

L1841LVC

**TESTE DE TOXICIDADE COM O FLUIDO BR-MUL (CÓD. 1.1.9.1)
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 1841 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 embriolarval

Organismo teste: *Lytechinus variegatus*

Tipo de teste: crônico de curta duração

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

Identificação da amostra pelo solicitante: Fluido BR-MUL (Código 1.1.9.1)

Data de preparo: 21/03/2005

Código de entrada no Labtox: L184105

Data de entrada no Labtox: 22/03/2005

Data de início do teste: 29/03/2005

Data de término do teste: 30/03/2005

RESULTADOS	
CENO 500.000 ppm	CEO 1.000.000 ppm
VC 707.106 ppm	
Controle: 92 % de pluteus	
DSS: CE(I)50: 1,63 mg.L ⁻¹ (IC: 1,58 – 1,69 mg.L ⁻¹)	

IC: Intervalo de confiança

1 - OBJETIVO

Este teste, realizado em 29 de março de 2005, teve como objetivo determinar a toxicidade crônica do Fluido BR-MUL (Cód. 1.1.9.1) sobre os embriões do ouriço *Lytechinus variegatus*.

2 – METODOLOGIA

A determinação da toxicidade crônica em relação à *L. variegatus* seguiu a metodologia descrita em CETESB (1999). O 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

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 a homocedasticidade da proporção de larvas pluteus com desenvolvimento normal foi verificada através dos testes de “Shapiro-Wilks” e “Bartlett”, respectivamente. A estimativa dos valores de CENO e CEO foi feita através do teste de “Williams”.

Após a obtenção destes valores, foi calculado o VC (valor crônico), que representa a média geométrica de CENO e CEO.

VALIDADE DO TESTE

O teste é considerado válido quando:

- Apresentar no controle o mínimo de 80% de pluteus;
- O resultado do teste com a substância de referência estiver dentro do limite estabelecido para a espécie pelo Labtox, que é de 0,88 a 2,66 mg.L⁻¹.

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 50 mL da amostra homogeneizada e 450 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 desta (solução-estoque de 1.000.000 ppm) foram preparadas as soluções-teste, sendo testadas as seguintes diluições: 488; 976; 1.953; 3.906; 7.812; 15.625; 31.250; 62.500; 125.000; 250.000; 500.000 e 1.000.000 ppm (Fichas em anexo).

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 das soluções-teste.....	33 ± 1 ‰
Duração do teste.....	25 horas
Resposta.....	retardamento no desenvolvimento embrionário ou anomalias
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.

3 – RESULTADOS

Os dados brutos da contagem do número de pluteus normais e 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 BR-MUL (Cód. 1.1.9.1) foi de 500.000 ppm, o valor de CEO (concentração de efeito observado) foi de 1.000.000 ppm e o VC (valor crônico) de 707.106 ppm.

O valor médio do percentual de pluteus normais obtido no controle foi de 92% e a CE(I)50 obtida com a substância de referência (DSS) foi de 1,63mg.L⁻¹(IC: 1,58-1,69mg.L⁻¹).

Os valores de oxigênio dissolvido, 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	0.076				
3906	0.076	0.187		1.70	K= 1, v=30
7812	0.087	0.375		1.78	K= 2, v=30
15625	0.093	0.625		1.80	K= 3, v=30
31250	0.095	0.725		1.81	K= 4, v=30
62500	0.095	0.725		1.82	K= 5, v=30
125000	0.095	0.725		1.83	K= 6, v=30
250000	0.095	0.725		1.83	K= 7, v=30
500000	0.095	0.725		1.83	K= 8, v=30
1000000	0.588	25.375	*	1.83	K= 9, v=30

s = 0.028 Note: Df Used For Table Values Are Approximate When V > 20.

Tabela I: Número de pluteus normais e mal formados de *L. variegatus* expostos a diferentes diluições do Fluido BR-MUL (Cód. 1.1.9.1).

Diluição da FPS (ppm)	Número de pluteus		Diluição da FPS (ppm)	Número de pluteus	
	Normais	Mal formados		Normais	Mal formados
Controle	91	09	31.250	90	10
	96	04		91	09
	89	11		92	08
	92	08		89	11
488	92	08	62.500	89	11
	91	09		88	12
	90	10		91	09
	91	09		90	10
976	96	04	125.000	88	12
	95	05		93	07
	95	05		92	08
	92	08		90	10
1.953	96	04	250.000	91	09
	95	05		92	08
	92	08		90	10
	93	07		89	11
3.906	91	09	500.000	92	08
	94	06		93	07
	95	05		93	07
	91	09		88	12
7.812	94	06	1.000.000*	36	64
	91	09		43	57
	90	10		50	50
	90	10		36	64
15.625	93	07			
	91	09			
	90	10			
	89	11			

* Diferença significativa em relação ao 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:

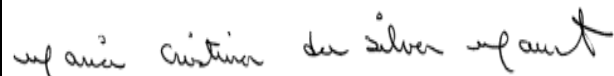
MSc Leila Aparecida da Silva Kraus - CRB-2 - 12156/02
Dra. Marcia Vieira Reynier - CRB-2 - 07135/02
Dra. Maria Cristina da Silva Maurat - CRB-2 - 12671/02

BIÓLOGAS:

Carina C. Gomes Machado - CRB-2 – 32963/02
Desideria Lima Calleja - CRB-2 – 38219/02 P
Viviane Euzébio Luiz - CRB-2 – 42.535/02 P

ELABORADO POR:

Dra. Maria Cristina da S. Maurat



REVISADO POR:

Dra. Marcia Vieira Reynier



Rio de Janeiro, 11 de abril de 2005.