

**TESTE DE TOXICIDADE COM O PRODUTO SISBRAX SQO-40C ( CŁDIGO  
LET 2625) UTILIZANDO O OURIŁO-DO-MAR *Lytechinus variegatus*  
(Echinodermata-Echinoidea)**

SOLICITANTE:

CENPES/PDEDS/AMA/PETROBRAS  
Centro de Pesquisa Leopoldo Miguez de Mello  
Ilha do FundŁo – Cidade UniversitŁria – Q-7  
CEP: 21.949-900 - Tel: (21) 3865-6100

Executado por:

LABTOX – LaborŁrio de AnŁlise Ambiental Ltda  
Av. 24, s/nŁ - PŁlo BIO-RIO – LaborŁrio - 4  
Cidade UniversitŁria – Ilha do FundŁo  
Tel: (21) 3867-5651 / 3867-5501 ramal 220  
e-mail: labtox@biorio.org.br  
CEP: 21941-590

Teste 1054LVC



Rio de Janeiro

Av. 24, s/nŁ - Cidade UniversitŁria – Ilha do FundŁo – PŁlo BIO-RIO – Incubadeira 3-4  
CEP: 21941-590 – tel: (0XX21) 3867-5651 / 3867-5501 ramal 220

## 1 - OBJETIVO

Este teste, realizado em 16 de junho de 2003, teve como objetivo determinar a toxicidade crônica do produto Sisbrax SQO-40C (Código do LET 2625) sobre os embriões do ouriço *Lytechinus variegatus*.

## 2 - METODOLOGIA

O teste embriológico seguiu a Norma CETESB (1999). Este teste consiste na exposição dos ovos a diferentes concentrações da substância, avaliando-se a concentração que causa retardamento no desenvolvimento embriolarval e/ou ocorrência de anomalias nos organismos expostos, nas condições de teste.

A cada série de amostra testada é realizado um teste de toxicidade com o padrão, dodecil sulfato de sódio (DSS), com o objetivo de verificar se os organismos estão respondendo dentro da faixa de toxicidade previamente estabelecida.

### CÁLCULO DA CENO, CEO E VC

O valor de CENO (maior concentração utilizada que não causa efeito significativamente diferente do controle) e CEO (menor concentração utilizada que causa efeito significativamente diferente do controle) foi obtido através do teste de hipóteses utilizando-se o programa estatístico TOXSTAT versão 3.3 (Gulley *et al.*, 1991).

A normalidade e homocedasticidade da proporção de embriões desenvolvidos foi verificada através dos testes de "Chi-square" e "Bartlett", respectivamente. A estimativa dos valores de CENO e CEO foi feita através do teste paramétrico de "Williams".

Após a obtenção destes valores, foi calculado o VC (valor crônico), que representa a média geométrica de CENO e CEO e indica a concentração máxima aceitável da amostra.

## RESUMO DAS CONDIÇÕES DE TESTE

Tipo de teste.....	estático sem renovação
Temperatura de incubação.....	25 ± 0,5° C
Fotoperíodo.....	12:12h luz e 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 / diluição.....	04
Nº de diluições.....	8 + 1 controle*
Alimentação.....	sem alimentação
Água de diluição.....	água do mar natural filtrada (0,45 µm)
Salinidade da água.....	34 ± 1 ‰
Duração do teste.....	24 horas
Resposta.....	embriões mal formados ou com o desenvolvimento retardado
Expressão do resultado.....	CENO, CEO e VC
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.

## PREPARO DA AMOSTRA

A amostra de Sisbrax SQO-40C foi enviada ao Labtox pelo CENPES/PETROBRAS. Foi preparada uma solução-estoque de 1000 ppm (v/v) do produto, utilizando-se 0,5 mL do produto e avolumando para 500 mL com água do mar. A partir dessa solução foram retiradas alíquotas para as soluções- teste, sendo testadas as seguintes diluições: 7,8; 15,6; 31,3; 62,5; 125; 250; 500 e 1000 ppm (Fichas em anexo).



## VALIDADE DO TESTE

O teste EMBRIOLÓGICO é considerado válido quando:

- Apresentar no controle o mínimo de 80% de embriões no estágio de pluteus;
- Os parâmetros de qualidade da água estiverem dentro dos limites estabelecidos para a espécie;
- O resultado com a substância de referência estiver dentro do limite estabelecido para a espécie pelo Labtox (1,1 - 2,68 mg.L<sup>-1</sup>).

## 3 - RESULTADOS

Os dados brutos da contagem do número de pluteus mal formados e/ou com atraso no desenvolvimento são apresentados na tabela I.

O valor de CENO (concentração de efeito não observado) obtido com o produto Sisbrax SQO-40C (Código do LET 2625) foi de 62,5 ppm, o valor de CEO (concentração de efeito observado) foi de 125 ppm e o VC (valor crônico) de 88,39 ppm.

O valor médio do percentual de pluteus saudáveis obtido no controle foi de 87,25 % e a CE50 obtida com a substância de referência (DSS) foi de 1,31 mg.L<sup>-1</sup> (IC= 1,24 – 1,37 mg.L<sup>-1</sup>).

Os valores de oxigênio, pH e salinidade, encontram-se listados nas fichas em anexo e estiveram dentro dos limites aceitáveis para a espécie.

## 4 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. 1999. Água do mar. Teste de toxicidade crônica de curta duração com *Lytechinus variegatus*, Lamarck, 1816. Norma Técnica L5.250, São Paulo, Cetesb, 22 p

Gulley, D.D.; Boelter, A.M.; Bergman, H.L. 1991. "TOXSTAT Release 3.3", Laramie, WY University of Wyoming, 19 p.

L1054LVC

Tabela I: Número de pluteus afetados e saudáveis de *L. variegatus* obtidos nas diferentes concentrações do produto Sisbrax SQO-40C (Código do LET 2625) no teste conduzido em 16/06/2003.

Concentração (ppm)	Número de pluteus saudáveis	Número de pluteus afetados
Controle	90	10
	85	15
	86	14
	88	12
7,8	92	08
	88	12
	91	09
	89	11
15,6	90	10
	86	14
	82	08
	87	13
31,3	93	07
	90	10
	89	11
	87	13
62,5	87	13
	86	14
	83	17
	85	15
125*	74	26
	65	35
	63	37
	71	29
250*	30	70
	33	67
	31	69
	28	72
500*	0	100
	0	100
	0	100
	0	100
1000*	0	100
	0	100
	0	100
	0	100

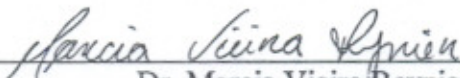
\* Estatisticamente diferente do controle

EQUIPE TÉCNICA

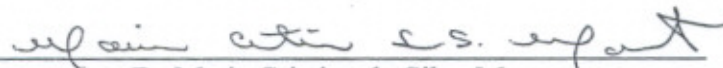
Rio de Janeiro, 27 de junho de 2003.



MSc Leila Aparecida da Silva Kraus  
Diretora Administrativa e Financeira  
CRB-2 - 12156/02



Dr Marcia Vieira Reynier  
Diretora Científica  
CRB-2 - 07135/02



Dr Maria Cristina da Silva Maurat  
Diretora Comercial  
CRB-2 - 12671/02

BIÓLOGA:

Carina C. Gomes Machado  
CRB-2 - 32963/02

Desideria Lima Calleja  
CRB-2 - 38219/02 P

AUXILIAR DE ANÁLISE:

Viviane Euzébio Luiz

## ANEXOS



Sisbrax SQO 40C - Cod LET 2625

File: t1054

Transform: NO TRANSFORMATION

WILLIAMS TEST (Isotonic regression model)

TABLE 1 OF 2

GROUP	IDENTIFICATION	N	ORIGINAL MEAN	TRANSFORMED MEAN	ISOTONIZED MEAN
1	0.0	4	0.128	0.128	0.111
2	7.8	4	0.100	0.100	0.111
3	15.6	4	0.113	0.113	0.111
4	31.3	4	0.103	0.103	0.111
5	62.5	4	0.148	0.148	0.148
6	125	4	0.318	0.318	0.318
7	250	4	0.695	0.695	0.695

Sisbrax SQO 40C - Cod LET 2625

File: t1054

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
0.0	0.111				
7.8	0.111	0.849		1.72	k= 1, v=2
15.6	0.111	0.849		1.80	k= 2, v=2
31.3	0.111	0.849		1.83	k= 3, v=2
62.5	0.148	1.006		1.84	k= 4, v=2
125	0.318	9.560	*	1.85	k= 5, v=2
250	0.695	28.554	*	1.85	k= 6, v=2

s = 0.028

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

*Handwritten signature*



TESTE N° 1054 Data: 16 / 06 / 03 Organismo-teste: L. variegatus

Tipo de teste: ( ) fecundação ( ☒ ) embriológico

Amostra: Subrax SQD 40 C - Cód LET 2625

Cód. de entrada no laboratório: L 105403

Data de entrada: 23 / 05 / 03 Data do preparo da amostra: — 104103

**DADOS DO SOBRENADANTE**

Salinidade: 36 ‰ pH: 4,26 OD: 3,95 mg/L

**AJUSTE DA SALINIDADE ( ) SIM ( ☒ ) NÃO**

Volume de água destilada	Volume de salmoura:	Volume de amostra:	Salinidade final da amostra:	Concentração final da amostra:
<u>—</u> mL	<u>—</u> mL	<u>—</u> mL	<u>—</u> ‰	<u>—</u> ppm

**SALMOURA**

Método de obtenção: — Salinidade: — ‰ pH: —

**AJUSTE DO pH ( ☒ ) SIM ( ) NÃO**

Volume da amostra:	Adição:	pH final:
<u>200</u> mL	<u>—</u> µL de HCl	<u>—</u>
	<u>650</u> µL de NaOH	<u>8,10</u>

**DADOS DA ÁGUA DE DILUIÇÃO**

Local de coleta: ANGRA DOS REIS Data: 03 / 06 / 03

Data de filtração: 15 / 06 / 03 Aeração: Data 16 / 06 / 03

Salinidade: 35 ‰ pH: 8,03 OD: 7,58 mg/L

TESTE N° 3054

Amostra: Sisamax 500 40°C - Cod. LET 2625

Solução-estoque: 1000 ppm Vol. final a ser preparado: 100 mL

Concentração ( )	Vol. Amostra a 100% adicionada (mL)	Vol. água do mar adicionada (mL)	Número dos tubos	
			leitura	F/Q
0,0	—	100	1-9	10
7,8	0,78	99,22	241-244	245
15,6	1,56	98,44	246-249	250
31,3	3,13	96,87	251-254	255
62,5	6,25	93,75	256-259	260
125	12,5	87,5	261-264	265
250	25	75	266-269	270
500	50	50	271-274	275
1000	100	—	276-279	280

OBS:

---



---



---



Temperatura: Sala:  $25 \pm 1$  °C Incubadora:  $25 \pm 0,5$  °C