

L2547LVC

**ENSAIO DE TOXICIDADE COM O FLUIDO DE PERFURAÇÃO BR-MUL  
(CÓDIGO 1.3) 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

Técnico solicitante: Hélio Gama  
e-mail: [heligama@petrobras.com.br](mailto:heligama@petrobras.com.br)

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](mailto:labtox@labtox.com.br)  
CEP: 21941-590

Laudo 2547 LVC

Rio de Janeiro

L2547LVC

## LAUDO DE TOXICIDADE

## DADOS DO ENSAIO

Avaliação solicitada: Ensaio Embriolarval

Organismo-teste: *Lytechinus variegatus*

Tipo de ensaio: Crônico de curta duração

Tempo de exposição: 28h

Resposta do ensaio: Efeito no desenvolvimento embriolarval (retardamento e/ou ocorrência de anomalias)

## VALIDADE DO ENSAIO

Desenvolvimento embriolarval no controle:  $\geq 80\%$ 

Sensibilidade do lote de organismos utilizados, à substância de referência, dentro da faixa estabelecida pelo Labtox

Substância de referência: DSS ( Dodecil sulfato de sódio)

Faixa de sensibilidade dos organismos:  $CI_{50}(I): 1,46 - 1,94 \text{ mg.L}^{-1}$  ( 21/02/2006 )

## DADOS DA AMOSTRA

Identificação da amostra pelo solicitante: Fluido de Perfuração BR-MUL – Código: 1.3

Código de entrada no Labtox: L254706

Data de entrada no Labtox: 13/01/2006

Data de início do ensaio: 18/04/2006

Data de término do ensaio: 19/04/2006

| RESULTADOS   |                               |
|--|-------------------------------|
| <b>CENO</b> 62.500 ppm da FPS  | <b>CEO</b> 125.000 ppm da FPS |
| <b>VC</b> 88.388 ppm da FPS  |                               |
| Controle: 85 % de pluteus  |                               |
| Ensaio com DSS (18/04/2006): $1,76 \text{ mg.L}^{-1}$ (IC: $1,69 - 1,82 \text{ mg.L}^{-1}$ ) |                               |

FPS: Fração Particulada Suspensa

IC: Intervalo de confiança

## 1 – OBJETIVO

Este ensaio, realizado em 18 de abril de 2006, teve como objetivo determinar a toxicidade crônica de curta duração do fluido de perfuração BR-MUL (Código 1.3), sobre os embriões do ouriço-do-mar *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 diluições do fluido, avaliando-se a solução-teste que causa retardamento no desenvolvimento embriolarval e/ou anomalias nos organismos expostos, nas condições de ensaio.

### ANÁLISE ESTATÍSTICA

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 Williams utilizando-se o programa estatístico TOXSTAT versão 3.3 (Gulley *et al.*, 1991).

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

### PREPARO DA AMOSTRA

A amostra do fluido foi mantida em temperatura inferior a 10°C até a realização do ensaio. O preparo da fração particulada suspensa (FPS), na proporção de 1:9, com água do mar, foi realizado com base nas metodologias propostas por API (1984); Duke *et al.* (1984) e Veiga (1998). A partir da FPS (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.

**RESUMO DAS CONDIÇÕES DE ENSAIO**

---

|  |   |
|--|---|
| Tipo de ensaio.....                          | crônico   |
| Temperatura de incubação.....                | 25 ± 1° 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.....           | 36 a 38 ‰   |
| pH das soluções-teste:.....                  | 8,05 a 8,21   |
| Oxigênio dissolvido das soluções-teste:..... | 5,75 a 6,76   |
| Duração do ensaio.....                       | 28 horas  |
| Resposta.....                                | retardamento no desenvolvimento embriolarval 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.

Os valores de oxigênio, pH e salinidade medidos no início e final do ensaio, encontram-se na lista de resumo das condições de ensaio.

L2547LVC

Tabela I: Número de pluteus normais e mal formados de *L. variegatus* obtidos nas diferentes diluições do fluido de perfuração BR-MUL (Código 1.3).

| Solução-teste<br>(ppm da FPS) | Número de pluteus |              | Solução-teste<br>(ppm da FPS) | Número de pluteus |              |
|-------------------------------|-------------------|--------------|-------------------------------|-------------------|--------------|
|                               | Normais           | Mal formados |                               | Normais           | Mal formados |
| Controle                      | 91                | 09           | 31.250                        | 89                | 11           |
|                               | 82                | 18           |                               | 85                | 15           |
|                               | 88                | 12           |                               | 82                | 18           |
|                               | 79                | 21           |                               | 81                | 19           |
| 488                           | 84                | 16           | 62.500                        | 84                | 16           |
|                               | 90                | 10           |                               | 83                | 17           |
|                               | 89                | 11           |                               | 88                | 12           |
|                               | 87                | 13           |                               | 79                | 21           |
| 976                           | 88                | 12           | 125.000*                      | 68                | 32           |
|                               | 86                | 14           |                               | 70                | 30           |
|                               | 91                | 09           |                               | 76                | 24           |
|                               | 89                | 11           |                               | 73                | 27           |
| 1.953                         | 90                | 10           | 250.000*                      | 68                | 32           |
|                               | 86                | 14           |                               | 59                | 41           |
|                               | 82                | 18           |                               | 73                | 27           |
|                               | 91                | 09           |                               | 66                | 34           |
| 3.906                         | 91                | 09           | 500.000*                      | 0                 | 100          |
|                               | 90                | 10           |                               | 0                 | 100          |
|                               | 87                | 13           |                               | 0                 | 100          |
|                               | 84                | 16           |                               | 0                 | 100          |
| 7.812                         | 90                | 10           | 1.000.000*                    | 0                 | 100          |
|                               | 87                | 13           |                               | 0                 | 100          |
|                               | 89                | 11           |                               | 0                 | 100          |
|                               | 83                | 17           |                               | 0                 | 100          |
| 15.625                        | 86                | 14           |                               |                   |              |
|                               | 89                | 11           |                               |                   |              |
|                               | 87                | 13           |                               |                   |              |
|                               | 78                | 22           |                               |                   |              |

\* Significativamente diferente do controle.

## 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 |
|----------------|-----------------|----------------|-----------|----------------|--------------------|
| Controle       | 0.128           |                |           |                |                    |
| 488            | 0.128           | 0.850          |           | 1.70           | k= 1, v=30         |
| 976            | 0.128           | 0.850          |           | 1.78           | k= 2, v=30         |
| 1953           | 0.128           | 0.850          |           | 1.80           | k= 3, v=30         |
| 3906           | 0.128           | 0.850          |           | 1.81           | k= 4, v=30         |
| 7812           | 0.128           | 0.850          |           | 1.82           | k= 5, v=30         |
| 15625          | 0.150           | 0.000          |           | 1.83           | k= 6, v=30         |
| 31250          | 0.158           | 0.283          |           | 1.83           | k= 7, v=30         |
| 62500          | 0.165           | 0.567          |           | 1.83           | k= 8, v=30         |
| 125000         | 0.283           | 5.008          | *         | 1.83           | k= 9, v=30         |

s = 0.037

Note: df used for table values are approximate when v &gt; 20.

**GARANTIA DOS RESULTADOS**

Os dados apresentados nesse laudo são confidenciais e referem-se unicamente aos resultados obtidos no ensaio com a amostra acima citada. Os dados brutos encontram-se à disposição da Empresa solicitante no Labtox.

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

**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. (Echinodermata, Echinoidea)*. Norma Técnica L5.250, São Paulo, Cetesb, 22p.
- 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 (EPA-600/s3-84-067).
- 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, 126p.

## 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 – 42496/02 P

Viviane Euzébio Luiz – CRBio-2 – 42.535/02 P

ELABORADO POR:

Dra. Marcia Vieira Reynier



REVISADO POR:

MSc Leila Aparecida da Silva Kraus



Rio de Janeiro, 04 de maio de 2006.