

**ENSAIO ECOTOXICOLÓGICO COM A FRAÇÃO SOLÚVEL EM  
ÁGUA (FSA) 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](mailto: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](mailto: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](mailto:labtox@labtox.com.br)

Laudo 7189 FSA LVC – REV 00

Rio de Janeiro  
Fevereiro/2011

## 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:  $CI_{50}(I)$ : 0,76 - 2,22 mg.L<sup>-1</sup>(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: 09/02/2011      Data de término: 10/02/2011

RESULTADOS	
<b>CENO(I)</b> 6,25 % da FSA	<b>CEO(I)</b> 12,5 % da FSA
<b>VC(I)</b> 8,84 % da FSA	
Controle: 80,2 % de pluteus	
Ensaio com DSS (09/02/2011): 1,65 mg.L <sup>-1</sup> (IC: 1,25 – 1,74 mg.L <sup>-1</sup> )	

FSA: Fração solúvel do óleo em água.

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 solúvel em água (FSA), sobre os embriões do ouriço-do-mar *Lytechinus variegatus*.



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>

## 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 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: 1,56; 3,12; 6,25; 12,5 e 25 % 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.....	05 + 1 controle*
Água de diluição.....	água do mar natural filtrada
Água de diluição:.....	Salinidade: 36‰.....pH: 8,23.....OD: 7,29 mg.L <sup>-1</sup>
Solução-estoque:.....	Salinidade: 36‰.....pH: 7,88.....OD: 5,42 mg.L <sup>-1</sup>
Salinidade das soluções-teste.....	36 ‰
pH das soluções-teste:.....	8,06 a 8,23
Oxigênio dissolvido das soluções-teste.....	7,17 a 7,46 mg.L <sup>-1</sup>
Duração do ensaio.....	25 horas
Resposta.....	retardamento no desenvolvimento embrionarlar 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 solúvel em água (FSA).

Solução-teste (% de FSA)	Pluteus Normais		Solução-teste (% de FSA)	Pluteus Normais	
	Número por réplica	% por solução- teste		Número por réplica	% por solução- teste
Controle	81	80,2	6,25	83	83,0
	80				
	78				
	82				
1,56	84	80,8	12,5*	70	68,0
	79				
	80				
	80				
3,12	80	81,0	25*	69	47,5
	83				
	81				
	80				

\* 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	0.190				
1,56	0.190	0.344		1.73	k= 1, v=18
3,12	0.190	0.344		1.82	k= 2, v=18
6,25	0.190	0.344		1.85	k= 3, v=18
12,5	0.320	2.208	*	1.86	k= 4, v=18
25	0.525	6.233	*	1.87	k= 5, v=18

s = 0.072

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.



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

## 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, 15 de março de 2011.



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](mailto:labtox@labtox.com.br)  
<http://www.labtox.com.br>