

L1479LVC

**TESTE DE TOXICIDADE COM O FLUIDO DE PERFURAÇÃO VISCOSO
COM OBTURANTES (CÓD. 3.2) 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 1479 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 Viscoso com Obturantes

Tipo de amostra: Fluido aquoso

Código: 3.2

Data: 05/08/2004

Código de entrada no Labtox: L147904

Data de entrada no Labtox: 06/08/2004

RESULTADOS
CEO > 1.000.000 ppm
Controle: 87,75 % de pluteus
DSS: CE(I)50 = 1,53 mg.L ⁻¹ (IC = 1,46 – 1,60 mg.L ⁻¹)

IC: Intervalo de confiança

1 - OBJETIVO

Este teste, realizado em 11 de agosto de 2004, teve como objetivo determinar a toxicidade crônica do Fluido de Perfuração Viscoso com Obturantes (Código 3.2) 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 “Dunnetts”, 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.....	29 a 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 Fluido de Perfuração Viscoso com Obturantes (código 3.2) não apresentou efeito crônico para embriões de *Lytechinus variegatus*, sendo observado na maior diluição testada (1.000.000 ppm) um percentual de 87,75% de pluteus saudáveis.

O valor médio do percentual de pluteus saudáveis obtido no controle foi de 87,75 % e a CE(I)50 obtida com a substância de referência (DSS) foi de 1,53 mg.L⁻¹ (IC = 1,46 – 1,60 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

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	3906	0.120	0.120	-0.192	
3	7813	0.118	0.118	-0.384	
4	15625	0.100	0.100	-1.728	
5	31250	0.102	0.102	-1.536	
6	62500	0.130	0.130	0.576	
7	125000	0.097	0.097	-1.920	
8	250000	0.115	0.115	-0.576	
9	500000	0.095	0.095	-2.112	
10	1000000	0.113	0.113	-0.768	

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

Tabela I: Número de pluteus afetados e saudáveis de *L. variegatus* expostos a diferentes diluições do Fluido de Perfuração Viscoso com Obturantes (Cód. 3.2) no teste conduzido em 11/08/2004.

Diluição (ppm)	Número de pluteus		Diluição (ppm)	Número de pluteus	
	Saudáveis	Afetados		Saudáveis	Afetados
Controle	89	11	31.250	88	12
	87	13		90	10
	90	10		91	09
	85	15		90	10
488	95	05	62.500	87	13
	90	10		88	12
	89	11		85	15
	91	09		88	12
977	92	08	125.000	92	08
	87	13		90	10
	90	10		89	11
	89	11		90	10
1.953	90	10	250.000	86	14
	89	11		89	11
	90	10		92	08
	88	12		87	13
3.906	87	13	500.000	90	10
	91	09		89	11
	88	12		91	09
	86	14		92	08
7.813	89	11	1.000.000	90	10
	88	12		88	12
	90	10		91	09
	86	14		86	14
15.625	88	12			
	90	10			
	90	10			
	92	08			

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 Realease 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

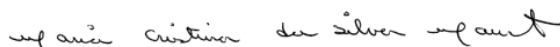
COORDENADORA DE PESQUISA E TECNOLOGIA: Viviane Euzébio Luiz

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, 30 de agosto de 2004.