

**TESTE DE TOXICIDADE CRÔNICA COM O EXTRATO DO ÓLEO DO POÇO  
7 – ABL –11H – RJS - CAMPO ALBACORA LESTE (MÉTODOS TARZWELL)  
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 1274TLVC

Rio de Janeiro

## LAUDO DE TOXICIDADE

Órgão requisitante: Petróleo Brasileiro S.A. - PETROBRAS

Técnico requisitante: Patrícia Cotta

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

Telefone: (21) 3876-0314

Avaliação solicitada: Teste embriolarval

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 – 11H - RJS  
Campo de Albacora  
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> 31,25 ppm da FDA	<b>CEO</b> 62,5 ppm da FDA
VC = 44,19 ppm da FDA	
Controle: 88% de pluteus	
DSS: CE50 = 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 da amostra do Óleo do Poço 7 – ABL – 11H – RJS - Campo de Albacora Leste (Método Tarzwell) 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). 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.

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”.

## 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. Foi preparada uma solução-estoque de 1000 ppm (v/v) da Fração Dispersa do óleo em Água (FDA), colocando-se 3 mL de óleo e avolumando-se para 3 litros com água do mar, seguindo a metodologia descrita em Tarzwell (1969). Esta mistura foi agitada em um homogeneizador elétrico por 5 segundos a uma velocidade de 13.000 rpm. A solução foi decantada e, após esse período, a fração dispersa foi retirada e a partir dessa solução-estoque (1000 ppm da FDA) foram preparadas as soluções-teste, sendo testadas as seguintes diluições: 7,81; 15,63; 31,25; 62,5; 125; 250; 500 e 1000 ppm (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 31,25 ppm da FDA, o valor de CEO (concentração de efeito observado) foi de 62,5 ppm da FDA e o VC (valor crônico) de 44,19 ppm da FDA.

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 do teste, 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 Tarzwell) no teste conduzido em 22/12/2003.

Diluição da FDA (ppm)	Número de pluteus	
	Saudáveis	Afetados
Controle	85	15
	91	09
	87	13
	89	11
7,81	83	17
	90	10
	89	11
	86	14
15,63	87	13
	89	11
	88	12
	88	12
31,25	83	17
	87	13
	91	09
	90	10
62,5*	69	31
	77	23
	71	29
	68	32
125*	47	53
	62	38
	45	55
	53	47
250*	0	100
	0	100
	0	100
	0	100
500*	0	100
	0	100
	0	100
	0	100
1.000*	0	100
	0	100
	0	100
	0	100

\* significativamente diferente do controle

#### 4 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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.

Hamilton, M.; Russo, R.C. & Thurston, R.V. 1977. Trimmed Spearman-Karber Method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environmental Science & Technology*, , vol. 11, nº 7.

Tarzwel, C.M. 1969. Standart methods for the determination of relative toxicity of oil dispersants and mixtures of dispersants and various oils to aquatic organisms. *In: Proceedings Joint Conference on Prevention and Control of Oil Spills*. American Petroleum Institute and Federal Water Pollution Control Administration. December 15-17, 1969. New York. P:179-186.

## 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

*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