

**ENSAIO DE TOXICIDADE COM A FRAÇÃO DISPERSA EM
ÁGUA (FDA) DO ÓLEO OGX – AMOSTRA 1 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 5651 // 55 (21) 3525 2466
Email: labtox@labtox.com.br
<http://www.labtox.com.br>

SOLICITANTE:

OGX PETRÓLEO E GÁS LTDA
Praia do Flamengo, 154 – 4º andar
Flamengo – Rio de Janeiro - RJ CEP: 22.210-030
Tel: (21) 2555-4661 / 2555-4120 / 2555-4202

Técnico solicitante: Glória Marins
e-mail: gloria.marins@ogx.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 CEP: 21.941-904
Tel: (21) 3867-5651 / 3525-2466 / 3525-2442
e-mail: labtox@labtox.com.br

Laudo 6697 FDA LVC – Rev 01

Obs: Esta versão substitui e anula a(s) versão (ões) anterior(es) do Laudo L6697 LVC.

Rio de Janeiro
Abril/2010

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: $CI_{50}(I)$: 1,41 – 1,95 mg.L⁻¹ (22/12/2009)

DADOS DA AMOSTRA

Identificação da amostra pelo solicitante: Óleo OGX - Amostra 1
Data: Não informada

Código de entrada no Labtox: L 669710 Data de entrada: 15/04/2010

Data de início do ensaio: 28/04/2010 Data de término: 29/04/2010

RESULTADOS
CENO(I) 250 ppm de óleo* CEO(I) 500 ppm de óleo*
VC(I) 353 ppm de óleo*
Controle: 82,2 % de pluteus
Ensaio com DSS (28/04/2009): 1,41 mg.L ⁻¹ (IC: 1,28 – 1,49 mg.L ⁻¹)

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



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 2486

Email: labtox@labtox.com.br

http://www.labtox.com.br

1 – OBJETIVO

Este ensaio, realizado em 28 de abril de 2010, teve como objetivo determinar a toxicidade crônica de curta duração da fração dispersa em água (FDA) do óleo OGX – Amostra 1, 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 diluições 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 4,0 mL de óleo para 4.000 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: 62,5; 125; 250; 500 e 1.000 ppm de óleo.



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 2486
Email: labtox@labtox.com.br
<http://www.labtox.com.br>

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.....	05 + 1 controle*
Água de diluição.....	água do mar natural filtrada
Água de diluição:.....	Salinidade: 36‰.....pH: 8,11.....OD: 6,97 mg.L ⁻¹
Solução-estoque:.....	Salinidade: 35‰.....pH: 8,10.....OD: 7,47 mg.L ⁻¹
Salinidade das soluções-teste.....	35 a 36 ‰
pH das soluções-teste:.....	8,00 a 8,11
Oxigênio dissolvido das soluções-teste.....	6,97 a 7,47 mg.L ⁻¹
Duração do ensaio.....	26 horas
Resposta.....	retardamento no desenvolvimento embrionarlarval 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, 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.



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 2486
 Email: labtox@labtox.com.br
 http://www.labtox.com.br

Tabela I: Número de pluteus normais de *L. variegatus* por réplica e percentual de pluteus normais obtido no controle e nas diferentes soluções-teste da fração dispersa em água (FDA) do óleo OGX – Amostra 1.

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	80	82,2	250	87	84,0
	82				
	87				
	80				
62,5	86	84,2	500*	62	59,8
	85				
	81				
	85				
125	82	83,0	1.000*	0	0,0
	83				
	82				
	85				

* Significativamente diferente do 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 5651 // 55 (21) 3525 2486

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	0.166				
62,5	0.166	0.527		1.75	k= 1, v=15
125	0.166	0.527		1.84	k= 2, v=15
250	0.166	0.527		1.87	k= 3, v=15
500	0.403	10.548	*	1.88	k= 4, v=15

s = 0.030

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 – 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

Leila Aparecida da Silva Kraus

Rio de Janeiro, 10 de junho de 2010.



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 2486
Email: labtox@labtox.com.br
http://www.labtox.com.br