

Ensaio de ecotoxicidade crônica com *Echinometra lucunter*

Santos, 21 de Janeiro de 2019.

| Identificação do Cliente | | | |
|--------------------------|-----------------------------------|----------------|-----------|
| Empresa: | Petrobras Petróleo Brasileiro S.A | | |
| Endereço: | Rodovia Amaral Peixoto, 1100. | | |
| Bairro: | Imboassica | CEP: | 27973-030 |
| Cidade: | Macaé | Estado: | RJ |
| CNPJ: | 33.000.167/1055-58 | | |

| Informações de recebimento da(s) amostra(s) | | | | | |
|---|--|-----------------------------|----------|------------------------------------|-------------------------------|
| Identificação da amostra: | 1914180 – P-53 - 15337064 | | | | |
| Código Acqua da amostra: | 20102094 | | | | |
| Data da coleta: | 19/12/2018 | Hora da coleta: | 02h00min | Validade da Amostra | 17/02/2019 |
| Matriz: | Água Produzida | Volume Coletado: | 500mL | Tipo de frasco: | Polietileno de alta densidade |
| Data de recebimento: | 28/12/2018 | Hora de recebimento: | 13h00min | Temperatura de recebimento: | -21°C |
| Amostragem: | Realizada pelo contratante | | | | |
| Condições de recebimento: | Conforme | | | | |
| Condições de armazenamento: | A amostra foi mantida congelada abaixo de -10°C. | | | | |

| Dados do(s) ensaio(s) | | | | |
|-------------------------|--------------|--------------|------------|------------|
| Código da(s) amostra(s) | Data inicial | Hora inicial | Data final | Hora final |
| 20102094 | 16/01/2018 | 17h00min | 18/01/2018 | 10h30min |

| Resultado(s) | | | | |
|-------------------------|---------|--------|-------|--------------------|
| Código da(s) amostra(s) | CENO(I) | CEO(I) | VC(I) | Método estatístico |
| 20102094 | 0,05% | 0,10% | 0,07% | Dunnetts |

CENO(I) (concentração de efeito não observado): maior concentração nominal da amostra, o qual não é observado efeito sobre o desenvolvimento embriolarval dos organismos-teste, nas condições do ensaio.

CEO(I) (concentração de efeito observado): menor concentração nominal da amostra, o qual é observado efeito sobre o desenvolvimento embriolarval dos organismos-teste, nas condições do ensaio.

VC (valor crônico): média geométrica entre CENO(I) e CEO(I).

Ensaio de ecotoxicidade crônica com *Echinometra lucunter*

| Dados brutos do(s) ensaio(s) | | | | | | | | | | |
|------------------------------|----------|---------------------------------|----------|--|--------------------------------------|-------|-----------|-------|---------|-------|
| RESULTADOS | | | | | | | | | | |
| Conc. (%) | Réplicas | Nº de <i>pluteus</i> observados | | Total de <i>pluteus</i> normais observados (%) | Parâmetros físico-químicos do ensaio | | | | | |
| | | Normais | Anormais | | Salinidade | | OD (mg/L) | | pH | |
| | | | | | Inicial | Final | Inicial | Final | Inicial | Final |
| Controle | 1 | 81 | 19 | 81,75% | 32 | 33 | 7,96 | 6,38 | 8,02 | 7,92 |
| | 2 | 80 | 20 | | | | | | | |
| | 3 | 84 | 16 | | | | | | | |
| | 4 | 82 | 18 | | | | | | | |
| 0,025 | 1 | 77 | 23 | 77,75% | 31 | 33 | 7,92 | 6,98 | 8,08 | 8,00 |
| | 2 | 88 | 12 | | | | | | | |
| | 3 | 73 | 27 | | | | | | | |
| | 4 | 73 | 27 | | | | | | | |
| 0,05 | 1 | 90 | 10 | 81,00% | 31 | 33 | 8,52 | 6,88 | 8,09 | 8,00 |
| | 2 | 84 | 16 | | | | | | | |
| | 3 | 71 | 29 | | | | | | | |
| | 4 | 79 | 21 | | | | | | | |
| 0,10 | 1 | 61 | 39 | 70,00% | 31 | 33 | 8,01 | 6,78 | 8,08 | 8,02 |
| | 2 | 73 | 27 | | | | | | | |
| | 3 | 72 | 28 | | | | | | | |
| | 4 | 74 | 26 | | | | | | | |
| 0,20 | 1 | 60 | 40 | 61,00% | 31 | 33 | 7,86 | 7,03 | 8,07 | 8,05 |
| | 2 | 53 | 47 | | | | | | | |
| | 3 | 70 | 30 | | | | | | | |
| | 4 | 61 | 39 | | | | | | | |
| 0,39 | 1 | 51 | 49 | 50,00% | 31 | 33 | 7,92 | 6,66 | 8,07 | 7,99 |
| | 2 | 46 | 54 | | | | | | | |
| | 3 | 46 | 54 | | | | | | | |
| | 4 | 57 | 43 | | | | | | | |

Parâmetros físico-químicos: pH, OD, e Salinidade, do controle e de todas as diluições da amostra, devem ser medidos e registrados no início e ao final do ensaio.

Legenda: OD – oxigênio dissolvido.

Validação do Ensaio

- 1) Mínimo de 80% de larvas *pluteus* normal, no controle.

Ensaio de ecotoxicidade crônica com *Echinometra lucunter*

Análise estatística

Title: 20102094

File: 20102094

Transform:

NO TRANSFORMATION

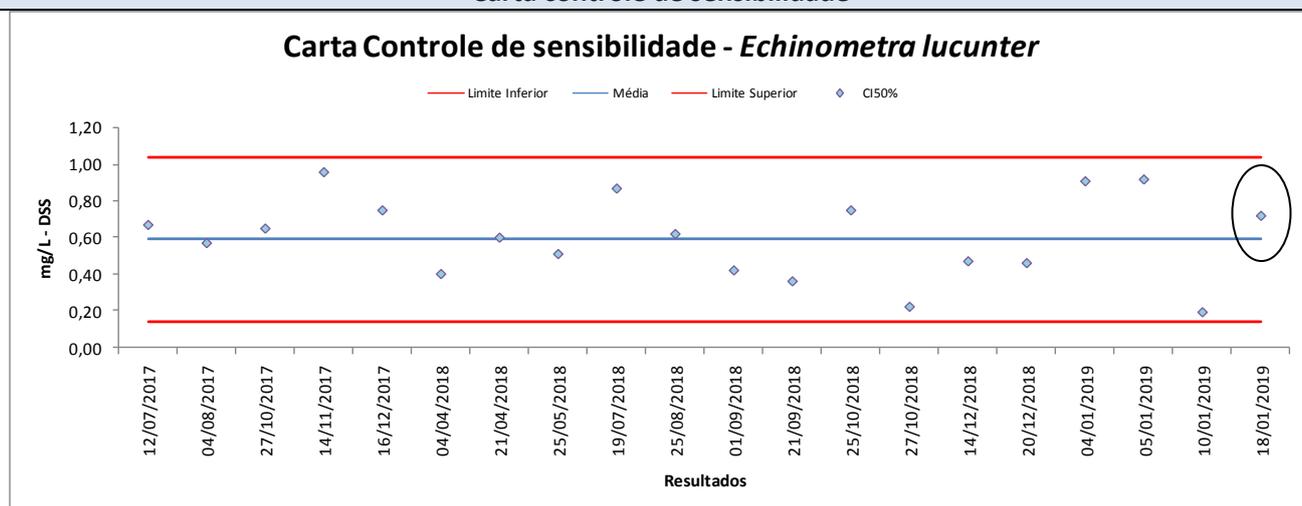
Dunnett's Test - TABLE 1 OF 2

Ho:Control<Treatment

| GROUP | IDENTIFICATION | TRANSFORMED MEAN | MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS | T STAT | SIG 0.05 |
|-------|----------------|------------------|-----------------------------------|--------|----------|
| 1 | controle | 81.7500 | 81.7500 | | |
| 2 | 0.025 | 77.7500 | 77.7500 | 0.9127 | |
| 3 | 0.05 | 81.0000 | 81.0000 | 0.1711 | |
| 4 | 0.10 | 70.0000 | 70.0000 | 2.6810 | * |
| 5 | 0.20 | 61.0000 | 61.0000 | 4.7345 | * |
| 6 | 0.39 | 50.0000 | 50.0000 | 7.2443 | * |

Dunnett critical value = 2.4100 (1 Tailed, alpha = 0.05, df = 5,18)

Carta controle de sensibilidade



Sensibilidade dos organismos-teste ao DSS

| | |
|------------------------------------|-----------------------|
| Data final do ensaio: | 18/01/2019 |
| Resultado do ensaio - CE50: | 0,72 mg/L |
| Limites da carta controle: | 0,15 mg/L – 1,04 mg/L |

Metodologia

| | |
|----------------------------|--|
| ABNT NBR 15350:2012 | Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica de curta duração – Método de ensaio com ouriço-do-mar (<i>Echinodermata, Echinoidea</i>). |
| ABNT NBR 15469:2015 | Ecotoxicologia – Coleta, preservação e preparo de amostras. |
| pH | SMEWW, 22a. ed., 2012 – Part 4500 – H+B |
| Salinidade | SMEWW, 22a. ed., 2012 – Part 2520 – B |
| Oxigênio dissolvido | SMEWW, 22a. ed., 2012 – Part 4500 – O+G |

Ensaio de ecotoxicidade crônica com *Echinometra lucunter*

| Resumo do método do ensaio | |
|---|--|
| Organismo-teste | <i>Echinometra lucunter</i> |
| Tipo de ensaio | Definitivo |
| Origem dos organismos | Ilha das Palmas – Santos/SP |
| Data de coleta dos organismos | 15/01/2019 |
| Tempo de aclimação | 24 horas |
| Idade dos organismos | Embriões com 2h a partir da fecundação |
| Volume da solução de ovos adicionado por réplica | 35µL |
| Nº de organismos utilizados | 2 machos e 2 fêmeas |
| Método de obtenção dos gametas | Injeção de KCl/Choque |
| Temperatura | 25,1°C a 25,8°C |
| Duração do ensaio | 42h |
| Ensaio | Estático |
| Água de diluição | Água Reconstituída |
| Data do preparo da água de diluição | 15/01/2019 |
| Salinidade | 32 |
| Luz | Usual do laboratório |
| Fotoperíodo | 16h de claro: 8h de escuro |
| Aeração | Não |
| Recipiente-teste | 20 mL |
| Número de soluções-teste | Cinco, mais o controle |
| A amostra sofreu ajustes dos parâmetros físico-químicos | Não – Salinidade da Amostra Bruta = 68 |
| Volume da solução-teste por réplica | 10 mL |
| Efeito observado | Anormalidade no desenvolvimento embriolarval |
| Expressão de resultado | CENO(I), CEO(I) e VC(I) |

Informações

O resultado refere-se exclusivamente a(s) amostra(s) analisada(s) e é proibida a reprodução parcial deste documento.

Responsável pela elaboração

Renata Rodrigues

CrBio: 113149/01-D

Coordenadora do laboratório