

L1485LVC

**TESTE DE TOXICIDADE COM O FLUIDO DE PERFURAÇÃO SALGADO (KCl)
TRATADO COM POLÍMERO CATIÔNICO (CÓD. 2.52) 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 1485 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 (KCl) tratado com Polímero Catiônico
Tipo de amostra: Fluido aquoso Código: 2.52
Data: 05/08/2004

Código de entrada no Labtox: L148504

Data de entrada no Labtox: 06/08/2004

| RESULTADOS | |
|---|-------------------|
| CENO 500.000 ppm | CEO 1.000.000 ppm |
| VC = 707.106 ppm | |
| Controle: 89,75 % de pluteus | |
| DSS: CE(I)50 = 1,43 mg.L ⁻¹ (IC = 1,38 – 1,49 mg.L ⁻¹) | |

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 (KCl) tratado com Polímero Catiônico (Código 2.52) 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

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 embriões desenvolvidos 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 e indica a concentração máxima aceitável da amostra.

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⁻¹.

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 com o Fluido de Perfuração Salgado (KCl) tratado com Polímero Catiônico (Código 2.52) 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 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⁻¹ (IC = 1,38 – 1,49 mg.L⁻¹).

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 |
|----------------|-----------------|----------------|-----------|----------------|--------------------|
| Controle | 0.102 | | | | |
| 62500 | 0.108 | 0.163 | | 1.73 | k= 1, v=18 |
| 125000 | 0.119 | 0.530 | | 1.82 | k= 2, v=18 |
| 250000 | 0.119 | 0.530 | | 1.85 | k= 3, v=18 |
| 500000 | 0.133 | 0.978 | | 1.86 | k= 4, v=18 |
| 1000000 | 0.295 | 6.279 | * | 1.87 | k= 5, v=18 |

s = 0.043 Note: df used for table values are approximate when v > 20.

L1485LVC

Tabela I: Número de pluteus afetados e saudáveis de *L. variegatus* expostos a diferentes diluições do Fluido de Perfuração Salgado (KCl) tratado com Polímero Catiônico (Código 2.52) 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 | 87 | 13 |
| | 85 | 15 | | 89 | 11 |
| | 90 | 10 | | 90 | 10 |
| | 88 | 12 | | 86 | 14 |
| 488 | 95 | 05 | 62.500 | 88 | 12 |
| | 89 | 11 | | 91 | 09 |
| | 87 | 13 | | 89 | 11 |
| | 91 | 09 | | 89 | 11 |
| 977 | 90 | 10 | 125.000 | 89 | 11 |
| | 89 | 11 | | 90 | 10 |
| | 89 | 11 | | 87 | 13 |
| | 88 | 12 | | 85 | 15 |
| 1.953 | 91 | 09 | 250.000 | 89 | 11 |
| | 89 | 11 | | 88 | 12 |
| | 87 | 13 | | 87 | 13 |
| | 88 | 12 | | 90 | 10 |
| 3.906 | 89 | 11 | 500.000 | 87 | 13 |
| | 86 | 14 | | 89 | 11 |
| | 89 | 11 | | 89 | 11 |
| | 90 | 10 | | 82 | 18 |
| 7.813 | 85 | 15 | 1.000.000* | 73 | 27 |
| | 88 | 12 | | 58 | 42 |
| | 87 | 13 | | 74 | 26 |
| | 90 | 10 | | 77 | 23 |
| 15.625 | 86 | 14 | | | |
| | 89 | 11 | | | |
| | 90 | 10 | | | |
| | 89 | 11 | | | |

*Significativamente 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.

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: | REVISADO POR: |
|---|--|
| Dra. Marcia Vieira Reynier | MSc. Leila A. da Silva Kraus |
|  |  |

Rio de Janeiro, 3 de setembro de 2004.