

L1461LVC

**TESTE DE TOXICIDADE COM O FLUIDO DE PERFURAÇÃO BASE CAL
(CÓD. 3.4.7 – FLUIDO ARGILOSO) UTILIZANDO O OURIÇO-DO-MAR
Lytechinus variegatus (ECHINODERMATA-ECHINOIDEA)**

SOLICITANTE:

Petróleo Brasileiro S.A. - PETROBRAS
Rodovia Amaral Peixoto, 11.000 – Km 163
Imboassica - Macaé - RJ
CEP: 27925-290

Executado por:

LABTOX – Laboratório de Análise Ambiental Ltda
Av. 24, s/nº - Pólo Bio-Rio - Laboratório 4
Cidade Universitária – Ilha do Fundão
Tel: (21) 3867-5651 / 3867-5501 ramal 220
e-mail: labtox@labtox.com.br
CEP: 21941-590

Teste 1461 LVC

Rio de Janeiro

LAUDO DE TOXICIDADE

Órgão requisitante: Petróleo Brasileiro S.A. - PETROBRAS

Técnico requisitante: Hélio Gama

Endereço: Rodovia Amaral Peixoto, 11.000 – Km 163 - Imboassica - Macaé - RJ

Tel.: (22) 2761-2644/2761-9086

Avaliação solicitada: Teste embriológico

Organismo teste: *Lytechinus variegatus*

Tipo de teste: crônico de curta duração

Resposta do teste: Efeitos no desenvolvimento dos embriões (retardamento e/ou ocorrência de anomalias)

Identificação da amostra pelo solicitante: Fluido de Perfuração Base Cal

Código: 3.4.7 – Fluido Argiloso

Data: 12/07/2004

Código de entrada no Labtox: L146104

Data de entrada no Labtox: 12/07/2004

RESULTADOS
CENO 1.000.000 ppm CEO \geq 1.000.000 ppm VC = não calculado
Controle: 90,3 % de pluteus
DSS: CE(I)50 = 0,99 mg.L ⁻¹ (IC = 0,96 – 1,01 mg.L ⁻¹)

IC: Intervalo de confiança

1 - OBJETIVO

Este teste, realizado em 14 de julho de 2004, teve como objetivo determinar a toxicidade crônica do Fluido de perfuração Base Cal (Código 3.4.7 – Fluido Argiloso) sobre os embriões do ouriço *Lytechinus variegatus*.

2 – METODOLOGIA

O teste embriológico seguiu a Norma CETESB (1999), com adaptações. Este teste consiste na exposição dos ovos a diferentes diluições do fluido, avaliando-se a diluição 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

Avaliou-se a existência de diferença significativa entre o número de pluteus obtidos em cada concentração e o controle através do teste de “Williams”, utilizando-se o programa estatístico TOXSTAT versão 3.3 (Gulley *et al.*, 1991).

A normalidade e a homocedasticidade da proporção de embriões desenvolvidos foi verificada através dos testes de “Shapiro-Wilks” e “Bartlett”, respectivamente.

RESUMO DAS CONDIÇÕES DE TESTE

Tipo de teste.....	crônico
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.....	12 + 1 controle*
Água de diluição.....	água do mar natural filtrada (0,45 µm)
Salinidade da água.....	35 ± 1 ‰
Duração do teste.....	25 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 do fluido foi mantida em temperatura aproximada de 4°C, até a hora da realização do teste e sua preparação foi realizada com base nas metodologias propostas por API (1984); Duke *et al.* (1984) e Veiga (1998). Assim, a amostra foi homogeneizada em misturador industrial por 30 minutos a uma velocidade de 1.500 rpm e preparou-se um extrato aquoso na proporção de 1:9, utilizando-se 100 mL da amostra homogeneizada e 900 mL de água do mar. O extrato foi homogeneizado em misturador industrial por 5 minutos a 150 rpm e decantado por 1 hora. Após este período, a fração particulada suspensa (FPS) foi retirada e a partir dela (solução-estoque de 1.000.000 ppm) foram preparadas as soluções-teste, sendo testadas as seguintes diluições: 488; 977; 1.953; 3.906; 7.813; 15.625; 31.250; 62.500; 125.000; 250.000; 500.000 e 1.000.000 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;
- O resultado com a substância de referência estiver dentro do limite estabelecido para a espécie pelo Labtox que é de 0,83 a 3,20 mg.L⁻¹.

3 – RESULTADOS

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

Não foi observado efeito crônico do Fluido de perfuração Base Cal (Código 3.4.7 – Fluido Argiloso) sobre embriões de *L. variegatus*, com percentual médio de pluteus de 90,3% na maior concentração testada (1.000.000 ppm).

O valor médio do percentual de pluteus saudáveis obtido no controle foi de 90% e a CE(I)50 obtida com a substância de referência (DSS) foi de 0,99 mg.L⁻¹ (IC = 0,96 – 1,01 mg.L⁻¹).

Os valores de oxigênio, pH e salinidade, medidos no início e final do teste, nas diferentes diluições, encontram-se listados nas fichas em anexo.

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
0.0	0.097				
3906	0.080	0.803		1.70	k= 1, v=30
7813	0.077	0.937		1.78	k= 2, v=30
15625	0.077	0.937		1.80	k= 3, v=30
31250	0.077	0.937		1.81	k= 4, v=30
62500	0.077	0.937		1.82	k= 5, v=30
125000	0.077	0.937		1.83	k= 6, v=30
250000	0.077	0.937		1.83	k= 7, v=30
500000	0.064	1.549		1.83	k= 8, v=30
1000000	0.064	1.549		1.83	k= 9, v=30

s = 0.031

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

L1461LVC

Tabela I: Número de pluteus afetados e saudáveis de *L. variegatus* expostos a diferentes diluições do fluido de perfuração Base Cal (Cód. 3.4.7 – Fluido Argiloso) no teste conduzido em 14/07/2004.

Diluição (ppm)	Número de pluteus		Diluição (ppm)	Número de pluteus	
	Saudáveis	Afetados		Saudáveis	Afetados
Controle	90	10	31.250	92	08
	92	08		97	03
	89	11		89	11
	90	10		90	10
488	91	09	62.500	94	06
	97	03		97	03
	95	05		90	10
	94	06		91	09
977	96	04	125.000	89	11
	92	08		89	11
	95	05		91	09
	93	07		90	10
1.953	98	02	250.000	96	04
	97	03		89	11
	94	06		91	09
	92	08		93	07
3.906	95	05	500.000	95	05
	94	06		93	07
	90	10		98	02
	89	11		90	10
7.813	98	02	1.000.000	90	10
	91	09		92	08
	90	10		97	03
	97	03		94	06
15.625	95	05			
	90	10			
	89	11			
	97	03			

* Significativamente diferente do controle.

4 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- API - American Petroleum Institute 1984. Recommended practice. Standard procedure for liquid drilling fluid bioassays (Tentative). Washington (API RP 13H).
- 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.
- Duke, T.W.; Parrish, P.R.; Montgomery, R.M. Macauley, S.D.; Macauley, J.M.; Cripe, G.M. 1984. Acute toxicity of eight laboratory-prepared generic drilling fluids to mysids (*Mysidopsis bahia*). Gulf Breeze: Environmental Protection Agency. 4p.
- Gulley, D.D.; Boelter, A.M.; Bergman, H.L. 1991. "TOXSTAT Release 3.3", Laramie, WY University of Wyoming, 19 p.
- Veiga, L. F. 1998. Estudo da toxicidade marinha de fluidos de perfuração de poços de óleo e gás. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, 107p.

5 - EQUIPE TÉCNICA

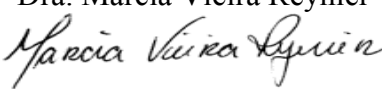
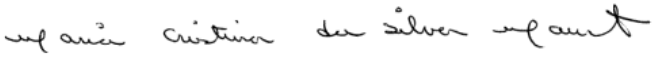
DIRETORAS:

MSc Leila Aparecida da Silva Kraus - CRB-2 - 12156/02
Dra. Marcia Vieira Reynier - CRB-2 - 07135/02
Dra. Maria Cristina da Silva Maurat - CRB-2 - 12671/02

BIÓLOGAS:

Carina C. Gomes Machado - CRB-2 – 32963/02
Desideria Lima Calleja - CRB-2 – 38219/02 P

AUXILIAR DE ANÁLISE: Viviane Euzébio Luiz

ELABORADO POR:	REVISADO POR
Dra. Marcia Vieira Reynier 	MSc. Leila A. da Silva Kraus 

Rio de Janeiro, 20 de julho de 2004.