

**ENSAIO ECOTOXICOLÓGICO COM A MISTURA DOS PRODUTOS  
KLEEN MCT 511 (LIMPEZA ALCALINA) E KLEEN MCT 882  
(LIMPEZA ÁCIDA) (1:1) 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 5851 // 55 (21) 3525 2466  
Email: [labtox@labtox.com.br](mailto:labtox@labtox.com.br)  
<http://www.labtox.com.br>

SOLICITANTE:

PETROBRAS UO-BS/SMS/MA  
Av. Conselheiro Nébias, 159 – EDISA II - 5º Andar  
Paquetá – Santos – SP, CEP: 11.013-320  
Tel: (13) 3249-4142

Técnico solicitante: Roberto Alegria de Almeida  
e-mail: [alegria@petrobras.com.br](mailto:alegria@petrobras.com.br)

EXECUTADO POR:

LABTOX – Laboratório de Análise Ambiental Ltda  
Av. Carlos Chagas Filho, 791 - Pólo Bio-Rio  
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 0549 A LVC – Rev 00

Rio de Janeiro  
Setembro/2013

## 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 no desenvolvimento, até larva pluteus)

### 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:  $CI_{50}(I)$ : 1,46 - 2,51 mg.L<sup>-1</sup> (07/01/2013)

### DADOS DA AMOSTRA

Identificação da amostra pelo solicitante: Mistura dos produtos Kleen MCT 511 (Limpeza alcalina) e Kleen MCT 882 (Limpeza ácida) (1:1)

Código de entrada no Labtox: L0549A13      Data de entrada: 14/08/2013

Data de início do ensaio: 05/09/2013      Data de término: 06/09/2013

RESULTADOS	
<b>CENO(I)</b> 0,39 %	<b>CEO(I)</b> 0,78 %
<b>VC(I)</b> 0,55 %	
Controle: 87,5 % de pluteus	
Ensaio com DSS (05/09/2013): 2,47 mg.L <sup>-1</sup> (IC: 2,32 – 2,69 mg.L <sup>-1</sup> )	

IC: Intervalo de confiança.



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 5851 // 55 (21) 3525 2466  
 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 amostra, 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 5851 // 55 (21) 3525 2466  
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, 2012). 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

Utilizando os produtos Kleen MCT 511 e Kleen MCT 882, foram preparadas separadamente duas soluções na concentração de 2%, (v/v), com água desmineralizada. A mistura (1:1) destas soluções foi considerada como 100% (solução-estoque) e utilizada no preparo das seguintes soluções-teste, com água do mar: 0,39; 0,78; 1,56; 3,12; 6,25 e 12,5%. As soluções-teste foram estabelecidas em ensaio anterior.

## RESUMO DAS CONDIÇÕES DE ENSAIO

Tipo de ensaio.....	crônico
Temperatura de incubação.....	25 ± 2° 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.....	06 + 1 controle*
Água de diluição.....	água do mar natural filtrada
Água de diluição: .....	Salinidade: 34 ‰ .....OD: 8,14 mg.L <sup>-1</sup> .....pH: 7,96
Solução-estoque: .....	Salinidade: 08 ‰ .....OD: 8,37 mg.L <sup>-1</sup> .....pH: 8,51
Salinidade das soluções-teste.....	30 a 34 ‰
pH das soluções-teste:.....	7,96 a 8,03
Oxigênio dissolvido das soluções-teste.....	6,02 a 8,14 mg.L <sup>-1</sup>
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 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 5851 // 55 (21) 3525 2466  
 Email: labtox@labtox.com.br  
 http://www.labtox.com.br

Tabela I: Número de pluteus normais de *L. variegatus* por réplica e percentual médio de pluteus normais obtido no controle e nas diferentes soluções-teste.

Solução-teste (%)	Pluteus Normais		Solução-teste (%)	Pluteus Normais	
	Número por réplica	% por solução-teste		Número por réplica	% por solução-teste
Controle	85	87,5	3,12*	0	0,0
	93				
	84				
	88				
0,39	90	92,2	6,25*	0	0,0
	95				
	95				
	89				
0,78*	0	0,0	12,5*	0	0,0
	0				
	0				
	0				
1,56*	0	0,0			
	0				
	0				
	0				

\* Diferença significativa em relação ao 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
Controle	0.101				
0,39	0.101	1.126		1.83	k= 1, v= 9
0,78	1.000	41.479	*	1.93	k= 2, v= 9

s = 0.030 Note: df used for table values are approximate when v > 20.



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 5851 // 55 (21) 3525 2466

Email: labtox@labtox.com.br

http://www.labtox.com.br

## GARANTIA DOS RESULTADOS

Os dados apresentados neste laudo são confidenciais e referem-se unicamente aos resultados obtidos no(s) ensaio(s) com a(s) amostra(s) acima citada(s). 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. 2012. 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, 18 de setembro de 2013.



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 5851 // 55 (21) 3525 2466  
Email: labtox@labtox.com.br  
<http://www.labtox.com.br>