

**ENSAIO DE TOXICIDADE COM A AMOSTRA DE ÁGUA
PRODUZIDA SAÍDA DA ETE – AMOSTRA 02 (CÓDIGO LET 3488) UTILIZANDO
Lytechinus variegatus (ECHINODERMATA-ECHINOIDEA)**

SOLICITANTE:

Petróleo Brasileiro S.A. – PETROBRAS / UN-RNCE / SMS
Av. Euzébio Rocha, 1.000 - Cidade da Esperança – Natal – RN
CEP: 59064-100 - Tel: (84) 235-3323 Fax: (84) 235-3445

Técnico solicitante: Eugênio Cunha Oliviera
E-mail: eugenio@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: 21.941-904
Tel: (21) 3867-5651 / 3525-2466 / 3525-2442
e-mail: labtox@labtox.com.br

Laudo 3229 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: $CI_{50}(I): 1,10 - 2,32 \text{ mg.L}^{-1}$ (12/03/2007)

DADOS DA AMOSTRA

Identificação da amostra pelo solicitante: Água produzida – Saída da ETE – Amostra 02
(Código LET 3488)

Data de coleta: 12/04/2007 - 12:35h

com adição de:

10 ppm de Cloreto de dimetil benzil dialquil – C12-C14 – amônio a 50% p/v de base ativa;
50 ppm de Fosfonato e 30 ppm de Bissulfito de sódio.

Código de entrada no Labtox: L322907

Data de entrada no Labtox: 18/04/2007

Data de início do ensaio: 25/04/2007

Data de término do ensaio: 26/04/2007

RESULTADOS
CENO(I) 0,39 % CEO(I) 0,78 % VC(I) 0,55 %
Controle: 96,7 % de pluteus
Ensaio com DSS (25/04/2007): $2,20 \text{ mg.L}^{-1}$ (IC: $2,03 - 2,38 \text{ mg.L}^{-1}$) IC: Intervalo de confiança

1 – OBJETIVO

Este ensaio, realizado em 25 de abril de 2007, teve como objetivo determinar a toxicidade crônica de curta duração com a Amostra de Água Produzida – Saída da ETE – Amostra 02 (Código LET 3488), 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 amostra, 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 preparada no laboratório do CENPES, a partir da mistura da Amostra 02 com 10 ppm de Cloreto de dimetil benzil dialquil – C12-C14 – amônio a 50% p/v de base; 50 ppm de Fosfonato e 30 ppm de Bissulfito de sódio. A mistura foi utilizada como solução-estoque (100%) para o preparo das seguintes soluções-teste: 0,024; 0,049; 0,098; 0,195; 0,39; 0,78; 1,56 e 3,12 %.

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-teste.....	300 ovos
Nº de réplicas / solução-teste.....	04
Nº de soluções-teste.....	08 + 1 controle*
Água de diluição.....	água do mar natural filtrada
Salinidade das soluções-teste.....	36 ‰
pH das soluções-teste.....	8,30 a 8,41
Oxigênio dissolvido das soluções-teste.....	5,87 a 7,27 mg.L ⁻¹
Duração do ensaio.....	25 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 da contagem do número de pluteus normais e mal formados e/ou com atraso no desenvolvimento 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.

L3229LVC – Rev 00

Tabela I: Número de pluteus normais de *L. variegatus* por réplica e percentual de pluteus normais obtido no controle e nas diferentes diluições da Amostra de Água Produzida – Saída da ETE – Amostra 02 (Código LET 3488).

Solução-teste (%)	Pluteus Normais		Solução-teste (%)	Pluteus Normais	
	Número por réplica	% por solução-teste		Número por réplica	% por solução-teste
Controle	97	96,7	0,39	98	94,7
	98				
	96				
	96				
0,024	98	96,7	0,78*	87	85,7
	96				
	96				
	97				
0,049	97	96,0	1,56*	79	82,2
	96				
	96				
	95				
0,098	99	97,0	3,12*	65	71,5
	95				
	96				
	98				
0,195	98	96,5			
	95				
	96				
	97				

* 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	0.033				
0.024	0.033	0.000		1.71	k= 1, v=27
0.049	0.035	0.098		1.79	k= 2, v=27
0.098	0.035	0.098		1.81	k= 3, v=27
0.195	0.035	0.098		1.82	k= 4, v=27
0.39	0.053	0.781		1.83	k= 5, v=27
0.78	0.143	4.298	*	1.84	k= 6, v=27
1.56	0.178	5.666	*	1.84	k= 7, v=27
3.12	0.285	9.866	*	1.84	k= 8, v=27

s = 0.036

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

GARANTIA DOS RESULTADOS

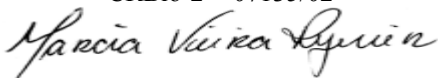
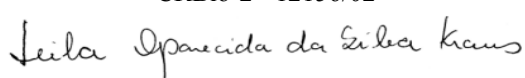
Os dados apresentados neste laudo são confidenciais e referem-se unicamente aos resultados obtidos no ensaio com a amostra acima citada. Os dados brutos encontram-se à disposição da Empresa solicitante no Labtox.

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.

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

LAUDO ELABORADO POR:	REVISADO POR:
Dra. Marcia Vieira Reynier CRBio-2 - 07135/02 	MSc Leila A. Silva Kraus CRBio-2 - 12156/02 

Rio de Janeiro, 30 de abril de 2007.