

L1481LVC

**TESTE DE TOXICIDADE COM O FLUIDO DE PERFURAÇÃO SALGADO (NaCl)  
TRATADO COM POLIACRILAMIDA (CÓD. 2.4) 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](mailto:labtox@labtox.com.br)  
CEP: 21941-590

Teste 1481 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 embriológico

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)

Identificação da amostra pelo solicitante: Fluido de Perfuração Salgado (NaCl) Tratado com Poliacrilamida

Tipo de amostra: Fluido aquoso

Código: 2.4

Data: 05/08/2004

Código de entrada no Labtox: L148104

Data de entrada no Labtox: 06/08/2004

RESULTADOS
CEO > 1.000.000 ppm
Controle: 89,75 % de pluteus
DSS: CE(I)50 = 1,43 mg.L <sup>-1</sup> (IC = 1,38 – 1,49 mg.L <sup>-1</sup> )

IC: Intervalo de confiança

## 1 - OBJETIVO

Este teste, realizado em 18 de agosto de 2004, teve como objetivo determinar a toxicidade crônica do Fluido de Perfuração Salgado (NaCl) Tratado com Poliacrilamida (Código 2.4) sobre os embriões do ouriço *Lytechinus variegatus*.

## 2 – METODOLOGIA

O teste embriológico seguiu a Norma CETESB (1999), com adaptações. Este 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

Avaliou-se a existência de diferença significativa entre o número de pluteus obtidos em cada concentração e o controle através do teste de “Williams”, utilizando-se o programa estatístico TOXSTAT versão 3.3 (Gulley *et al.*, 1991).

A normalidade e a homocedasticidade da proporção de pluteus bem desenvolvidos foi verificada através dos testes de “Shapiro-Wilks” e “Bartlett”, respectivamente.

## 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.....	35 ± 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 <i>et al.</i> , 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 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 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 por 1 hora. Após este período, a fração particulada suspensa (FPS) foi retirada e a partir desta solução-estoque (1.000.000 ppm) foram preparadas as soluções-teste, sendo testadas as seguintes diluições: 488; 977; 1.953; 3.906; 7.813; 15.625; 31.250; 62.500; 125.000; 250.000; 500.000 e 1.000.000 ppm (Fichas em anexo).

## VALIDADE DO TESTE

O teste EMBRIOLÓGICO é considerado válido quando:

- Apresentar no controle o mínimo de 80% de pluteus;
- O resultado com a substância de referência estiver dentro do limite estabelecido para a espécie pelo Labtox que é de 0,83 a 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 Fluido de Perfuração Salgado (NaCl) Tratado com Poliacrilamida (código 2.4) não apresentou efeito crônico para embriões de *Lytechinus variegatus*, sendo observado na maior diluição testada (1.000.000 ppm) um percentual de 93,5% de pluteus saudáveis.

O valor médio do percentual de pluteus saudáveis obtido no controle foi de 89,75 % e a CE(I)50 obtida com a substância de referência (DSS) foi de 1,43 mg.L<sup>-1</sup> (IC = 1,38 – 1,49 mg.L<sup>-1</sup>).

Os valores de oxigênio, 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	0.102				
3906	0.098	0.248		1.70	k= 1, v=30
7813	0.091	0.559		1.78	k= 2, v=30
15625	0.091	0.559		1.80	k= 3, v=30
31250	0.091	0.559		1.81	k= 4, v=30
62500	0.091	0.559		1.82	k= 5, v=30
125000	0.089	0.683		1.83	k= 6, v=30
250000	0.089	0.683		1.83	k= 7, v=30
500000	0.079	1.180		1.83	k= 8, v=30
1000000	0.079	1.180		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 afetados e saudáveis de *L. variegatus* expostos a diferentes diluições do Fluido de Perfuração Salgado (NaCl) Tratado com Poliacrilamida (Cód. 2.4) no teste conduzido em 18/08/2004.

Diluição (ppm)	Número de pluteus		Diluição (ppm)	Número de pluteus	
	Saudáveis	Afetados		Saudáveis	Afetados
Controle	96	04	31.250	91	09
	85	15		89	11
	90	10		90	10
	88	12		90	10
488	87	13	62.500	88	12
	83	17		90	10
	90	10		91	09
	85	15		89	11
977	90	10	125.000	93	07
	91	09		95	05
	95	05		89	11
	89	11		90	10
1.953	92	08	250.000	89	11
	91	09		91	09
	96	04		90	10
	89	11		92	08
3.906	95	05	500.000	90	10
	90	10		94	06
	89	11		96	04
	87	13		89	11
7.813	90	10	1.000.000	95	05
	89	11		93	07
	92	08		96	04
	95	05		90	10
15.625	90	10			
	96	04			
	95	05			
	89	11			

#### 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

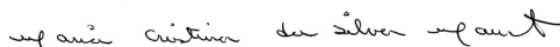
COORDENADORA DE PESQUISA E TECNOLOGIA: Viviane Euzébio Luiz

##### BIÓLOGAS:

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

ELABORADO POR:

Dra. Maria Cristina da S. Maurat



REVISADO POR:

MSc. Leila A. da Silva Kraus



Rio de Janeiro, 31 de agosto de 2004.