

**TESTE DE TOXICIDADE CRÔNICA COM EXTRATO DO ÓLEO DO POÇO  
7 – ABL – 11H –RJS - CAMPO ALBACORA LESTE (MÉTODO ANDERSON)  
UTILIZANDO O OURIÇO-DO-MAR *Lytechinus variegatus*  
(Echinodermata-Echinoidea)**

SOLICITANTE:

Petróleo Brasileiro S.A. – PETROBRAS / SMS  
Rua Moraes e Silva, 40 – 10º andar, Maracanã, RJ  
CEP: 20171-030 - Tel: (21) 3876-0314

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

Teste 1274ALVC

Rio de Janeiro

## LAUDO DE TOXICIDADE

Órgão requisitante: Petróleo Brasileiro S.A. - Segurança, Meio Ambiente e Saúde

Técnico requisitante: Patrícia Cotta

Endereço: Rua Moraes e Silva, 40 – 10º andar, Maracanã, RJ, CEP: 20171-030

Telefone: (21) 3876-0314

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: Óleo do Poço: 7 – ABL – 11 H - RJS  
Campo de Albacora Leste  
Data: 26/02/2003

Código de entrada no Labtox: L127403

Data de entrada no laboratório: 04/12/2003

Autorização para realização do teste: 19/12/2003

RESULTADOS	
<b>CENO</b> 0,78 % da FSA	<b>CEO</b> 1,56 % da FSA
<b>VC</b> = 1,10 % da FSA	
Controle: 88 % de pluteus	
DSS: CE(I)50 = 1,32 mg.L <sup>-1</sup> (IC = 1,26 – 1,38 mg.L <sup>-1</sup> )	

IC = Intervalo de confiança

## 1 - OBJETIVO

Este teste, realizado em 22 de dezembro de 2003, teve como objetivo determinar a toxicidade crônica do extrato do óleo do Poço 7 – ABL – 11H – RJS - Campo de Albacora Leste (Método Anderson) sobre os embriões do ouriço *Lytechinus variegatus*.

## 2 - METODOLOGIA

O teste embriológico seguiu a Norma CETESB (1999). Este teste consiste na exposição dos ovos a diferentes diluições da substância, avaliando-se a concentração 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 homocedasticidade da proporção de embriões desenvolvidos foi verificada através dos testes de “Chi-square” e “Bartlett”, respectivamente. A estimativa dos valores de CENO e CEO foi feita através do teste paramétrico 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.....	estático sem renovação
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.....	8 + 1 controle*
Alimentação.....	sem alimentação
Água de diluição.....	água do mar natural filtrada (0,45 µm)
Salinidade da água.....	34 ± 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 de óleo foi enviada ao Labtox pela Petrobras. A Fração Solúvel do óleo em Água (FSA) foi preparada na proporção 1:9 (v/v) seguindo a metodologia descrita em Anderson *et al.* (1974). Esta mistura foi agitada em agitador magnético por 20 horas em frasco Mariotte, com vórtex medindo 1/3 do volume total, e decantada por uma hora. Após esse período a fração aquosa foi retirada e, a partir dessa solução-estoque (100% da FSA) foram preparadas as soluções-teste, sendo testadas as seguintes diluições: 0,78, 1,56, 3,13, 6,25, 12,5; 25,0; 50,0 e 100% da FSA (Fichas em anexo).

#### VALIDADE DO TESTE

O teste EMBRIOLÓGICO é considerado válido quando:

- Apresentar no controle o mínimo de 80% de embriões no estágio de pluteus;
- O resultado com a substância de referência estiver dentro do limite estabelecido para a espécie pelo Labtox (0,83 – 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 valor de CENO (concentração de efeito não observado) foi de 0,78 % da FSA, o valor de CEO (concentração de efeito observado) foi de 1,56 % da FSA e o VC (valor crônico) de 1,10 % da FSA.

O valor médio do percentual de pluteus saudáveis obtido no controle foi de 88% e a CE(I)50 obtida com a substância de referência (DSS) foi de 1,32 mg.L<sup>-1</sup> (IC = 1,26 – 1,38 mg.L<sup>-1</sup>).

Os valores de oxigênio dissolvido, pH e salinidade, medidos no início e no final dos testes, nas diferentes diluições, encontram-se listados nas fichas em anexo.

Tabela I: Número de pluteus afetados e saudáveis de *L. variegatus* expostos a diferentes diluições do extrato do óleo do Poço 7 – ABL – 11H – RJS - Campo de Albacora Leste (Método Anderson) no teste conduzido em 22/12/2003.

Diluição da FSA (%)	Número de pluteus	
	Saudáveis	Afetados
Controle	85	15
	91	09
	87	13
	89	11
0,78	83	17
	85	15
	86	14
	87	13
1,56*	77	23
	78	22
	79	21
	79	21
3,13*	53	47
	62	38
	56	44
	50	50
6,25*	56	44
	48	52
	42	58
	34	66
12,5*	29	71
	32	68
	21	79
	22	78
25*	11	89
	08	92
	03	97
	07	93
50*	0	100
	0	100
	0	100
	0	100
100*	0	100
	0	100
	0	100
	0	100

\* Significativamente diferente do controle

#### 4 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Anderson, J.W. *et al.* 1974. Characteristics of dispersal and water soluble extracts of crude and refined oil and their toxicity to marine crustaceans and fish. *Marine Biol* vol 27, pgs 75-78.

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

Gulley,D.D.; Boelter,A.M.; Bergman,H.L. 1991. “*TOXSTAT Realease 3.3*”, Laramie, WY University of Wyoming, 19 p.

## 5 - EQUIPE TÉCNICA

Rio de Janeiro, 11 de janeiro de 2004.

*Leila Aparecida da Silva Kraus*

MSc Leila Aparecida da Silva Kraus  
CRB-2 - 12156/02

*Marcia Vieira Reynier*

Dra. Marcia Vieira Reynier  
CRB-2 - 07135/02

*Dr. Maria Cristina da Silva Maurat*

Dra. Maria Cristina da Silva Maurat  
CRB-2 - 12671/02

### BIÓLOGA:

Carina C. Gomes Machado  
CRB-2 – 32963/02

Desideria Lima Calleja  
CRB-2 – 38219/02 P

### AUXILIAR DE ANÁLISE:

Viviane Euzébio Luiz

## ANEXOS