

**ENSAIO ECOTOXICOLÓGICO COM A FRAÇÃO DISPERSA EM
ÁGUA (FDA) DO PETRÓLEO 3-RJS-646-TFR-01B (TUPI)
(CÓDIGO LET 4108) UTILIZANDO *Lytechinus variegatus*
(ECHINODERMATA-ECHINOIDEA)**



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:

PETROBRAS/CENPES/PDP / PTAP
Av. Horácio Macedo, 950 - Cidade Universitária
Ilha do Fundão - Rio de Janeiro – RJ
CEP: 21941-915
Tel: (21) 3865-9333

Técnico solicitante: Lize Mirela Lopes de Almeida
e-mail: lizemirela@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 CEP: 21.941-904
Tel: (21) 3867-5651 / 3525-2466 / 3525-2442
e-mail: labtox@labtox.com.br

Laudo 7189 FDA LVC – REV 00

Rio de Janeiro
Fevereiro/2011

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: $CI_{50}(I)$: 0,76 - 2,22 mg.L⁻¹(05/01/2011)

DADOS DA AMOSTRA

Identificação da amostra pelo solicitante: Petróleo 3-RJS-646-TFR-01B
 TUPI
 Código LET 4108
 Data: Não informada

Código de entrada no Labtox: L718911 Data de entrada: 10/01/2011

Data de início do ensaio: 16/02/2011 Data de término: 17/02/2011

RESULTADOS
CENO(I) 125 ppm de óleo* CEO(I) 250 ppm de óleo*
VC(I) 176 ppm de óleo*
Controle: 85,0 % de pluteus
Ensaio com DSS (16/02/2011): 1,02 mg.L ⁻¹ (IC: 0,86 – 1,26 mg.L ⁻¹)

* Valores correspondentes a 12,5; 25 e 17,6 % 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 teve como objetivo determinar a toxicidade crônica de curta duração da fração dispersa em água (FDA), 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 2,0 mL de óleo para 2.000 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: 15,62; 31,25; 62,5; 125 e 250 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: 8,15.....OD: 7,00 mg.L ⁻¹
Solução-estoque:.....	Salinidade: 36‰.....pH: 8,17.....OD: 6,51 mg.L ⁻¹
Salinidade das soluções-teste.....	36 ‰
pH das soluções-teste:.....	8,11 a 8,15
Oxigênio dissolvido das soluções-teste.....	6,80 a 7,26 mg.L ⁻¹
Duração do ensaio.....	24 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 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).

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	85,0	62,5	82	84,0
	82				
	88				
	85				
15,62	86	86,0	125	88	83,5
	87				
	86				
	85				
31,25	84	84,2	250*	70	68,5
	83				
	85				
	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	0.145				
15,62	0.145	0.280		1.73	k= 1, v=18
31,25	0.158	0.419		1.82	k= 2, v=18
62,5	0.160	0.559		1.85	k= 3, v=18
125	0.165	0.839		1.86	k= 4, v=18
250	0.315	9.224	*	1.87	k= 5, v=18

s = 0.025

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



Rio de Janeiro, 14 de março de 2011.



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



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>