

**TESTE DE TOXICIDADE DO FLUIDO DE PERFURAÇÃO SEM INIBIDOR
DE CORROSÃO 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@biorio.org.br
CEP: 21941-590

Teste 1042LVC

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 embriolarval

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)

Responsável pelo preparo da amostra: PETROBRAS

Identificação da amostra pelo solicitante: Fluido de perfuração sem inibidor de corrosão

Código 3.4.27.1

Data: 22/04/2003

Código de entrada no Labtox: L104203

RESULTADO DEFINITIVO	
TESTE EMBRIOLÓGICO	
CENO 488,0 ppm	CEO 976,0 ppm
VC = 690 ppm	
Controle: 87,25 % de pluteus	
DSS: CE50 1,31 mg.L ⁻¹ (IC = 1,24 – 1,37 mg.L ⁻¹)	

IC = Intervalo de confiança

1 - OBJETIVO

Este teste, realizado em 16 de junho de 2003, teve como objetivo determinar a toxicidade crônica do fluido de perfuração sem inibidor de corrosão sobre os embriões do ouriço *Lytechinus variegatus*.

2 – METODOLOGIA

O teste embriológico seguiu a metodologia descrita em CETESB (1999), modificada.

Ovos de *L. variegatus* foram expostos a diferentes concentrações do fluido, 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..... $25 \pm 0,5^{\circ} \text{C}$
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.....10 + 1 controle*
Alimentação.....sem alimentação
Água de diluição.....água do mar natural filtrada (0,45 μm)
Salinidade da água..... $34 \pm 1 \%$
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 *et al.*, 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 dos testes 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. Preparou-se, então, 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. Após 1 hora a fração particulada suspensa (FPS) foi retirada e a partir desta solução foram preparadas as soluções-teste, sendo testadas as seguintes diluições: 488; 976; 1.953; 3.906; 7.813; 15.625; 31.250; 62.500; 125.000 e 250.000 ppm (fichas em anexo).

VALIDADE DO TESTE

O teste 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 (0,83 – 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.

O valor de CENO (concentração de efeito não observado) obtido no teste realizado com o fluido de perfuração sem inibidor de corrosão foi de 488 ppm, o valor de CEO (concentração de efeito observado) foi de 976 ppm e o VC (valor crônico) de 690 ppm.

✱

L1042LVC

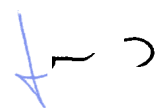
O valor médio do percentual de pluteus saudáveis obtido no controle foi de 87,25 % e a CE50 obtida com a substância de referência (DSS) foi de 1,31mg.L⁻¹ (IC = 1,24 – 1,37mg.L⁻¹).

Os valores de oxigênio, pH e salinidade, medidos no início e final do teste encontram-se listados nas fichas em anexo e estiveram dentro dos limites aceitáveis para a espécie.

Tabela I: Número de pluteus afetados e saudáveis de *L. variegatus* obtidos nas diferentes diluições do fluido de perfuração sem inibidor de corrosão no teste conduzido em 16/06/2003.

Concentração (ppm)	Número de pluteus		Concentração (ppm)	Número de pluteus	
	Saudáveis	Afetados		Saudáveis	Afetados
Controle	90	10	15.625*	0	100
	85	15		0	100
	86	14		0	100
	88	12		0	100
488	85	15	31.250*	0	100
	87	13		0	100
	83	17		0	100
	86	14		0	100
976*	80	20	62.500*	0	100
	74	26		0	100
	72	28		0	100
	77	23		0	100
1.953*	32	68	125.000*	0	100
	27	73		0	100
	30	70		0	100
	35	65		0	100
3.906*	0	100	250.000*	0	100
	0	100		0	100
	0	100		0	100
	0	100		0	100
7.813*	0	100			
	0	100			
	0	100			
	0	100			

* Estatisticamente 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.



EQUIPE TÉCNICA

Rio de Janeiro, 30 de julho de 2003.

Leila Aparecida da Silva Kraus

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

Marcia Vieira Reynier

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

Maria Cristina da Silva Maurat

Dr.^a Maria Cristina da Silva Maurat
Diretora Comercial
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

A N E X O S

21vc

: T10421vc

Transform: NO TRANSFORMATION

WILLIAMS TEST (Isotonic regression model) TABLE 1 OF 2

IDENTIFICATION	N	ORIGINAL MEAN	TRANSFORMED MEAN	ISOTONIZED MEAN
Controle	4	0.128	0.128	0.128
488	4	0.148	0.148	0.148
976	4	0.243	0.243	0.243
1953	4	0.690	0.690	0.690

21vc

: T10421vc

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	0.128				
488	0.148	1.006		1.78	k= 1, v=12
976	0.243	5.786	*	1.87	k= 2, v=12
1953	0.690	28.302	*	1.90	k= 3, v=12

0.028

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



TESTE N° 1042 Data: 16 / 05 / 03 Organismo-teste: L. saxatilis

Tipo de teste: () fecundação () embriológico

Amostra: Fluido sem inibidor de corrosão Cor. 34.42A

Cód. de entrada no laboratório: L104203

Data de entrada: 06 / 05 / 03 Data do preparo da amostra: 22 / 04 / 03

DADOS DO SOBRENADANTE

Salinidade: 35 ‰ pH: 8,00 OD: 6,17 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: — mL

Adição: — µL de HCl pH final: —
— µL de NaOH pH final: —

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° 1042

Amostra: Fluido sem tubagem de corrosão

Solução-estoque: 1.00.000 ppm Vol. final a ser preparado: 100 mL

Concentração (ppm)	Vol. Amostra a 100% adicionada (mL)	Vol. água do mar adicionada (mL)	Número dos tubos	
			leitura	F/Q
0,0	-	100	1-9	10
488	0,049	99,951	36-39	40
976	0,098	99,902	41-44	45
1953	0,195	99,805	46-49	50
3906	0,39	99,61	51-54	55
7813	0,78	99,22	56-59	60
15625	1,56	98,44	62-64	65
31250	3,13	96,87	66-69	70
62500	6,25	93,75	71-74	75
125000	12,5	87,5	76-79	80
250000	25	75	81-84	85
500000	50	50	86-89	90
1000000	100	-	91-94	95

OBS:

