

**ENSAIO ECOTOXICOLÓGICO COM A ÁGUA PRODUZIDA
DA PLATAFORMA 33/13-2 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:

PETRÓLEO BRASILEIRO S.A. – PETROBRAS
US/AP - LF
Avenida Elias Agostinho, 665
Imbetiba - Macaé - RJ
CEP: 27.913-350

Técnico solicitante: Maria Aparecida Diniz
e-mail: mariadiniz@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

Laudo 0757 LVC – Rev 00

Rio de Janeiro
Novembro/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: Água produzida
Plataforma 33/13-2
Data: 17/09/2013

Código de entrada no Labtox: L075713 Data de entrada: 16/10/2013*

Data de início do ensaio: 07/11/2013 Data de término: 08/11/2013

*A amostra chegou congelada ao Labtox.

RESULTADOS	
CENO(I) 0,39 %	CEO(I) 0,78 %
VC(I) 0,55 %	
Controle: 97,0 % de pluteus	
Ensaio com DSS (07/11/2013): 2,22 mg.L ⁻¹ (2,15 - 2,28 mg.L ⁻¹)	

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*.

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

A amostra foi enviada congelada ao Labtox. No dia da montagem do ensaio foi descongelada em temperatura ambiente e utilizada como solução-estoque (100%) para o preparo das seguintes soluções-teste: 0,39; 0,78; 1,56; 3,12; 6,25 e 12,5 %. Estas soluções-teste foram estabelecidas em ensaio preliminar.



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.....	06 + 1 controle*
Água de diluição.....	água do mar natural filtrada
Água de diluição:Salinidade: 35 ‰OD: 7,96 mg.L ⁻¹pH: 8,05	
Solução-estoque:Salinidade: >100 ‰.....OD: 7,21 mg.L ⁻¹pH: 6,46	
Salinidade das soluções-teste.....	36 a 51 ‰
pH das soluções-teste:.....	7,78 a 8,06
Oxigênio dissolvido das soluções-teste.....	7,00 a 8,44 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 (amostra), 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	96	97,0	3,12*	0	0,0
	98				
	97				
	97				
0,39	94	95,2	6,25*	0	0,0
	96				
	94				
0,78*	86	82,0	12,5*	0	0,0
	81				
	83				
	78				
1,56*	62	61,5			
	64				
	59				
	61				

* 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	0.030				
0.39	0.048	1.154		1.78	k= 1, v=12
0.78	0.180	9.891	*	1.87	k= 2, v=12
1.56	0.385	23.408	*	1.90	k= 3, v=12

s = 0.021

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.



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>

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, 26 de novembro de 2013.