

**ENSAIO ECOTOXICOLÓGICO COM O FLUIDO BENTONITA
PRÉ-HIDRATADA – 8,9 LB/GAL 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
<http://www.labtox.com.br>

SOLICITANTE:

CHEVRON BRASIL PETRÓLEO LTDA
Av. República do Chile, 230 – 18º - Centro
Rio de Janeiro - RJ - CEP: 20.031-170
Tel: (21) 2510-5884 / 2510-5909

Técnico solicitante: Fernanda N. Othero
e-mail: fernanda.othero@chevron.com

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

Laudo 0577 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⁻¹ (07/01/2013)

DADOS DA AMOSTRA

Identificação da amostra pelo solicitante: Bentonita Pré-Hidratada

Peso: 8,9 lb/gal

Localização: Brasco

Data: 26/08/2013

Código de entrada no Labtox: L057713 Data de entrada: 29/08/2013

Data de início do ensaio: 09/09/2013 Data de término: 10/09/2013

Composição da amostra:

PRODUTOS	DESCRIÇÃO/ FUNÇÃO	CONCENTRAÇÃO	
		LPB	kg/m ³
ÁGUA	-	339,97	969,96
BENTONITA	Argila -Viscosificante	26,00	74,18
SODA CÁUSTICA	Hidróxido de Sódio - Controlador de pH	0,10	0,29



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



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

RESULTADOS	
A FPS do fluido não apresentou efeito crônico para <i>Lytechinus variegatus</i> , sendo observado 88,5% de pluteus na mesma.	
CENO(I) 1.000.000 ppm da FPS	CEO(I) >1.000.000 ppm da FPS
VC(I) Não calculado	
Controle: 87,5 % de pluteus	
Ensaio com DSS (09/09/2013): 2,03 mg.L ⁻¹ (IC: 1,94 – 2,12 mg.L ⁻¹)	
FPS: Fração Particulada Suspensa	IC: Intervalo de confiança

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*.

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 FPS, 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 mantida em temperatura inferior a 10° C até a realização do ensaio. O preparo da fração particulada suspensa (FPS), na proporção de 1:9, com água do mar, foi realizado com base na metodologia descrita em NBR 15.469 (ABNT, 2007). A partir da FPS (solução-estoque de 1.000.000 ppm), foram preparadas as seguintes soluções-teste: 62.500; 125.000; 250.000; 500.000 e 1.000.000 ppm da FPS.



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

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.....	05 + 1 controle*
Água de diluição.....	água do mar natural filtrada
Água de diluição:.....	Salinidade: 34 ‰.....OD: 7,93 mg.L ⁻¹pH: 8,03
Solução-estoque:.....	Salinidade: 31 ‰.....OD: 8,52 mg.L ⁻¹pH: 8,33
Salinidade das soluções-teste.....	31 a 35 ‰
pH das soluções-teste:.....	7,91 a 8,33
Oxigênio dissolvido das soluções-teste.....	6,61 a 8,52 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 (FPS), 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.

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 (ppm FPS)	Pluteus Normais		Solução-teste (ppm FPS)	Pluteus Normais	
	Número por réplica	% por solução- teste		Número por réplica	% por solução- teste
Controle	88	87,5	250.000	89	87,2
	89				
	87				
	86				
62.500	89	88,5	500.000	86	86,5
	88				
	88				
	89				
125.000	89	88,0	1.000.000	88	88,5
	88				
	88				
	87				



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

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	0.125				
62.500	0.124	0.064	1.73		k= 1, v=18
125.000	0.124	0.064	1.82		k= 2, v=18
250.000	0.124	0.064	1.85		k= 3, v=18
500.000	0.124	0.064	1.86		k= 4, v=18
1.000.000	0.115	1.026	1.87		k= 5, v=18

s = 0.014 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(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, 10 de outubro 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>