

L2358LVC

**ENSAIO DE TOXICIDADE COM O FLUIDO DE PERFURAÇÃO BR MUL
(CÓDIGO 1.17) 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

Ensaio 2358 LVC

Rio de Janeiro

Avenida 24, s/nº - Polo Bio-Rio - Laboratório 4 - Cidade Universitária - Ilha do Fundão – Rio de Janeiro, RJ
CEP: 21941-590 – Tel:(21) 3867-5651/ 3867-5501 R: 220 – e-mail: labtox@labtox.com.br
Visite nosso site: www.labtox.com.br

LAUDO DE TOXICIDADE

Empresa solicitante: Petróleo Brasileiro S.A. - PETROBRAS

Técnico solicitante: Hélio Gama

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

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

Avaliação solicitada: Ensaio embrionarval

Organismo-teste: *Lytechinus variegatus*

Tipo de ensaio: crônico de curta duração

Tempo de exposição: 25h

Resposta do ensaio: Efeitos no desenvolvimento embrionarval (retardamento e/ou ocorrência de anomalias)

Substância de referência: DSS (Dodecil sulfato de sódio)

Faixa de sensibilidade dos organismos: 1,21 – 1,81 mg.L⁻¹ (31/10/2005)

Resultado do ensaio realizado com DSS em 21/11/2005: 1,54 mg.L⁻¹ (1,48 – 1,59 mg.L⁻¹)

Identificação da amostra pelo solicitante: Fluido de Perfuração BR MUL

Código: 1.17

Data de preparo: 09/11/2005

Código de entrada no Labtox: L235805

Data de entrada no Labtox: 11/11/2005

Data de início do ensaio: 21/11/2005

Data de término do ensaio: 22/11/2005

Obs₁: Os resultados apresentados neste laudo referem-se apenas ao ensaio realizado com a amostra acima citada.

Obs₂: Este laudo só pode ser reproduzido por completo. A reprodução de partes deste, só pode ser realizada com autorização escrita do Labtox.

RESULTADOS	
CENO 250.000 ppm da FPS	CEO 500.000 ppm da FPS
VC 353.553 ppm da FPS	
Controle: 87,75 % de pluteus	

FPS: Fração particulada suspensa

1 - OBJETIVO

Este ensaio, realizado em 21 de novembro de 2005, teve como objetivo determinar a toxicidade crônica do Fluido de Perfuração BR MUL (Código 1.17) 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), com adaptações. O ensaio consiste na exposição dos ovos a diferentes soluções-teste do fluido, avaliando-se a solução-teste que causa retardamento no desenvolvimento embriolarval e/ou ocorrência de anomalias nos organismos expostos, nas condições de ensaio.

A cada série de amostra testada é realizado um ensaio de toxicidade com a substância de referência, dodecil sulfato de sódio (DSS), com o objetivo de verificar se a sensibilidade dos organismos utilizados encontra-se dentro da faixa de toxicidade previamente estabelecida para a espécie.

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 “Dunnetts”.

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

VALIDADE DO ENSAIO

O ensaio é considerado válido quando:

- Apresentar no controle o mínimo de 80% de pluteus;
- O resultado do ensaio com a substância de referência estiver dentro do limite estabelecido para a espécie pelo Labtox, que é de 1,21 a 1,81 mg.L⁻¹.

PREPARO DA AMOSTRA

A amostra do fluido foi mantida em temperatura aproximada de 4°C até a hora da realização do ensaio e seu preparo foi realizado 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 600 mL da amostra homogeneizada e 5.400 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 seguintes soluções-teste: 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 da FPS (Fichas em anexo).

RESUMO DAS CONDIÇÕES DE ENSAIO

Tipo de ensaio.....	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 / solução-teste.....	04
Nº de soluções-teste.....	12 + 1 controle*
Água de diluição.....	água do mar natural filtrada
Salinidade das soluções-teste.....	33 ‰
Duração do ensaio.....	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 ensaio realizado com o Fluido de Perfuração BR MUL (Código 1.17) foi de 250.000 ppm da FPS, o CEO (concentração de efeito observado) foi de 500.000 ppm da FPS e o VC (valor crônico) foi de 353.553 ppm da FPS.

O valor médio do percentual de pluteus normais obtido no controle foi de 87,75 % e a CE(I)50 obtida com a substância de referência (DSS) foi de 1,54mg.L⁻¹ (IC:1,48–1,59 mg.L⁻¹).

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

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Transform: NO TRANSFORMATION

DUNNETTS TEST - TABLE 1 OF 2

Ho:Control>Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	0.0	0.123	0.123		
2	1953	0.070	0.070	-2.504	
3	3906	0.090	0.090	-1.550	
4	7812	0.078	0.078	-2.146	
5	15625	0.080	0.080	-2.027	
6	31250	0.080	0.080	-2.027	
7	62500	0.088	0.088	-1.669	
8	125000	0.090	0.090	-1.550	
9	250000	0.053	0.053	-3.339	
10	500000	0.188	0.188	3.100	*

Dunnett table value = 2.54 (1 Tailed Value, P=0.05, df=30,9)

Tabela I: Número de pluteus normais e mal formados de *L. variegatus* expostos a diferentes soluções-teste do Fluido de Perfuração BR MUL (Código 1.17).

Solução-teste (ppm da FPS)	Número de pluteus		Solução-teste (ppm da FPS)	Número de pluteus	
	Normais	Mal formados		Normais	Mal formados
Controle	86	14	31.250	92	08
	85	15		91	09
	88	12		90	10
	92	08		95	05
488	93	07	62.500	95	05
	95	05		91	09
	90	10		90	10
	90	10		89	11
976	90	10	125.000	90	10
	92	08		89	11
	89	11		92	08
	91	09		93	07
1.953	96	04	250.000	96	04
	93	07		95	05
	90	10		92	08
	93	07		96	04
3.906	93	07	500.000*	82	18
	92	08		74	26
	89	11		87	13
	90	10		82	18
7.812	97	03	1.000.000*	0	100
	90	10		0	100
	89	11		0	100
	93	07		0	100
15.625	91	09			
	89	11			
	96	04			
	92	08			

*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:


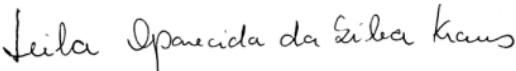
MSc Leila Aparecida da Silva Kraus - CRBio-2 - 12156/02
Dra. Marcia Vieira Reynier - CRBio-2 - 07135/02
Dra. Maria Cristina da Silva Maurat - CRBio-2 - 12671/02

BIÓLOGAS:

Carina C. Gomes Machado - CRBio-2 - 32963/02
Desideria Lima Calleja - CRBio-2 - 38219/02 P
Gabriele A. Correa da Rocha - CRBio-2 - 42.496/02 P
Viviane Euzébio Luiz - CRBio-2 - 42.535/02 P

ELABORADO POR:

REVISADO POR:

Dra. Maria Cristina da S. Maurat 	MSc Leila Aparecida da Silva Kraus 
---	--

Rio de Janeiro, 02 de dezembro de 2005.