹ (IC= 1,24 - 1,37 mg.L⁻¹).

Os valores de oxigênio, pH e salinidade, encontram-se listados nas fichas em anexo e estiveram dentro dos limites aceitáveis para a espécie.



L1071LVC

Tabela I: Número de pluteus afetados e saudáveis de *L. variegatus* obtidos nas diferentes concentrações do produto HW 525 (Código do LET 2630) no teste conduzido em 17/06/2003.

Concentração (ppm)	Número de pluteus saudáveis	Número de pluteus afetados
Controle	90	10
	85	15
	86	14
	88	12
0,39	84	16
	80	20
	87	13
0,78	87	13
	90	10
	96	04
1,56	87	13
	91	09
	91	09
	85	15
3,13*	90	10
	85	15
	90	10
	83	17
6,25*	83	17
	70	30
	75	25
	80	20
12,5*	87	13
	74	26
	75	25
	80	20
25*	78	22
	73	27
	67	33
	71	29
50*	65	35
	65	35
	20	80
	56	44
50*	61	39
	70	30
	45	55
	26	74

* Estatisticamente diferente do controle



4 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

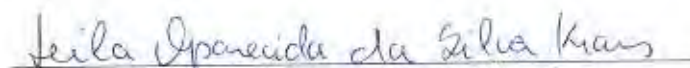
CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. 1999. Água do mar. Teste de toxicidade crônica de curta duração com *Lytechinus variegatus*, Lamarck, 1816. Norma Técnica L5.250, São Paulo, Cetesb, 22 p


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

WR

6 - EQUIPE TÉCNICA

Rio de Janeiro, 18 de junho de 2003.


MSc Leila Aparecida da Silva Kraus
Diretora Administrativa e Financeira
CRB-2 - 12156/02


MSc Marcia Vieira Reynier
Diretora Científica
CRB-2 - 07135/02


MSc Maria Cristina da Silva Maurat
Diretora Comercial
CRB-2 - 12671/02

BIÓLOGA:

Carina C. Gomes Machado
CRB-2 – 32963/02

Desideria Lima Calleja
CRB-2 - 38219/02 P

AUXILIAR DE ANÁLISE:

Viviane Euzébio Luiz

ANEXOS

HW 525 - COD LET 2630

File: t1071 Transform: NATURAL LOG(Y)

WILLIAMS TEST (Isotonic regression model) TABLE 1 OF 2

GROUP	IDENTIFICATION	N	ORIGINAL MEAN	TRANSFORMED MEAN	ISOTONIZED MEAN
1	0.0	4	0.128	-2.072	-2.175
2	.39	4	0.155	-1.881	-2.175
3	.78	4	0.090	-2.492	-2.175
4	1.56	4	0.108	-2.254	-2.175
5	3.13	4	0.223	-1.534	-1.565
6	6.25	4	0.210	-1.596	-1.565
7	12.5	4	0.278	-1.292	-1.292
8	25	4	0.485	-0.786	-0.786
9	50	4	0.495	-0.761	-0.761

HW 525 - COD LET 2630

File: t1071 Transform: NATURAL LOG(Y)

WILLIAMS TEST (Isotonic regression model) TABLE 2 OF 2

IDENTIFICATION	ISOTONIZED MEAN	CALC. WILLIAMS	SIG P=.05	TABLE WILLIAMS	DEGREES OF FREEDOM
0.0	-2.175				
.39	-2.175	0.458		1.71	k= 1, v=27
.78	-2.175	0.458		1.79	k= 2, v=27
1.56	-2.175	0.458		1.81	k= 3, v=27
3.13	-1.565	2.253	*	1.82	k= 4, v=27
6.25	-1.565	2.253	*	1.83	k= 5, v=27
12.5	-1.292	3.462	*	1.84	k= 6, v=27
25	-0.786	5.713	*	1.84	k= 7, v=27
50	-0.761	5.823	*	1.84	k= 8, v=27

s = 0.318

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

TESTE N° 1071W Data: 16/06/03 Organismo-teste: L. oxysentis

Tipo de teste: () fecundação () embriológico

Amostra: 200 mL NET 2630 (Flux 525 P-25)

Cód. de entrada no laboratório: L107103

Data de entrada: 03/06/03 Data do preparo da amostra: 29/05/03

DADOS DO SOBRENADANTE

Salinidade: 35 ‰ pH: 8,17 OD: 6,01 mg/L

AJUSTE DA SALINIDADE () SIM () NÃO

Volume de água destilada	Volume de salmoura:	Volume de amostra:	Salinidade final da amostra:	Concentração final da amostra:
— mL	— mL	— mL	— ‰	— ppm

SALMOURA

Método de obtenção: — Salinidade: — ‰ pH: —

AJUSTE DO pH () SIM () NÃO

Volume da amostra: — ml	Adição:	— µL de HCl	pH final: —
		— µL de NaOH	pH final: —

DADOS DA ÁGUA DE DILUIÇÃO

Local de coleta: ANGRA DOS REIS Data: 03/06/03

Data de filtração: 13/06/03 Aeração: Data 16/06/03

Salinidade: 35 ‰ pH: 8,03 OD: 7,58 mg/L

TESTE N° 1071 LVC

Amostra: 06h JET 2630

Solução-estoque: 100 ppm Vol. final a ser preparado: 100 mL

Concentração (µg·L ⁻¹)	Vol. Amostra a 100% adicionada (mL)	Vol. água do mar adicionada (mL)	Número dos tubos	
			leitura	F/Q
0,0	—	100	1 - 9	10
0,39	0,39	99,61	281 - 284	285
0,78	0,78	99,22	286 - 289	290
1,56	1,56	98,44	291 - 294	295
3,13	3,13	96,87	296 - 299	300
6,25	6,25	93,75	301 - 304	305
12,5	12,5	87,5	306 - 309	310
25	25	75	311 - 314	315
50	50	50	316 - 319	320

OBS:

TESTE N° 1071 LVC

PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS DAS SOLUÇÕES-TESTE

Temperatura: Sala: 25±1 °C Incubadora: 25±0,5 °C

Concentração (ppm)	Início			Término		
	OD mg/L	pH	S ‰	OD mg/L	pH	S ‰
2,2	7,4	8,03	35	5,97	7,75	35
0,39	6,23	8,23	35	5,60	7,56	35
0,77	6,58	8,25	35	5,73	8,25	35
1,56	6,56	8,22	35	5,53	8,12	35
3,13	6,46	8,14	35	5,57	8,14	35
6,25	6,43	8,28	35	5,86	8,16	35
12,5	6,39	8,36	35	5,65	8,15	35
25	6,61	8,38	35	5,50	8,15	35
50	6,31	8,35	35	5,52	8,13	35