

**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](mailto: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

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

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.....  $\pm 300$  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  $\mu\text{m}$ )  
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<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 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<sup>-1</sup> (IC = 1,24 – 1,37mg.L<sup>-1</sup>).

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.<sup>a</sup> Marcia Vieira Reynier  
Diretora Científica  
CRB-2 - 07135/02

*Maria Cristina da Silva Maurat*

Dr.<sup>a</sup> 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

## ANEXOS

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: 1.000.000 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:

