

PROJETO QUEIROZ GALVÃO - CAMAMU
POÇO 1-QG-5-BAS



TESTES DE TOXICIDADE EM AMOSTRAS DE FLUIDOS DE PERFURAÇÃO
PROJETO: QUEIROZ GALVÃO / CAMAMU POÇO 1-QG-5-BAS

FASES DO POÇO - DIAM. EM POLEGADAS		FASE 36"		FASE 26"		FASE 17.312"		FASE 17.312"		Control #1		Control #2	
IDENTIFICAÇÃO DO LAB E # DO TESTE		UFRJ n. 522923 MJA e LVC		UFRJ n. 522923 MJA e LVC		LabTor n. 1752MJA e 1614LVC		LabTor n. 1752MJA e 1614LVC		Bentonita		Bentonita	
TIPO DE FLUIDO: CLASSIFICAÇÃO		FLUIDO INICIAL GEL SWEEPS (Bentonita Pré-hidratada)		FLUIDO INICIAL GEL SWEEPS (Bentonita Pré-hidratada)		FLUIDO ALPHADRIL (Polimérico, Salgado com KCl e NaCl)		FLUIDO ALPHADRIL (Polimérico, Salgado com KCl e NaCl)		Água Doce		Água Doce + Diesel	
FLUIDO BASE ÁGUA													
MI-SWACO Brasil Trade Name	DESCRIÇÃO DO PRODUTO E FUNÇÃO	Concentração Produto		Concentração Produto		Concentração Produto		Concentração Produto		Concentração Produto		Concentração Produto	
		PPB	kg/m3	PPB	kg/m3	PPB	kg/m3	PPB	kg/m3	PPB	kg/m3	PPB	kg/m3
ÁGUA INDUSTRIAL	FASE CONTÍNUA	0.97 bbl		0.97 bbl		0.87 bbl							
SODA ASH (Bamilha Leve)	CARBONATO DE SÓDIO / TRATAMENTO Ca e Mg	0.25	0.71	0.25	0.71								
SODA CÁUSTICA - 96%	HIDROXÍDIO DE SÓDIO - ALCALINIZANTE	0.50	1.43	0.50	1.43	0.30	0.86	0.25	0.71	0.20	0.57	0.20	0.57
BENTONITA	ARGILA - VISCOSIFICANTE	28.00	79.89	28.00	79.89					15.00	42.80	15.00	42.80
MH BR ALPHAFREE	SURFACANTE - INIBIDOR DE ARGILAS					10.00	28.53	10.00	28.53				
UL TRACAP	INIBIDOR DE FOLHELHO					1.50	4.26	1.50	4.26				
ULTRAHB	INIBIDOR DE FOLHELHO					10.00	28.53	10.00	28.53				
ÁCIDO CÍTRICO	CONTROLADOR DE ALCALINIDADE					2.00	5.71	2.00	5.71				
CARBONATO DE CÁLCIO	CALCÁREO SELANTE PARA PERDA DE FLUIDO					30.00	85.59	30.00	85.59				
POLYSAFE 600	CARBOXIMETILCELULOSE VISCOSIFICANTE					1.00	2.95	1.00	2.95				
POLYPAC UL	CELULOSE POLIANIÔNICA REDUTORA DE FILTRADO					2.00	5.71	2.00	5.71				
CLORETO DE POTÁSSIO	SAL INIBIDOR DE HIDRATAÇÃO DE ARGILA					15.00	42.80	15.00	42.80				
CLORETO DE SÓDIO	DOADOR DE SALINIDADE PARA INIBIR ARGILA					50.00	142.66	50.00	142.66				
DUO-VIS	GOMA XANTANA VISCOSIFICANTE					2.00	5.71	2.00	5.71				
EMI - 176	ENCAPSULANTE E CONTROLADOR DE FILTRADO HT					4.00	11.41	4.00	11.41				
MH CIDE	BIOCIDA PARA PREVENÇÃO DE FERMENTAÇÃO					0.70	2.00	0.70	2.00				
MH LUBE	LUBRIFICANTE PARA REDUZIR FRIÇÃO MECÂNICA					4.00	11.41	4.00	11.41				
BARITINA	SULFATO DE BÁRIO - AGENTE ADENSANTE			120.00	342.37	20.00	57.06	20.00	57.06				
DIESEL	DIESEL											0.05	0.05
Toxicidade Aguda		Test Species		RESULTADOS DOS TESTES em ppm									
LC-50 of SPP		Mysidopsis Juniae (BR)		> 1.000.000	> 1.000.000	63.551.56	63.551.56	319000	<2400 ppm				
Toxicidade Crônica		Resultados dos Testes em ppm											
CENO		Lytechinus variegatus (urchin)		> 894.740	> 894.740	31.250.00	31.250.00	1200 ppm	50 ppm				
CEO		Lytechinus variegatus (urchin)		> 894.740	> 894.740	62.500.00	62.500.00	6000 ppm	250 ppm				
VC		Lytechinus variegatus (urchin)				44.194.00	44.194.00	2683 ppm	112 ppm				
Possíveis Indicadores de Toxicidade						MI CIDE		Nenhum	Diesel				

CENO: Concentração de Efeito Não Observado (Maior Concentração Utilizada que Não Causa Efeito Significativamente Diferente do Controle) - (ppm)
CEO: Concentração de Efeito Observado (Menor Concentração que Causa Efeito Significativamente diferente do Controle) - (ppm)
VC: Valor Crônico (ppm)

TECAM
TECNOLOGIA AMBIENTAL

WEM001-LV

Teste N°: BR032

TÍTULO DO ESTUDO:

**TESTE DE TOXICIDADE CRÔNICA DE CURTA DURAÇÃO
COM OURIÇO DO MAR PARA O PRODUTO: FLUIDO DE
PERFURAÇÃO CONTROL #1.**

LABORATÓRIO CONTRATADO: TECAM- TECNOLOGIA AMBIENTAL LTDA.

EMPRESA: MI DRILLING FLUIDS.

FABRICANTE: MI DRILLING FLUIDS.

PRODUTO ANALISADO: FLUIDO DE PERFURAÇÃO CONTROL #1.

TESTE: TOXICIDADE CRÔNICA DE CURTA DURAÇÃO COM OURIÇO
DO MAR (*LYTECHINUS VARIEGATUS*).

CÓDIGO TECAM: T06509-00.

RELATÓRIO N°: RLT06509LY.

INÍCIO DO ESTUDO: 16/03/00.

TÉRMINO DO ESTUDO: 28/04/00.

EMISSÃO DO RELATÓRIO: 02/05/00.

DIRETOR DE ESTUDO: Regina Sawaia Sáfyadi (MSc).

EQUIPE: Alice Furnie Aita, Bióloga.

Maria Aparecida Gomes, Apoio Técnico.

pg. 1/12



CONFIDENCIAL

2

ÍNDICE

DECLARAÇÃO	3
RESUMO/ABSTRACT	4
SUMÁRIO	5
SUMMARY	7
PROCEDIMENTOS	9
1. Sistema teste	9
2. Preparo das soluções	9
3. Condições de teste	9
4. Substância de referência	10
5. Análises estatísticas	10
RESULTADOS/CONCLUSÃO	11
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	11
TABELA	12



CONFIDENCIAL

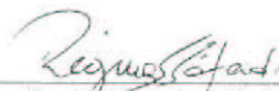
3

DECLARAÇÃO

O presente estudo com o produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO CONTROL #1** foi requerido pela empresa **MI DRILLING FLUIDS** e contém informações estritamente confidenciais.

O estudo descrito nesse relatório final foi conduzido de acordo com o protocolo previsto sob a orientação e supervisão do Diretor de Estudo. O relatório final representa um registro preciso e verdadeiro dos resultados obtidos. Não foram observados desvios ou não-conformidades que afetem a qualidade do estudo. Os dados brutos do estudo encontram-se à disposição da empresa solicitante no endereço do **TECAM - TECNOLOGIA AMBIENTAL LTDA**, à R. Tavares Bastos, 937. S. Paulo - SP.

São Paulo, 02 de maio de 2000.



Regina Sawaia Sáfaci (MSc)

Diretor de Estudo

CRB 06126-01





CONFIDENCIAL

4

RESUMO

O objetivo deste estudo foi determinar a toxicidade crônica do produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO CONTROL #1 (T06509-00)** sobre embriões de ouriço do mar (*Lytechinus variegatus*), verificando a ocorrência de retardamento no desenvolvimento embriolarval e/ou anomalias em ovos e larvas pluteus. Para tanto, três réplicas com cerca de 300 ovos recém-fecundados cada foram expostas por 24 horas às seguintes concentrações do produto: 2 ppm; 10 ppm; 50 ppm; 6.000 ppm; 1.200 ppm; 6.000 ppm e 30.000 ppm. Após o período de exposição, foi observado que as concentrações superiores a 6.000 ppm exerceram efeitos tóxicos crônicos sobre *L. variegatus*, em comparação com o controle. Desta forma, nas condições de teste, a concentração de efeito não observado (CENO) foi estimada em 1.200 ppm, a concentração de efeito observado (CEO) em 6.000 ppm e o valor crônico (VC) em 2.683 ppm.

ABSTRACT

This study was carried out to determine the chronic toxicity to sea urchin (*Lytechinus variegatus*) of the product **CONTROL #1 DRILLING FLUID (T06509-00)**. Three groups of 300 eggs newly fertilized were exposed during 24 hours to the following concentrations: 2 ppm; 10 ppm; 50 ppm; 6.000 ppm; 1,200 ppm; 6,000 ppm and 30,000 ppm. After the exposure period, concentrations higher than 6.000 ppm showed chronic toxicity to sea urchin, when compared to the control. Therefore, under the test conditions, the no observed effect concentration (NOEC) was estimated in 1,200 ppm, the lowest observed effect concentration (LOEC) was 6,000 ppm, and the chronic value (CV) was 2,683 ppm.

rit06509ly.doc

02/05/00



CONFIDENCIAL

5

SUMÁRIO

DADOS GERAIS

Empresa Solicitante: MI DRILLING FLUIDS.

Nome do Produto: FLUIDO DE PERFURAÇÃO CONTROL #1.

Fabricante: MI DRILLING FLUIDS.

Código Tecam: T06509-00.

Teste: Toxicidade crônica de curta duração com ouriço do mar (*Lytechinus variegatus*).

Metodologia: CETESB, 1999.

Diretor de estudo: Regina Sawaia Sáfadi (MSc).

DADOS DAS AMOSTRAS

Data de entrada: 16/03/00.

Tipo: Fluido de perfuração.

Estado Físico: Líquido.

Composição (dados fornecidos pelo fabricante):

Caustic soda	0.2 ppb
Bentonite	15 ppb

CONDIÇÕES DE TESTE

Data de início: 01/04/00.

Data de término: 02/04/00.

Espécie: *Lytechinus variegatus*.

Duração: 26,5 horas.

Temperatura média da água: 24,8 ± 0,4 °C.

Fotoperíodo: 16 horas de luz e 8 horas de escuro.

Renovação do meio: sem renovação (teste estático).

rlt06509ly.doc

02/05/00



CONFIDENCIAL

6

Água de diluição e controle: água marinha sintética com salinidade 34 ± 2 ‰.

Concentrações: 2 ppm; 10 ppm; 50 ppm; 6.000 ppm; 1.200 ppm; 6.000 ppm;
30.000 ppm.

CONCLUSÃO

A concentração de efeito não observado (CENO), a concentração de efeito observado (CEO) e o valor crônico (VC) do produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO CONTROL #1**, estimados para os efeitos sobre o desenvolvimento embriolarval de ouriço do mar (*Lytechinus variegatus*), nas condições de teste, foram estimados em:

CENO = 1.200 ppm

CEO = 6.000 ppm

VC = 2.683 ppm

rit06509ty.doc

02/05/00



CONFIDENCIAL

7

SUMMARY

GENERAL DATA

Sponsor: MI DRILLING FLUIDS.

Product: CONTROL #1 DRILLING FLUID.

Manufacturer: MI DRILLING FLUIDS.

Tecam Code: T06509-00.

Test: Short-term chronic toxicity test to sea urchin (*Lytechinus variegatus*).

Methodology: CETESB, 1999.

Study Director: Regina Sawaia Sáfadi (MSc).

PRODUCT DATA

Received: 03/16/00.

Type: Drilling fluid.

Physical state: Liquid.

Composition (data from manufacturer):

Caustic soda	0.2 ppb
Bentonite	15 ppb

TEST CONDITIONS

Initial date: 04/01/00.

Ending date: 04/02/00.

Specie: *Lytechinus variegatus*.

Duration: 26.5 hours.

Average water temperature: 24.8 ± 0.4 °C.

Photoperiod: 16 hours light and 8 hours darkness.

Solution renewal: static test.

rt06509ly.doc

02/05/00

TECAM
TECNOLOGIA AMBIENTAL

CONFIDENCIAL

8

Dilution water and control: filtered natural seawater (salinity 34 ± 2 ‰).

Concentrations: 2 ppm; 10 ppm; 50 ppm; 6.000 ppm; 1,200 ppm; 6,000 ppm;
30,000 ppm.

CONCLUSION

The no observed effect concentration (NOEC), the lowest observed effect concentration (LOEC), and the chronic value (CV) of the product **CONTROL #1 DRILLING FLUID**, estimated for the effects on embryo-larval development of sea urchin (*Lytechinus variegatus*), under the test conditions, were:

NOEC = 1,200 ppm

LOEC = 6,000 ppm

CV = 2,683 ppm

rlt06509ly.doc

02/05/00



CONFIDENCIAL

9

PROCEDIMENTOS

1. Sistema teste

A espécie utilizada foi *Lytechinus variegatus* (Echinodermata, Echinoidea). Animais adultos foram coletados por mergulho na região costeira próxima ao CEBIMAR-USP (São Sebastião - SP) e colocados em caixas de isopor, protegidos por macroalgas coletadas no mesmo local. No laboratório, foram transferidos para caixas plásticas contendo água marinha e aeração intensa.

2. Preparo das soluções

O produto foi dissolvido com água marinha sintética. Foram preparadas as seguintes soluções teste:

- A. **30.000 ppm:** 15 mL do produto + água de diluição até 500 mL.
- B. **6.000 ppm:** 20 mL da concentração A + água de diluição até 100 mL.
- C. **1.200 ppm:** 4 mL da concentração A + água de diluição até 100 mL.
- D. **6.000 ppm:** 0,8 mL da concentração A + água de diluição até 100 mL.
- E. **50 ppm:** 20 mL da concentração D + água de diluição até 100 mL.
- F. **10 ppm:** 4 mL da concentração D + água de diluição até 100 mL.
- G. **2 ppm:** 0,8 mL da concentração D + água de diluição até 100 mL.

3. Condições de teste

Os gametas foram obtidos através de injeção de solução de cloreto de potássio 0,5M na região perioral dos animais adultos, conforme metodologia descrita em Cetesb (1999). A fecundação foi feita "in vitro" e os embriões obtidos foram utilizados até 30 minutos após a fecundação.

As amostras foram transferidas para tubos de ensaio, em alíquotas de 10 mL, sendo preparadas 3 réplicas para cada concentração e 6 para o controle com água de diluição. Uma réplica extra da maior concentração, com 20 mL de água, foi preparada

rlt06509ly.doc

02/05/00





CONFIDENCIAL

10

para realização das análises físico-químicas no final do teste. Com um micro-pipetador, um volume equivalente a 30 ovos/mL foi transferido para cada tubo de ensaio.

O teste foi incubado a $24,8 \pm 0,4$ °C, em ambiente com fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas de escuro. Após 24 horas de incubação, um dos tubos do controle foi retirado e o estágio de desenvolvimento de 50 embriões foi avaliado. Uma vez que o limite recomendado de mais de 80% dos embriões em estágio de larva pluteus bem desenvolvido não foi atingido até o término deste período, o teste foi prolongado por mais 2,5 horas, sendo portanto encerrado após 26,5 horas de exposição.

O conteúdo de cada réplica foi transferido para potes plásticos e preservado com 0,5 mL de formol tamponado com bórax. Uma subamostra de cada réplica foi analisada ao microscópio em câmara de Sedgwick-Rafter, verificando o estágio de desenvolvimento e a ocorrência de anomalias nos 100 primeiros organismos encontrados. Foi calculada a porcentagem de pluteus anormais em cada amostra.

No início e no final do teste foram realizadas análises de pH, oxigênio dissolvido e salinidade da água de diluição (controle) e da maior concentração preparada.

4. Substância de referência

Simultaneamente ao teste com o produto, foi realizado teste com a substância de referência, sulfato de zinco. A concentração de inibição (CI50; 24h) e respectivo intervalo de confiança obtidos foram: 0,093 mg Zn/L (I.C.: 0,088 a 0,104 mg Zn/L).

5. Análises estatísticas

Foram aplicadas as seguintes análises estatísticas:

- . Teste de Normalidade do Chi-Quadrado (USEPA, 1992).
- . Teste de Bartlett para homogeneidade de variância (USEPA, 1992).
- . Teste de Williams (Gelber et alii, 1985; Williams, 1971, 1972): para comparação do desenvolvimento embriolarval médio do controle com o das demais soluções teste.

rit06509ly.doc

02/05/00

TECAM
TECNOLOGIA AMBIENTAL

CONFIDENCIAL 11

RESULTADOS E CONCLUSÃO

O resultado do teste com o produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO CONTROL #1** está apresentado nas Tabelas 1 e 2, com dados de efeito tóxico e análises físicas e químicas efetuadas no início e no final do teste.

Após o período de exposição, foi observado um ligeiro aumento na toxicidade do fluido com o aumento da concentração. A maior porcentagem de efeito observado foi de 18% nas duas maiores concentrações preparadas (6.000 ppm e 30.000 ppm), comparado com 13% de efeito no controle.

Entretanto, a aplicação das análises estatísticas indicou que as concentrações superiores a 6.000 ppm exerceram efeitos tóxicos crônicos sobre *L. variegatus*, em comparação com o controle. Desta forma, nas condições de teste, a concentração de efeito não observado (CENO) foi estimada em 1.200 ppm, a concentração de efeito observado (CEO) em 6.000 ppm e o valor crônico (VC) em 2.683 ppm.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CETESB Água do Mar - Teste de toxicidade crônica de curta duração com *Lytechinus variegatus*, Lamarck, 1816 (Echinodermata: Echinoidea). Método de ensaio. **Norma Técnica L5.6.000**. São Paulo, CETESB, 22p., 1999.
- Gelber, R.D.; Lavin, P.T.; Mehta, C.R.; Schoenfeld, D.A. Statistical analysis. In: Rand, G.M. e Petrocelli, S.R. (eds) **Fundamentals of Aquatic Toxicology**. Washington, Hemisphere Publ. Co., p. 110-23, 1985.
- USEPA **Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to marine and estuarine organisms**. U.S. Environmental Protection Agency, EPA-600/4-91/021, 513 p., 1992.
- Williams, D.A. A test for differences between treatment means when several doses levels are compared with a zero dose control. **Biometrics**, v. 27, p. 103-17, 1971.
- Williams, D.A. The comparison of several dose levels with a zero dose control. **Biometrics**, v. 28, p.519-31, 1972.

rit06509ly doc

02/05/00

TECAM
TECNOLOGIA AMBIENTAL

CONFIDENCIAL

12

Tabela 1 – Efeito tóxico e análises físicas e químicas (média ± desvio padrão) efetuadas no início e no final do teste no teste de toxicidade crônica de curta duração com ouriço do mar para o produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO CONTROL #1**, após o período de exposição.

Concentração	Efeito (%)	pH	Salinidade (‰)	Oxigênio dissolvido (mg O ₂ /L)
Controle	13	8,0 ± 0,0	35 ± 0	5,3 ± 0,4
2 ppm	15	8,0 ± 0,0	37 ± 1	5,3 ± 0,2
10 ppm	16	N.A.	N.A.	N.A.
50 ppm	16	N.A.	N.A.	N.A.
6.000 ppm	15	N.A.	N.A.	N.A.
1.200 ppm	15	N.A.	N.A.	N.A.
6.000 ppm	18	N.A.	N.A.	N.A.
30.000 ppm	18	8,2 ± 0,1	36 ± 1	5,4 ± 0,2

N.A.: Não analisado.

TECAM
TECNOLOGIA AMBIENTAL

WEN001-MJ
Teste N°: BR-035

TÍTULO DO ESTUDO:

**TESTE DE TOXICIDADE AGUDA COM *MYSIDOPSIS JUNIAE*
PARA O PRODUTO: FLUIDO DE PERFURAÇÃO
CONTROL #1.**

LABORATÓRIO CONTRATADO: TECAM- TECNOLOGIA AMBIENTAL LTDA.

EMPRESA: MI DRILLING FLUIDS.

FABRICANTE: MI DRILLING FLUIDS.

PRODUTO ANALISADO: FLUIDO DE PERFURAÇÃO CONTROL #1.

TESTE: TOXICIDADE AGUDA COM *MYSIDOPSIS JUNIAE*.

CÓDIGO TECAM: T06509-00.

RELATÓRIO N°: RLT06509MY.

INÍCIO DO ESTUDO: 16/03/00.

TÉRMINO DO ESTUDO: 07/04/00.

EMISSÃO DO RELATÓRIO: 11/04/00.

DIRETOR DE ESTUDO: Regina Sawaia Sáfyadi (MSc).

EQUIPE: Alice Fumie Aita, Bióloga.
Flávio A. da Costa, Apoio Técnico.
Maria Aparecida Gomes, Apoio Técnico.

pg. 1/12

Rua Tavares Bastos, 937
05012-020 • São Paulo • SP
Tel: (011) 3873-2553 • Fax: (011) 3862-8954

TECAM
TECNOLOGIA AMBIENTAL

CONFIDENCIAL

2

ÍNDICE

DECLARAÇÃO	3
RESUMO/ABSTRACT	4
SUMÁRIO	5
SUMMARY	7
PROCEDIMENTOS	9
1. Sistema teste	9
2. Preparo da amostra e soluções	9
3. Condições de teste	9
4. Análise estatística	10
RESULTADOS/CONCLUSÃO	10
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	11
TABELA	12



TECAM
TECNOLOGIA AMBIENTAL

CONFIDENCIAL

3

DECLARAÇÃO

O presente estudo com o produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO CONTROL #1** foi requerido pela empresa **MI DRILLING FLUIDS** e contém informações estritamente confidenciais.

O estudo descrito nesse relatório final foi conduzido de acordo com o protocolo previsto sob a orientação e supervisão do Diretor de Estudo. O relatório final representa um registro preciso e verdadeiro dos resultados obtidos. Não foram observados desvios ou não-conformidades que afetem a qualidade do estudo. Os dados brutos do estudo encontram-se à disposição da empresa solicitante no endereço do **TECAM - TECNOLOGIA AMBIENTAL LTDA**, à R. Tavares Bastos, 937, S. Paulo - SP.

São Paulo, 11 de abril de 2000.



Regina Sawaia Sáfaci (MSc)
Diretor de Estudo
CRB 06126-01

TECAM
TECNOLOGIA AMBIENTAL

CONFIDENCIAL

4

RESUMO

O objetivo deste estudo foi determinar a toxicidade aguda do produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO CONTROL #1 (T06509-00)** para *Mysidopsis juniae*. Foi preparada uma mistura 1:9 do fluido com água marinha e a fase de sólidos suspensos (FSS) foi utilizada para preparar as seguintes concentrações do produto: 8.000 ppm; 27.000 ppm; 90.000 ppm; 300.000 ppm e 1.000.000 ppm. Três réplicas de dez animais cada foram expostas a um controle com água marinha e a cada concentração de FSS por 96 horas. Após 96 horas de exposição, foi observado um aumento da mortalidade dos animais expostos com o aumento da concentração. Com os dados de mortalidade, a concentração letal mediana após 96 horas de exposição (CL50; 96h) e respectivo intervalo de 95% de confiança foram estimados através do método Spearman Karber modificado (Hamilton et alii, 1986). A CL50; 96h da FSS, nas condições de teste, foi estimada em 319.000 ppm, com intervalo de 95% de confiança de 250.000 a 408.000 ppm.

ABSTRACT

This study was carried out to determine the acute toxicity to *Mysidopsis juniae* of the product **CONTROL #1 DRILLING FLUID (T06509-00)**. A 1:9 fluid to seawater mixture was prepared and the suspended particulate phase (SPP) solution was diluted to the following concentrations: 8,000 ppm; 27,000 ppm; 90,000 ppm; 300,000 ppm and 1,000,000 ppm. Three replicates with ten animals were exposed to control (synthetic seawater) and each SPP concentration for 96 hours. After 96 hours of exposition, the median lethal concentration (96-h LC50) and 95% confidence limits were estimated using the trimmed Spearman Karber method (Hamilton et alii, 1986). The 96-h LC50 of the SPP, under the test conditions, was estimated in 319,000 ppm, with 95% confidence limits of 250,000 to 408,000 ppm.

rlt06509my.doc

11/04/00

TECAM
TECNOLOGIA AMBIENTAL

CONFIDENCIAL

5

SUMÁRIO

DADOS GERAIS

Empresa Solicitante: MI DRILLING FLUIDS.

Nome do Produto: FLUIDO DE PERFURAÇÃO CONTROL #1.

Fabricante: MI DRILLING FLUIDS.

Código Tecam: T06509-00.

Teste: Toxicidade Aguda com *Mysidopsis juniae*.

Metodologia: CETESB, 1992; USEPA, 1993.

Diretor de estudo: Regina Sawaia Sáfadi (MSc).

DADOS DA AMOSTRA

Data de entrada: 16/03/00.

Tipo: Fluido de perfuração.

Estado Físico: Líquido.

Composição (dados fornecidos pelo fabricante):

Caustic soda	0.2 ppb
Bentonite	15 ppb

CONDIÇÕES DE TESTE

Data de início: 03/04/00.

Data de término: 07/04/00.

Espécie: *Mysidopsis juniae*.

Alimentação: náuplios de *Artemia*.

Duração: 96 horas.

Temperatura média da água: 24,2 ± 0,0 °C.

Fotoperíodo: 12 horas de luz e 12 horas de escuro.

Renovação do meio: sem renovação (teste estático).

Aeração: sim.

rlt06509my.doc

11/04/00

TECAM
TECNOLOGIA AMBIENTAL

CONFIDENCIAL

6

Água de diluição e controle: água marinha sintética (salinidade 32 - 35 ‰).

Concentrações (diluição da fase de sólidos suspensos): 8.000 ppm; 27.000 ppm;
90.000 ppm; 300.000 ppm; 1.000.000 ppm.

CONCLUSÃO

A concentração letal mediana e o intervalo de 95% de confiança (entre parênteses) da fase de sólidos suspensos (FSS) do produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO CONTROL #1**, nas condições de teste, foram estimados em :

CL50; 96 h = 319.000 ppm FSS (250.000 – 408.000 ppm FSS)

rlt06509my.doc

11/04/00

TECAM
TECNOLOGIA AMBIENTAL

CONFIDENCIAL

7

SUMMARY

GENERAL DATA

Sponsor: MI DRILLING FLUIDS.

Product: CONTROL #1 DRILLING FLUID.

Manufacturer: MI DRILLING FLUIDS.

Tecam Code: T06509-00.

Test: Acute toxicity with *Mysidopsis juniae*.

Methodology: CETESB, 1992; USEPA, 1993.

Study Director: Regina Sawaia Sáfadi (MSc).

PRODUCT DATA

Received: 03/16/00.

Type: Drilling fluid.

Physical state: Liquid.

Composition (data from manufacturer):

Caustic soda	0.2 ppb
Bentonite	15 ppb

TEST CONDITIONS

Initial date: 04/03/00.

Ending date: 04/07/00.

Specie: *Mysidopsis juniae*.

Feeding: *Artemia* nauplii.

Duration: 96 hours.

Average water temperature: 24.2 ± 0.0 °C.

Photoperiod: 12 hours light and 12 hours darkness.

Solution renewal: static test.

Aeration: yes.

rlt06509my.doc

11/04/00



CONFIDENCIAL

8

Dilution water and control: synthetic seawater (salinity 32 - 35 ‰).

Concentrations (dilutions of suspended particulate phase): 8,000 ppm; 27,000 ppm;
90,000 ppm; 300,000 ppm; 1,000,000 ppm.

CONCLUSION

The median lethal concentration and 95% confidence limits of the suspended particulate phase (SPP) of the product **CONTROL #1 DRILLING FLUID**, under the test conditions, were estimated in:

96-h LC50 = 319,000 ppm SPP (250,000 – 408,000 ppm SPP)

rit06509my.doc

11/04/00



TECAM
TECNOLOGIA AMBIENTAL

CONFIDENCIAL

9

PROCEDIMENTOS

1. Sistema teste

A espécie utilizada foi *Mysidopsis juniae* (Crustacea, Mysidacea). Os jovens foram obtidos junto ao Laboratório de Ecotoxicologia da Cetesb e aclimatados às condições do laboratório por no mínimo 24 horas antes do início do teste.

2. Preparo da amostra e soluções

Os procedimentos utilizados para o preparo das diluições de teste seguiram a metodologia padronizada pela EPA para testes com fluido de perfuração, do qual se prepara uma diluição 1:9 com água marinha e se expõe os organismos a diluições da fase de sólidos suspensos (FSS) da mistura (USEPA, 1993).

O produto foi homogeneizado com agitador industrial por 30 minutos e o pH foi ajustado para $\pm 0,2$ unidades do pH da água de diluição (água marinha sintética). Uma alíquota de 200 mL foi retirada, diluída com 800 mL de água marinha (diluição 1:9) e a mistura foi mantida sob agitação magnética por 5 minutos, com pH ajustado para $7,8 \pm 0,1$. Esta mistura foi mantida em repouso para decantação por 1 hora, na mesma temperatura de teste. A fase de sólidos suspensos (FSS) obtida foi cuidadosamente retirada e as seguintes soluções teste foram preparadas:

- A. **1.000.000 ppm:** 300 mL da FSS em cada frasco-teste.
- B. **300.000 ppm:** 300 mL da FSS + água de diluição até 1000 mL.
- C. **90.000 ppm:** 90 mL da FSS + água de diluição até 1000 mL.
- D. **27.000 ppm:** 27 mL da FSS + água de diluição até 1000 mL.
- E. **8.000 ppm:** 8 mL da FSS + água de diluição até 1000 mL.

3. Condições de teste

Jovens com 3 a 5 dias idade foram transferidos aleatoriamente, com auxílio de uma pipeta Pasteur, para béqueres de 30 mL com pequeno volume de água

rit06509my.doc

11/04/00



TECAM
TECNOLOGIA AMBIENTAL

CONFIDENCIAL

10

marinha e adicionados aleatoriamente aos frascos teste com cerca de 250 mL de solução teste. Foram colocados dez jovens em cada frasco, com três réplicas em cada concentração das soluções teste. Um controle com três réplicas e somente com água de diluição foi preparado da mesma forma.

O teste foi incubado a $24,2 \pm 0,0$ °C, em ambiente com fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro, com aeração suave e contínua em todos os frascos. Os animais foram alimentados diariamente com 1 gota de solução concentrada de náuplios de *Artemia* recém-eclodidos por frasco. A cada 24 horas foram contados os animais vivos e os mortos foram removidos. Para as soluções com turbidez elevada ou com material decantado a contagem dos animais foi realizada somente no final do teste, após 96 horas de exposição.

Diariamente foram realizadas análises de pH, salinidade e oxigênio dissolvido de uma réplica do controle e de cada concentração.

4. Análise estatística

A concentração letal mediana após 96 horas de exposição - CL50; 96h - e respectivo intervalo de 95% de confiança foram estimados através do método Spearman-Kärber modificado (Hamilton et alii, 1977).

rit06509my.doc

11/04/00

TECAM
TECNOLOGIA AMBIENTAL

CONFIDENCIAL 11

RESULTADOS E CONCLUSÃO

O resultado do teste com o produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO CONTROL #1** está apresentado na Tabela 1, com dados de mortalidade e análises físicas e químicas efetuadas durante o teste.

Nas concentrações superiores a 27.000 ppm houve decantação de material, impedindo a observação dos animais antes do final do teste. Foi observado um aumento da mortalidade dos animais expostos com o aumento da concentração do produto. A concentração letal mediana da fase de sólidos suspensos do produto, nas condições de teste, foi estimada em 319.000 ppm, com intervalo de 95% de confiança de 250.000 a 408.000 ppm.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CETESB Água do Mar - Teste de toxicidade aguda com *Mysidopsis juniae* Silva, 1979 (Crustacea: Mysidacea). **Norma Técnica L5.251**, São Paulo, CETESB, 19p., 1992.
- Hamilton, M.A.; Russo, R.C.; Thurston, R.V. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. **Environ. Sci. Technol.**, v. 11, p. 714-19, 1977.
- USEPA 40 CFR Part 435 – Oil and gas extraction point source category, SubPart A – Offshore Subcategory, Appendix 2 – Drilling fluids toxicity test. **Federal Register**, 58 FR 12504, 1993.

rlt06509my.doc

11/04/00



TECAM
TECNOLOGIA AMBIENTAL

CONFIDENCIAL

12

Tabela 1 – Mortalidade e análises físicas e químicas (média ± desvio padrão) obtidas no teste de toxicidade aguda com *Mysidopsis juniae* para o produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO CONTROL #1**, após 96 horas de exposição.

Concentração	Mortalidade (%)	pH	Salinidade (‰)	Oxigênio dissolvido (mg O ₂ /L)
Controle	3	7,9 ± 0,6	34 ± 1	5,9 ± 0,2
8.000 ppm	0	8,1 ± 0,1	33 ± 1	5,8 ± 0,2
27.000 ppm	0	8,2 ± 0,1	34 ± 1	5,9 ± 0,3
90.000 ppm	7	8,2 ± 0,1	34 ± 1	5,7 ± 0,3
300.000 ppm	38	8,2 ± 0,1	36 ± 2	5,6 ± 0,4
1.000.000 ppm	100	8,2 ± 0,1	31 ± 0	5,8 ± 0,4

rlt06509my.doc

11/04/00

TECAM
TECNOLOGIA AMBIENTAL

CONFIDENCIAL 11

(CL50; 96h) do produto, nas condições de teste, não pode ser estimada, sendo considerada inferior a 2.400 ppm da FSS.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CETESB Água do Mar - Teste de toxicidade aguda com *Mysidopsis juniae* Silva, 1979 (Crustacea: Mysidacea). **Norma Técnica L5.251**. São Paulo, CETESB, 19p., 1992.
- USEPA 40 CFR Part 435 – Oil and gas extration point source category, SubPart A – Offshore Subcategory, Appendix 2 – Drilling fluids toxicity test. **Federal Register**, 58 FR 12504, 1993.

rit06510my.doc

14/04/00

TECAM
TECNOLOGIA AMBIENTAL

CONFIDENCIAL

12

Tabela 1 – Mortalidade e análises físicas e químicas (média ± desvio padrão) obtidas no teste de toxicidade aguda com *Mysidopsis juniae* para o produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO CONTROL #2**, após 96 horas de exposição.

Concentração	Mortalidade (%)	pH	Salinidade (‰)	Oxigênio dissolvido (mg O ₂ /L)
Controle	3	8,2 ± 0,3	34 ± 1	5,8 ± 0,2
2.400 ppm	100	8,2 ± 0,1	34 ± 1	5,9 ± 0,3
8.000 ppm	100	8,3 ± 0,2	33 ± 1	5,8 ± 0,3
27.000 ppm	100	8,3 ± 0,2	32 ± 1	5,7 ± 0,2
90.000 ppm	100	8,3 ± 0,2	32 ± 1	5,5 ± 0,3
300.000 ppm	100	8,2 ± 0,2	32 ± 1	5,5 ± 0,4
1.000.000 ppm	100	8,1 ± 0,1	30 ± 0	5,0 ± 0,8

rlt06510my.doc

14/04/00

TECAM
TECNOLOGIA AMBIENTAL

Teste N°: BR 040

TÍTULO DO ESTUDO:

**TESTE DE TOXICIDADE CRÔNICA DE CURTA DURAÇÃO
COM OURIÇO DO MAR PARA O PRODUTO: FLUIDO DE
PERFURAÇÃO CONTROL #2.**

LABORATÓRIO CONTRATADO: TECAM- TECNOLOGIA AMBIENTAL LTDA.

EMPRESA: MI DRILLING FLUIDS.

FABRICANTE: MI DRILLING FLUIDS.

PRODUTO ANALISADO: FLUIDO DE PERFURAÇÃO CONTROL #2.

TESTE: TOXICIDADE CRÔNICA DE CURTA DURAÇÃO COM OURIÇO
DO MAR (*LYTECHINUS VARIEGATUS*).

CÓDIGO TECAM: T06510-00.

RELATÓRIO N°: RLT06510LY.

INÍCIO DO ESTUDO: 16/03/00.

TÉRMINO DO ESTUDO: 28/04/00.

EMISSÃO DO RELATÓRIO: 02/05/00.

DIRETOR DE ESTUDO: Regina Sawaia Sáfadi (MSc).

EQUIPE: Alice Fumie Aita, Bióloga.

Maria Aparecida Gomes, Apoio Técnico.

pg. 1/12



CONFIDENCIAL

2

ÍNDICE

DECLARAÇÃO	3
RESUMO/ABSTRACT	4
SUMÁRIO	5
SUMMARY	7
PROCEDIMENTOS	9
1. Sistema teste	9
2. Preparo das soluções	9
3. Condições de teste	9
4. Substância de referência	10
5. Análises estatísticas	10
RESULTADOS/CONCLUSÃO	11
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	11
TABELA	12



CONFIDENCIAL


3

DECLARAÇÃO

O presente estudo com o produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO CONTROL #2** foi requerido pela empresa **MI DRILLING FLUIDS** e contém informações estritamente confidenciais.

O estudo descrito nesse relatório final foi conduzido de acordo com o protocolo previsto sob a orientação e supervisão do Diretor de Estudo. O relatório final representa um registro preciso e verdadeiro dos resultados obtidos. Não foram observados desvios ou não-conformidades que afetem a qualidade do estudo. Os dados brutos do estudo encontram-se à disposição da empresa solicitante no endereço do **TECAM - TECNOLOGIA AMBIENTAL LTDA**, à R. Tavares Bastos, 937, S. Paulo - SP.

São Paulo, 02 de maio de 2000.


Regina Sawaia Sáfiadi (MSc)
Diretor de Estudo
CRB 06126-01



TECAM
TECNOLOGIA AMBIENTAL

CONFIDENCIAL

4

RESUMO

O objetivo deste estudo foi determinar a toxicidade crônica do produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO CONTROL #2 (T06510-00)** sobre embriões de ouriço do mar (*Lytechinus variegatus*), verificando a ocorrência de retardamento no desenvolvimento embriolarval e/ou anomalias em ovos e larvas pluteus. Para tanto, três réplicas com cerca de 300 ovos recém-fecundados cada foram expostas por 24 horas às seguintes concentrações do produto: 2 ppm; 10 ppm; 50 ppm; 250 ppm; 1.200 ppm; 6.000 ppm e 30.000 ppm. Após o período de exposição, foi observado que as concentrações superiores a 250 ppm exerceram efeitos tóxicos crônicos sobre *L. variegatus*, em comparação com o controle. Desta forma, nas condições de teste, a concentração de efeito não observado (CENO) foi estimada em 50 ppm, a concentração de efeito observado (CEO) em 250 ppm e o valor crônico (VC) em 112 ppm.

ABSTRACT

This study was carried out to determine the chronic toxicity to sea urchin (*Lytechinus variegatus*) of the product **CONTROL #2 DRILLING FLUID (T06510-00)**. Three groups of 300 eggs newly fertilized were exposed during 24 hours to the following concentrations: 2 ppm; 10 ppm; 50 ppm; 250 ppm; 1,200 ppm; 6,000 ppm and 30,000 ppm. After the exposure period, concentrations higher than 250 ppm showed chronic toxicity to sea urchin, when compared to the control. Therefore, under the test conditions, the no observed effect concentration (NOEC) was estimated in 50 ppm, the lowest observed effect concentration (LOEC) was 250 ppm, and the chronic value (CV) was 112 ppm.

rlt06510ly.doc

02/05/00



CONFIDENCIAL

5

SUMÁRIO

DADOS GERAIS

Empresa Solicitante: MI DRILLING FLUIDS.

Nome do Produto: FLUIDO DE PERFURAÇÃO CONTROL #2.

Fabricante: MI DRILLING FLUIDS.

Código Tecam: T06510-00.

Teste: Toxicidade crônica de curta duração com ouriço do mar (*Lytechinus variegatus*).

Metodologia: CETESB, 1999.

Diretor de estudo: Regina Sawaia Sáfyadi (MSc).

DADOS DAS AMOSTRAS

Data de entrada: 16/03/00.

Tipo: Fluido de perfuração.

Estado Físico: Líquido.

Composição (dados fornecidos pelo fabricante):

Caustic soda	0.2 ppb
Bentonite	15 ppb
Diesel	5%

CONDIÇÕES DE TESTE

Data de início: 01/04/00.

Data de término: 02/04/00.

Espécie: *Lytechinus variegatus*.

Duração: 26,5 horas.

Temperatura média da água: 24,8 ± 0,4 °C.

Fotoperíodo: 16 horas de luz e 8 horas de escuro.

rlt06510ly.doc

02/05/00



CONFIDENCIAL

6

Renovação do meio: sem renovação (teste estático).

Água de diluição e controle: água marinha sintética com salinidade 34 ± 2 ‰.

Concentrações: 2 ppm; 10 ppm; 50 ppm; 250 ppm; 1.200 ppm; 6.000 ppm;
30.000 ppm.

CONCLUSÃO

A concentração de efeito não observado (CENO), a concentração de efeito observado (CEO) e o valor crônico (VC) do produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO CONTROL #2**, estimados para os efeitos sobre o desenvolvimento embriolarval de ouriço do mar (*Lytechinus variegatus*), nas condições de teste, foram estimados em:

CENO = 50 ppm

CEO = 250 ppm

VC = 112 ppm

rlt06510ly.doc

02/05/00





CONFIDENCIAL

7

SUMMARY

GENERAL DATA

Sponsor: MI DRILLING FLUIDS.

Product: CONTROL #2 DRILLING FLUID.

Manufacturer: MI DRILLING FLUIDS.

Tecam Code: T06510-00.

Test: Short-term chronic toxicity test to sea urchin (*Lytechinus variegatus*).

Methodology: CETESB, 1999.

Study Director: Regina Sawaia Sáfaci (MSc).

PRODUCT DATA

Received: 03/16/00.

Type: Drilling fluid.

Physical state: Liquid.

Composition (data from manufacturer):

Caustic soda	0.2 ppb
Bentonite	15 ppb
Diesel	5%

TEST CONDITIONS

Initial date: 04/01/00.

Ending date: 04/02/00.

Specie: *Lytechinus variegatus*.

Duration: 26.5 hours.

Average water temperature: 24.8 ± 0.4 °C.

Photoperiod: 16 hours light and 8 hours darkness.

rlf06510ly.doc

02/05/00



CONFIDENCIAL

8

Solution renewal: static test.

Dilution water and control: filtered natural seawater (salinity 34 ± 2 ‰).

Concentrations: 2 ppm; 10 ppm; 50 ppm; 250 ppm; 1,200 ppm; 6,000 ppm;
30,000 ppm.

CONCLUSION

The no observed effect concentration (NOEC), the lowest observed effect concentration (LOEC), and the chronic value (CV) of the product **CONTROL #2 DRILLING FLUID**, estimated for the effects on embryo-larval development of sea urchin (*Lytechinus variegatus*), under the test conditions, were:

NOEC = 50 ppm

LOEC = 250 ppm

CV = 112 ppm

rit06510ly.doc

02/05/00



CONFIDENCIAL 9

PROCEDIMENTOS

1. Sistema teste

A espécie utilizada foi *Lytechinus variegatus* (Echinodermata, Echinoidea). Animais adultos foram coletados por mergulho na região costeira próxima ao CEBIMAR-USP (São Sebastião - SP) e colocados em caixas de isopor, protegidos por macroalgas coletadas no mesmo local. No laboratório, foram transferidos para caixas plásticas contendo água marinha e aeração intensa.

2. Preparo das soluções

O produto foi dissolvido com água marinha sintética. Foram preparadas as seguintes soluções teste:

- A. **30.000 ppm:** 15 mL do produto + água de diluição até 500 mL.
- B. **6.000 ppm:** 20 mL da concentração A + água de diluição até 100 mL.
- C. **1.200 ppm:** 4 mL da concentração A + água de diluição até 100 mL.
- D. **250 ppm:** 0,8 mL da concentração A + água de diluição até 100 mL.
- E. **50 ppm:** 20 mL da concentração D + água de diluição até 100 mL.
- F. **10 ppm:** 4 mL da concentração D + água de diluição até 100 mL.
- G. **2 ppm:** 0,8 mL da concentração D + água de diluição até 100 mL.

3. Condições de teste

Os gametas foram obtidos através de injeção de solução de cloreto de potássio 0,5M na região perioral dos animais adultos, conforme metodologia descrita em Cetesb (1999). A fecundação foi feita "in vitro" e os embriões obtidos foram utilizados até 30 minutos após a fecundação.

As amostras foram transferidas para tubos de ensaio, em alíquotas de 10 mL, sendo preparadas 3 réplicas para cada concentração e 6 para o controle com água de diluição. Uma réplica extra da maior concentração, com 20 mL de água, foi preparada

rit06510ly.doc

02/05/00




TECAM
TECNOLOGIA AMBIENTAL

CONFIDENCIAL

10

para realização das análises físico-químicas no final do teste. Com um micro-pipetador, um volume equivalente a 30 ovos/mL foi transferido para cada tubo de ensaio.

O teste foi incubado a $24,8 \pm 0,4$ °C, em ambiente com fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas de escuro. Após 24 horas de incubação, um dos tubos do controle foi retirado e o estágio de desenvolvimento de 50 embriões foi avaliado. Uma vez que o limite recomendado de mais de 80% dos embriões em estágio de larva pluteus bem desenvolvido não foi atingido até o término deste período, o teste foi prolongado por mais 2,5 horas, sendo portanto encerrado após 26,5 horas de exposição.

O conteúdo de cada réplica foi transferido para potes plásticos e preservado com 0,5 mL de formol tamponado com bórax. Uma subamostra de cada réplica foi analisada ao microscópio em câmara de Sedgwick-Rafter, verificando o estágio de desenvolvimento e a ocorrência de anomalias nos 100 primeiros organismos encontrados. Foi calculada a porcentagem de pluteus anormais em cada amostra.

No início e no final do teste foram realizadas análises de pH, oxigênio dissolvido e salinidade da água de diluição (controle) e da maior concentração preparada.

4. Substância de referência

Simultaneamente ao teste com o produto, foi realizado teste com a substância de referência, sulfato de zinco. A concentração de inibição (CI50; 24h) e respectivo intervalo de confiança obtidos foram: 0,093 mg Zn/L (I.C.: 0,088 a 0,104 mg Zn/L).

5. Análises estatísticas

Foram aplicadas as seguintes análises estatísticas:

- . Teste de Normalidade do Chi-Quadrado (USEPA, 1992).
- . Teste de Bartlett para homogeneidade de variância (USEPA, 1992).
- . Teste de Williams (Gelber et alii, 1985; Williams, 1971, 1972): para comparação do desenvolvimento embriolarval médio do controle com o das demais soluções teste.

rlt06510ly.doc

02/05/00



CONFIDENCIAL

11

RESULTADOS E CONCLUSÃO

O resultado do teste com o produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO CONTROL #2** está apresentado nas Tabelas 1 e 2, com dados de efeito tóxico e análises físicas e químicas efetuadas no início e no final do teste.

Após o período de exposição, foi observado um aumento na toxicidade do fluido com o aumento da concentração, sendo que nas duas maiores concentrações preparadas (6.000 ppm e 30.000 ppm) o desenvolvimento embrionário foi retardado ou inexistente.

A aplicação das análises estatísticas indicou que as concentrações superiores a 250 ppm exerceram efeitos tóxicos crônicos sobre *L. variegatus*, em comparação com o controle. Desta forma, nas condições de teste, a concentração de efeito não observado (CENO) foi estimada em 50 ppm, a concentração de efeito observado (CEO) em 250 ppm e o valor crônico (VC) em 112 ppm.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CETESB Água do Mar - Teste de toxicidade crônica de curta duração com *Lytechinus variegatus*, Lamarck, 1816 (Echinodermata: Echinoidea). Método de ensaio. **Norma Técnica L5.250**. São Paulo, CETESB, 22p., 1999.
- Gelber, R.D.; Lavin, P.T.; Mehta, C.R.; Schoenfeld, D.A. Statistical analysis. In: Rand, G.M. e Petrocelli, S.R. (eds) **Fundamentals of Aquatic Toxicology**. Washington, Hemisphere Publ. Co., p. 110-23, 1985.
- USEPA **Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to marine and estuarine organisms**. U.S. Environmental Protection Agency, EPA-600/4-91/021, 513 p., 1992.
- Williams, D.A. A test for differences between treatment means when several doses levels are compared with a zero dose control. **Biometrics**, v. 27, p. 103-17, 1971.
- Williams, D.A. The comparison of several dose levels with a zero dose control. **Biometrics**, v. 28, p.519-31, 1972.

rit06510ly.doc

02/05/00



TECAM
TECNOLOGIA AMBIENTAL

CONFIDENCIAL

12

Tabela 1 – Efeito tóxico e análises físicas e químicas (média ± desvio padrão) efetuadas no início e no final do teste no teste de toxicidade crônica de curta duração com ouriço do mar para o produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO CONTROL #2**, após o período de exposição.

Concentração	Efeito (%)	pH	Salinidade (‰)	Oxigênio dissolvido (mg O ₂ /L)
Controle	13	8,0 ± 0,0	35 ± 0	5,3 ± 0,4
2 ppm	16	8,0 ± 0,1	36 ± 1	5,3 ± 0,3
10 ppm	14	N.A.	N.A.	N.A.
50 ppm	12	N.A.	N.A.	N.A.
250 ppm	57	N.A.	N.A.	N.A.
1.200 ppm	92	N.A.	N.A.	N.A.
6.000 ppm	100	N.A.	N.A.	N.A.
30.000 ppm	100	8,2 ± 0,1	35 ± 0	4,7 ± 0,3

N.A.: Não analisado.

rit06510ly.doc

02/05/00

TECAM
TECNOLOGIA AMBIENTAL

Teste N°: BR-038

TÍTULO DO ESTUDO:

**TESTE DE TOXICIDADE AGUDA COM *MYSIDOPSIS JUNIAE*
PARA O PRODUTO: FLUIDO DE PERFURAÇÃO
CONTROL #2.**

LABORATÓRIO CONTRATADO: TECAM- TECNOLOGIA AMBIENTAL LTDA.

EMPRESA: MI DRILLING FLUIDS.

FABRICANTE: MI DRILLING FLUIDS.

PRODUTO ANALISADO: FLUIDO DE PERFURAÇÃO CONTROL #2.

TESTE: TOXICIDADE AGUDA COM *MYSIDOPSIS JUNIAE*.

CÓDIGO TECAM: T06510-00.

RELATÓRIO N°: RLT06510MY.

INÍCIO DO ESTUDO: 16/03/00.

TÉRMINO DO ESTUDO: 11/04/00.

EMISSÃO DO RELATÓRIO: 14/04/00.

DIRETOR DE ESTUDO: Regina Sawaia Sáfadi (MSc).

EQUIPE: Alice Fumie Aita, Bióloga.
Flávio A. da Costa, Apoio Técnico,
Maria Aparecida Gomes, Apoio Técnico.

pg. 1/12

TECAM
TECNOLOGIA AMBIENTAL

CONFIDENCIAL

2

ÍNDICE

DECLARAÇÃO	3
RESUMO/ABSTRACT	4
SUMÁRIO	5
SUMMARY	7
PROCEDIMENTOS	9
1. Sistema teste	9
2. Preparo da amostra e soluções	9
3. Condições de teste	10
RESULTADOS/CONCLUSÃO	10
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	11
TABELA	12

TECAM
TECNOLOGIA AMBIENTAL

CONFIDENCIAL

3

DECLARAÇÃO

O presente estudo com o produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO CONTROL #2** foi requerido pela empresa **MI DRILLING FLUIDS** e contém informações estritamente confidenciais.

O estudo descrito nesse relatório final foi conduzido de acordo com o protocolo previsto sob a orientação e supervisão do Diretor de Estudo. O relatório final representa um registro preciso e verdadeiro dos resultados obtidos. Não foram observados desvios ou não-conformidades que afetem a qualidade do estudo. Os dados brutos do estudo encontram-se à disposição da empresa solicitante no endereço do **TECAM - TECNOLOGIA AMBIENTAL LTDA**, à R. Tavares Bastos, 937, S. Paulo - SP.

São Paulo, 14 de abril de 2000.


Regina Sawaia Sáfiadi (MSc)
Diretor de Estudo
CRB 06126-01





CONFIDENCIAL

4

RESUMO

O objetivo deste estudo foi determinar a toxicidade aguda do produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO CONTROL #2 (T06510-00)** para *Mysidopsis juniae*. Foi preparada uma mistura 1:9 do fluido com água marinha e a fase de sólidos suspensos (FSS) foi utilizada para preparar as seguintes concentrações do produto: 2.400 ppm; 8.000 ppm; 27.000 ppm; 90.000 ppm; 300.000 ppm e 1.000.000 ppm. Três réplicas de dez animais cada foram expostas a um controle com água marinha e a cada concentração de FSS por 96 horas. Após 96 horas de exposição, foi observada mortalidade de 100% dos animais expostos à menor concentração preparada, nas condições de teste. Em função deste resultado, a concentração letal mediana (CL50; 96h) do produto não pode ser estimada, sendo considerada inferior a 2.400 ppm da FSS.

ABSTRACT

This study was carried out to determine the acute toxicity to *Mysidopsis juniae* of the product **CONTROL #2 DRILLING FLUID (T06510-00)**. A 1:9 fluid to seawater mixture was prepared and the suspended particulate phase (SPP) solution was diluted to the following concentrations: 2,400 ppm; 8,000 ppm; 27,000 ppm; 90,000 ppm; 300,000 ppm and 1,000,000 ppm. Three replicates with ten animals were exposed to control (synthetic seawater) and each SPP concentration for 96 hours. After 96 hours of exposition, mortality of 100% of the animals exposed to the lowest tested concentration was observed. Therefore, the median lethal concentration (96-h LC50) was considered lower than 2,400 ppm of the SPP.

rlt06510my.doc

14/04/00



CONFIDENCIAL

5

SUMÁRIO

DADOS GERAIS

Empresa Solicitante: MI DRILLING FLUIDS.

Nome do Produto: FLUIDO DE PERFURAÇÃO CONTROL #2.

Fabricante: MI DRILLING FLUIDS.

Código Tecam: T06510-00.

Teste: Toxicidade Aguda com *Mysidopsis juniae*.

Metodologia: CETESB, 1992; USEPA, 1993.

Diretor de estudo: Regina Sawaia Sáfyadi (MSc).

DADOS DA AMOSTRA

Data de entrada: 16/03/00.

Tipo: Fluido de perfuração.

Estado Físico: Líquido.

Composição (dados fornecidos pelo fabricante):

Caustic soda	0.3 ppb
Bentonite	15 ppb
Diesel	5%

CONDIÇÕES DE TESTE

Data de início: 07/04/00.

Data de término: 11/04/00.

Espécie: *Mysidopsis juniae*.

Alimentação: náuplios de *Artemia*.

Duração: 96 horas.

Temperatura média da água: 24,5 ± 0,3 °C.

Fotoperíodo: 12 horas de luz e 12 horas de escuro.

Renovação do meio: sem renovação (teste estático).

rlt06510my.doc

14/04/00

TECAM
TECNOLOGIA AMBIENTAL

CONFIDENCIAL

6

Aeração: sim.

Água de diluição e controle: água marinha sintética (salinidade 32 - 35 ‰).

Concentrações (diluição da fase de sólidos suspensos): 2.400 ppm; 8.000 ppm; 27.000 ppm; 90.000 ppm; 300.000 ppm; 1.000.000 ppm.

CONCLUSÃO

A concentração letal mediana da fase de sólidos suspensos (FSS) do produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO CONTROL #2**, nas condições de teste, foi considerada:

CL50; 96 h < 2.400 ppm FSS

rt06510my.doc

14/04/00



TECAM
TECNOLOGIA AMBIENTAL

CONFIDENCIAL

7

SUMMARY

GENERAL DATA

Sponsor: MI DRILLING FLUIDS.

Product: CONTROL #2 DRILLING FLUID.

Manufacturer: MI DRILLING FLUIDS.

Tecam Code: T06510-00.

Test: Acute toxicity with *Mysidopsis juniae*.

Methodology: CETESB, 1992; USEPA, 1993.

Study Director: Regina Sawaia Sáfadi (MSc).

PRODUCT DATA

Received: 03/16/00.

Type: Drilling fluid.

Physical state: Liquid.

Composition (data from manufacturer):

Caustic soda	0.3 ppb
Bentonite	15 ppb
Diesel	5%

TEST CONDITIONS

Initial date: 04/07/00.

Ending date: 04/11/00.

Specie: *Mysidopsis juniae*.

Feeding: *Artemia* nauplii.

Duration: 96 hours.

Average water temperature: 24.5 ± 0.3 °C.

Photoperiod: 12 hours light and 12 hours darkness.

Solution renewal: static test.

rt06510my.doc

14/04/00




TECAM
TECNOLOGIA AMBIENTAL

CONFIDENCIAL

8

Aeration: yes.

Dilution water and control: synthetic seawater (salinity 32 - 35 ‰).

Concentrations (dilutions of suspended particulate phase): 2,400 ppm; 8,000 ppm;
27,000 ppm; 90,000 ppm; 300,000 ppm; 1,000,000 ppm.

CONCLUSION

The median lethal concentration of the suspended particulate phase (SPP) of product **CONTROL #2 DRILLING FLUID**, under the test conditions, was considered:

96-h LC50 < 2,400 ppm SPP

rit06510my.doc

14/04/00





CONFIDENCIAL

9

PROCEDIMENTOS

1. Sistema teste

A espécie utilizada foi *Mysidopsis juniae* (Crustacea, Mysidacea). Os jovens foram obtidos junto ao Laboratório de Ecotoxicologia da Cetesb e aclimatados às condições do laboratório por no mínimo 24 horas antes do início do teste.

2. Preparo da amostra e soluções

Os procedimentos utilizados para o preparo das diluições de teste seguiram a metodologia padronizada pela EPA para testes com fluido de perfuração, do qual se prepara uma diluição 1:9 com água marinha e se expõe os organismos a diluições da fase de sólidos suspensos (FSS) da mistura (USEPA, 1993).

O produto foi homogeneizado com agitador industrial por 30 minutos e o pH foi ajustado para $\pm 0,2$ unidades do pH da água de diluição (água marinha sintética). Uma alíquota de 200 mL foi retirada, diluída com 800 mL de água marinha (diluição 1:9) e a mistura foi mantida sob agitação magnética por 5 minutos, com pH ajustado para $7,8 \pm 0,1$. Esta mistura foi mantida em repouso para decantação por 1 hora, na mesma temperatura de teste. A fase de sólidos suspensos (FSS) obtida foi cuidadosamente retirada e as seguintes soluções teste foram preparadas:

- A. **1.000.000 ppm:** 300 mL da FSS em cada frasco-teste.
- B. **300.000 ppm:** 300 mL da FSS + água de diluição até 1000 mL.
- C. **90.000 ppm:** 90 mL da FSS + água de diluição até 1000 mL.
- D. **27.000 ppm:** 27 mL da FSS + água de diluição até 1000 mL.
- E. **8.000 ppm:** 8 mL da FSS + água de diluição até 1000 mL.
- F. **2.400 ppm:** 2,4 mL da FSS + água de diluição até 1000 mL.

rlt06510my.doc

14/04/00





CONFIDENCIAL

10

3. Condições de teste

Jovens com 3 a 5 dias idade foram transferidos aleatoriamente, com auxílio de uma pipeta Pasteur, para béqueres de 30 mL com pequeno volume de água marinha e adicionados aleatoriamente aos frascos teste com cerca de 250 mL de solução teste. Foram colocados dez jovens em cada frasco, com três réplicas em cada concentração das soluções teste. Um controle com três réplicas e somente com água de diluição foi preparado da mesma forma.

O teste foi incubado a $24,5 \pm 0,3$ °C, em ambiente com fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro, com aeração suave e contínua em todos os frascos. Os animais foram alimentados diariamente com 1 gota de solução concentrada de náuplios de *Artemia* recém-eclodidos por frasco. A cada 24 horas foram contados os animais vivos e os mortos foram removidos. Para as soluções com turbidez elevada ou com material decantado a contagem dos animais foi realizada somente no final do teste, após 96 horas de exposição.

Diariamente foram realizadas análises de pH, salinidade e oxigênio dissolvido de uma réplica do controle e de cada concentração.

RESULTADOS E CONCLUSÃO

O resultado do teste com o produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO CONTROL #2** está apresentado na Tabela 1, com dados de mortalidade e análises físicas e químicas efetuadas durante o teste.

Nas concentrações superiores a 27.000 ppm houve decantação de material, impedindo a observação dos animais antes do final do teste. Após somente 24 horas de exposição, foi observada mortalidade de 100% dos animais expostos a todas as concentrações preparadas. Em função deste resultado, a concentração letal mediana

rlt06510my.doc

14/04/00



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA

WBM 043

**TESTE DE TOXICIDADE DO FLUIDO INICIAL GEL SWEEPS COM O
OURIÇO-DO-MAR *Lytechinus variegatus* (Echinodermata-Echinoidea)**

Solicitante:

M-I Drilling Fluids do Brasil Ltda
Rua Francisco Serrador, 2 - 5º Andar
Rio de Janeiro - RJ
CEP 20031 060

Executado por:

Laboratório de Ecotoxicologia
Departamento de Zoologia - Instituto de Biologia
Universidade Federal do Rio de Janeiro/Fundação Universitária José Bonifácio

Teste nº 523

Projeto: FUJB nº 4096-7 (avulsos)

Tel: (21) 2562 6364/6365

Rio de Janeiro

ENGLISH SUMMARY

Objective

The purpose of this study was to determine the chronic toxicity of the drilling fluid **Inicial - Gel Sweeps** to sea-urchin (*Lytechinus variegatus*), submitted by M-I Drilling Fluids do Brasil Ltda. in a test conducted on January 24th, 2002.

Methods

The drilling fluid sample was delivered to Laboratório de Ecotoxicologia – UFRJ on January 11th, 2002. The sample was stored at 1-4°C.

At the time of the test, the drilling fluid was homogenized using an industrial mixer for 30 minutes at 1,500 rpm. Then, a 1:9 ratio of drilling fluid seawater slurry was prepared by adding 100 mL of homogenized sample to 900 mL of a natural filtered seawater. The solution preparation was mixed for five minutes at 150 rpm and allowed to settle for one hour.

The suspended particulate phase (SPP) was decanted, leaving settled particles on the bottom of the flask, and mixed on a stirplate until the time of the test. The SPP was used as the 1,000,000 ppm (100%) test concentration. The pH was adjusted from 9,31 to 8,31 with 0,05 mL de HCL and 4,0 mL de NaOH. An aliquot of the SPP was then added to each 100 mL volumetric flasks with the proper volume of 35±1‰ natural seawater. The SPP was added to each replicate in increasing order of concentration, beginning with the 100-ppm concentration and ending with the 894,740-ppm concentration. A control group was included containing only 10 mL of the dilution water per test chamber.

SUMMARY OF TEST CONDITIONS

1. Test type:	Static non-renewal
2. Temperature:	25 ± 1,0°C
3. Photoperiod:	12 h light, 12 h darkness
4. Test chamber:	Test tube
5. Test solution volume:	10 MI
6. Organisms origin:	Gametes obtained from adult females
7. No. organisms per test tube:	300 eggs
8.No.replicates tube per concentration:	4
9. No. of concentrations:	13 + 1 control
10. Test duration:	28 hours
11. Dilution water	Natural filtered seawater (0,45 µm)
12. Salinity:	34 ‰
13. Endpoint:	Abnormal embryos
14. Analytical Method:	LOEC/NOEC Toxstat (Gulley <i>et al.</i> , 1991)
15. Test acceptability criterion:	80% of normal embryos in control
16. Reference substance:	SDS
17. Range of sensitivity:	1,02 a 2,82 mgSDS/L
18. Test result	LOEC > 894,740 ppm

Handwritten signature



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA

LAUDO DE TOXICIDADE

Órgão requisitante: M-I Drilling Fluids do Brasil Ltda

Técnico requisitante: José França

Endereço: Rua Francisco Serrador, 2 - 5º Andar

Telefone: (21) 2210-3241

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)

Responsável pelo preparo da amostra: M-I Drilling Fluids do Brasil Ltda

Local de preparo da amostra: Rua Jesus Soares Pereira, 507 - Costa do Sol - Macaé - RJ

Identificação da amostra pelo solicitante: Fluido Inicial Gel Sweeps

Amostra nº 47

Data de preparo: 11/01/2002

Código de entrada no Laboratório de Ecotoxicologia: 040102 UFRJ

Composição da amostra:

Fresh Water	0,97 (Calculado no MUD CALC)	bb1
Local Bentonite	28,0	lb/bb1
Caustic Soda 96%	0,5	lb/bb1
Soda Ash	0,25	lb/bb1

RESULTADO DEFINITIVO

TESTE EMBRIOLÓGICO

CEO > 894.740 ppm

Controle: 81% de pluteus

DSS: CE50 = 2,76 mg L⁻¹ (IC = 2,63 - 2,89 mg L⁻¹)

Handwritten signature



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA

1 - OBJETIVO

Este estudo teve como objetivo avaliar a toxicidade crônica de curta duração do Fluido Inicial Gel Sweeps sobre os embriões do ouriço *Lytechinus variegatus*, em um teste realizado em 24/01/2002.

2 - METODOLOGIA

O teste embriológico seguiu a Norma CETESB (1992). Este teste consiste na exposição dos ovos a diferentes concentrações do poluente, 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) é obtido através do teste de hipóteses utilizando-se o programa estatístico TOXSTAT versão 3.3 (Gulley *et al.*, 1991). Após a obtenção destes valores é realizado o cálculo do VC (valor crônico), que representa a média geométrica de CENO e CEO e indica a concentração máxima aceitável da amostra.

mp



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA

A normalidade e homocedasticidade da proporção de embriões desenvolvidos é verificada através dos testes de “Chi-square” e “Bartlett”, respectivamente. A estimativa dos valores de CENO e CEO é feita através de teste paramétrico.

No teste com o fluido Inicial Gel Sweeps, por ter sido observado efeito inferior a 20% na maior concentração testada (894.740 ppm), não foi necessário a realização de análise estatística.

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.....	13 + 1 controle*
Alimentação.....	sem alimentação
Água de diluição.....	água do mar natural filtrada (0,45 µm)
Salinidade da água.....	34‰
Duração do teste.....	28 horas
Resposta.....	embriões mal formados ou com o desenvolvimento retardado
Expressão do resultado.....	CENO, CEO e VC
Método de cálculo.....	Toxstar (Gulley <i>et al.</i> , 1991)

*Controle: exposição do organismo à água de diluição (água do mar natural) nas mesmas condições da amostra.

Handwritten signature



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA

PREPARO DA AMOSTRA

A amostra do fluido foi mantida a uma temperatura aproximada de 4°C, até a hora da realização do teste. A preparação do fluido foi realizada com base nas metodologias propostas por API (1984); Duke *et al.* (1984) e Veiga (1998). Assim, a amostra foi homogeneizada em um misturador industrial por 30 minutos a uma velocidade de 1.500 rpm. Preparou-se, então, um extrato aquoso a uma proporção de 1:9, utilizando-se 100 mL da amostra homogeneizada e 900 mL de água do mar em um béquer de 2L. O extrato foi homogeneizado em misturador industrial por 5 minutos a 150 rpm e decantado por 1 hora. Após este tempo, a fração particulada suspensa (FPS) foi retirada, deixando a fase decantada no fundo do béquer. A salinidade foi ajustada de 30‰ para 34‰, obtendo-se uma concentração de 894.740. O pH foi ajustado de 9,31 para 8,31 com 50 µL de HCl e 4 mL de NaOH. A FPS foi misturada em agitador magnético e a partir da FPS, foram preparadas as outras soluções teste. Foram testadas as seguintes concentrações: 100; 250; 500; 1.000; 5.000; 10.000; 30.000; 50.000; 100.000; 300.000; 500.000; 700.000 e 894.740 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;
- Os parâmetros de qualidade da água estiverem dentro dos limites estabelecidos para a espécie;
- O resultado com a substância de referência estiver dentro do limite estabelecido para a espécie pelo laboratório de Ecotoxicologia da UFRJ (1,02 - 2,82 mg.L⁻¹).

ref



3 - RESULTADOS

Os valores de oxigênio, pH e salinidade, estiveram dentro dos limites aceitáveis para a espécie (fichas em anexo).

O Fluido Inicial Gel Sweeps apresentou valor de CEO (concentração de efeito observado) superior a 894.740 ppm, maior concentração testada.

Os dados brutos da contagem do número de pluteus mal formados e/ou com atraso no desenvolvimento são apresentados na tabela I.

O valor médio do percentual de pluteus saudáveis obtido no controle foi de 81% e a CE50 obtida com a substância de referência (DSS) foi de 2,76 mg L⁻¹ (IC = 2,63 - 2,89 mg.L⁻¹).

4 - CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no controle, com o padrão e nas análises físicas e químicas estiveram dentro dos limites estabelecidos, garantindo a aceitabilidade do teste.

Nas condições de teste, o Fluido Inicial Gel Sweeps, não apresentou efeito crônico para os embriões de *Lytechinus variegatus*, com o valor de CEO sendo superior a 894.740 ppm.

Tabela I. Número de pluteus afetados e saudáveis de *L. variegatus* expostos a diferentes concentrações do Fluido Inicial Gel Sweeps, no teste conduzido em 24/01/2002.

Réplicas	Conc. (ppm)	saudáveis	afetados	% afetados	Média afetados	Total	Total afetados
2	Controle	80	20	0,2000	0,1900	400	76
4		81	19	0,1900			
6		83	17	0,1700			
7		80	20	0,2000			
229	894.740	86	14	0,1400	0,1425	400	57
230		84	16	0,1600			
231		87	13	0,1300			
232		86	14	0,1400			

* significativamente diferente do controle

mp



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA

5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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. 1992. Água do mar. Teste de toxicidade crônica de curta duração com *Lytechinus variegatus*, Lamarek, 1816. Norma Técnica L5.250, São Paulo, Cetesb, p20.
- 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: Environ. Protection Agency. 4p (EPA-600/s3-84-067).
- 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-Kärber Method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environmental Science & Technology*, vol. 11, nº 7.
- 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.

Rio de Janeiro, 28 de janeiro de 2002.



Maria Cristina da Silva Maurat
CRB-2 - 12.671/02



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA

6 - EQUIPE TÉCNICA

BIÓLOGAS:

MSc Leila Aparecida da Silva Kraus CRB-2 - 12.156/02
MSc Marcia Vieira Reynier CRB-2 - 07.135/02
MSc Maria Cristina da Silva Maurat CRB-2 - 12.671/02

TÉCNICAS:

Priscila Reis da Silva
Viviane Euzébio Luiz.

ANEXOS



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA - DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA
LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

TESTE N° 523 Data: 29/01/02 Organismo-teste: A. variegatus
Tipo de teste: () fecundação () embriológico

Amostra: Inicial - Gd sweeps (Fluio) Cód. de entrada no laboratório: 040102
Data de entrada: 11/01/2002 Data do preparo da amostra: 11/01/02
DADOS DO SOBRENADANTE
Salinidade: 30 ‰ pH: 9,31 OD: 5,66 mg/L

AJUSTE DA SALINIDADE () SIM () NÃO				
Volume de água destilada	Volume de salmoura:	Volume de amostra:	Salinidade final da amostra:	Concentração final da amostra:
<u>—</u> mL	<u>52,63</u> mL	<u>447,37</u> mL	<u>34</u> ‰	<u>894,740</u> ppm
SALMOURA				
Método de obtenção: <u>Congelamento</u> Salinidade: <u>68</u> ‰ pH: <u>7,94</u>				

AJUSTE DO pH (<input checked="" type="checkbox"/>) SIM () NÃO			
Volume da amostra:	Adição:		
<u>500</u> mL	<u>0,05</u> mL de HCl	pH final: <u>7,09</u>	
	<u>4,0</u> mL de NaOH	pH final: <u>8,31</u>	

DADOS DA ÁGUA DE DILUIÇÃO			
Local de coleta: <u>Angra dos Reis</u>	Data: <u>29/11/01</u>		
Data de filtração: <u>23/01/02</u>	Aeração: Data <u>29/01/02</u>		
Salinidade: <u>34</u> ‰	pH: <u>8,44</u>	OD: <u>5,66</u> mg/L	

OBS. _____



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA - DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA
LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

TESTE N° 523

Amostra: F. Wiro Inicial - Gel Sweeps

Solução-estoque: 894.740 ppm Vol. final a ser preparado: 100 mL

Concentração (ppm)	Vol. amostra a 100% adicionada (mL)	Vol. água do mar adicionada (mL)	Número dos tubos	
			leitura	F/Q
0,0	—	100	1-9	10
100	0,01	99,99	179-182	183
250	0,028	99,97	184-187	
500	0,056	99,95	188-191	
1000	0,112	99,9	192-195	
5000	0,559	99,5	196-199	
10.000	1,12	99,0	200-203	204
30.000	3,35	97,0	205-208	
50.000	5,59	95,0	209-212	
100.000	11,18	90,0	213-216	
300.000	33,53	66,5	217-220	
500.000	55,88	44,12	221-224	
700.000	78,24	21,76	225-228	
894.740	100	—	229-232	233

OBS:



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA - DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA
LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

TESTE N° 523

PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS DAS SOLUÇÕES-TESTE

Temperatura: Sala: ± 25 °C Incubadora: 25 ± 0,5 °C

Concentração (ppm)	Início			Término		
	OD mg/L	pH	S ‰	OD mg/L	pH	S ‰
0,0	5,66	8,44	34	5,30	8,47	34
100	6,20	8,32	34	5,63	8,51	34
10.000	6,25	8,36	34	5,68	8,47	34
894.740	6,26	8,31	34	5,24	8,57	34



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA

WBM043

TESTE DE TOXICIDADE DO FLUIDO INICIAL GEL SWEEPS
COM *Mysidopsis juniae* (CRUSTACEA-MYSIDACEA)

Solicitante:

M-I Drilling Fluids do Brasil Ltda
Rua Francisco Serrador, 2 - 5º Andar
Rio de Janeiro - RJ
CEP 20031 060

Executado por:

Laboratório de Ecotoxicologia
Departamento de Zoologia - Instituto de Biologia
Universidade Federal do Rio de Janeiro/Fundação Universitária José Bonifácio

Teste nº 522

Projeto: FUJB nº 4096-7 (avulsos)

Tel: (21) 2562 6364/6365

Rio de Janeiro

ENGLISH SUMMARY

Objective

The purpose of this study was to determine the acute toxicity of a spoiled drilling fluid **Inicial Tratado Gel Sweeps** to mysids (*Mysidopsis juniae*), submitted by M-I Drilling Fluids do Brasil Ltda. in a test conducted on January 15th, 2002.

Methods

The drilling fluid sample was delivered to Laboratório de Ecotoxicologia – UFRJ on February 11th, 2002 in three 500 mL flasks. The sample was stored at 1-4°C.

At the time of the test, the drilling fluid was homogenized using an industrial mixer for 30 minutes at 1,500 rpm. Then, a 1:9 ratio of drilling fluid seawater slurry was prepared by adding 600 mL of homogenized sample to 5,400 mL of a natural filtered seawater. The solution preparation was mixed for five minutes at 150 rpm and allowed to settle for one hour.

The suspended particulate phase (SPP) was decanted, leaving settled particles on the bottom of the flask, and mixed on a stirplate until the time of the test. The SPP was used as the 1,000,000 ppm (100%) test concentration. The pH was adjusted from 9,88 to 8,37 with 600 µL of HCL. An aliquot of the SPP was then added to each 3,000 mL volumetric flasks with the proper volume of 35±1‰ natural seawater. The SPP was added to each replicate in increasing order of concentration, beginning with the 10,000-ppm concentration and ending with the 1,000,000-ppm concentration. A control group was included containing only 1,000 mL of the dilution water per test chamber.

SUMMARY OF TEST CONDITIONS

1. Test type:	Static non-renewal
2. Temperature:	25±0,5°C
3. Photoperiod:	12 h light, 12 h darkness
4. Test chamber size:	1,000 mL
5. Test solution volume:	1,000 mL
6. Organisms origin:	Lab. Ecotoxicology - UFRJ
7. Age of test organisms:	1-4 days
8. No. organisms per test chamber:	10
9. No. replicate chambers per concentration:	3
10. No. of concentrations:	8 + 1 control
11. No organisms per concentration:	30
12. Feeding regime:	<i>Artemia nauplii</i> once daily
13. Test duration:	96 hours
14. Dilution water	Natural filtered seawater
15. Salinity:	35 ± 2 ‰
16. Endpoint:	Mortality (LC50)
17. Analytical Method:	Trimmed (Hamilton <i>et al.</i> , 1977)
18. Test acceptability criterion:	90% or greater survival in controls
19. Reference substance:	Zinc
20. Range of sensitivity:	0,20 – 0,36 mgZn/mL
21. Test result	CL50; 96h > 1,000,000 ppm

Jhonny

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA

LAUDO DE TOXICIDADE

Órgão requisitante: M-I Drilling Fluids do Brasil Ltda

Técnico requisitante: José França

Endereço: Rua Francisco Serrador, 2 - 5º Andar

Telefone: (21) 2210-3241

Avaliação solicitada: Teste de toxicidade aguda com microcrustáceo misidáceo

Organismo teste: *Mysidopsis juniae*

Tipo de teste: Agudo

Resposta do teste: Efeitos sobre a SOBREVIVÊNCIA

Responsável pelo preparo da amostra: M-I Drilling Fluids do Brasil Ltda

Local de preparo da amostra: Rua Jesus Soares Pereira, 507 - Costa do Sol - Macaé - RJ

Identificação da amostra pelo solicitante: Fluido Inicial Gel Sweeps

Amostra nº 47

Data de preparo: 11/01/2002

Código de entrada no Laboratório de Ecotoxicologia: 040102

Composição da amostra:

Fresh water	0,97 (Calculado no MUD CALC)	bb1
Local Bentonite	28,0	Ib/bbl
Caustic Soda 96%	0,5	Ib/bbl
Soda Ash	0,25	Ib/bbl

RESULTADO DEFINITIVO

CL50; 96 horas: > 1.000.000 ppm

Sobrevivência no controle: 96,7 %

Padrão (Zinco): 0,34 mg/L (IC = 0,30 – 0,38 mg/L)



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA

1 - OBJETIVO

O objetivo deste teste, realizado em 15 de janeiro de 2002, foi verificar a toxicidade aguda do Fluido Inicial Gel Sweeps sobre o microcrustáceo *Mysidopsis jumiæ*.

2 - METODOLOGIA

A determinação da toxicidade aguda do fluido de perfuração em relação à *M. jumiæ* seguiu a metodologia descrita em Reynier (1996), modificada.

Jovens de *M. jumiæ* com 1 a 4 dias de idade, foram expostos a diferentes concentrações do produto, num sistema estático por um período de 96 horas.

A toxicidade foi medida em termos de efeitos sobre a sobrevivência, em leituras do teste a cada 24 horas.

São consideradas não tóxicas amostras que apresentam o máximo de 20% de mortalidade na concentração de 100%.

A cada série de amostra testada é realizado um teste de toxicidade com o padrão, zinco (Zn), na forma de sulfato de zinco heptahidratado, com o objetivo de verificar se os organismos estão respondendo dentro da faixa de toxicidade previamente estabelecida.





UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

INSTITUTO DE BIOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA

RESUMO DAS CONDIÇÕES DE TESTE

Tipo de teste:	estático sem renovação, com aeração
Temperatura de incubação:	25 ± 0,5 °C
Luminosidade:	12 horas claro/12 horas escuro
Frasco teste:	béquer de 1.000 mL
Volume de solução teste:	1.000 mL
Origem dos organismos:	Cultivo Lab. Ecotoxicologia UFRJ
Idade dos organismos:	1 a 4 dias
Nº de organismos / frasco:	10
Nº de réplicas / concentração:	3
Nº de diluições:	8 + 1 controle *
Alimentação:	30 náuplios de <i>Artemia</i> sp. recém eclodidos/ misidáceo/dia
Água de diluição:	água do mar natural filtrada
Salinidade da água:	35±1‰
Duração do teste:	96 horas
Resposta:	mortalidade
Valor medido:	CL50; 96h (concentração letal a 50% dos Organismos em teste em um período de 96h)
Método de cálculo:	Trimmed Spearman-Kärber (Hamilton <i>et al.</i> , 1977)

* Controle com água de diluição: exposição do organismo à água de diluição (água do mar natural) nas mesmas condições da amostra.

Manoel

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ECOLOGIA**PREPARO DA AMOSTRA**

A amostra do fluido foi mantida a uma temperatura aproximada de 4°C, até a hora da realização do teste. A preparação do fluido foi realizada com base nas metodologias propostas por API (1984); Duke *et al.* (1984) e Veiga (1998). Assim, a amostra foi homogeneizada em um misturador industrial por 30 minutos a uma velocidade de 1.500 rpm. Preparou-se, então, um extrato aquoso a uma proporção de 1:9, utilizando-se 600 mL da amostra homogeneizada e 5.400 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 tempo, a fração particulada suspensa (FPS) foi retirada, deixando a fase decantada no fundo do béquer. A FPS, que teve o pH ajustado de 9,88 para 8,37, com 600 µL de HCl, foi misturada em agitador magnético e a partir dela, foram preparadas as outras soluções teste. Foram testadas as seguintes concentrações: 10.000; 30.000; 50.000; 100.000; 300.000; 500.000; 700.000 e 1.000.000 ppm (fichas em anexo).

VALIDADE DO TESTE

O teste é considerado válido quando o percentual de mortalidade no controle é menor ou igual a 10% e, a resposta (CL50) ao zinco estiver dentro da faixa de sensibilidade prevista. A faixa de toxicidade com o padrão zinco (0,20 – 0,36 mg/L) foi estabelecida para esta espécie pelo Laboratório de Ecotoxicologia da Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental - CETESB.

3 - RESULTADOS

A tabela 1 apresenta o percentual de misidáceos mortos e o número de misidáceos vivos durante a leitura realizada a cada 24 horas nas diferentes concentrações testadas. A CL50;96h foi superior a 1.000.000 ppm, maior concentração testada, e a sobrevivência no controle foi de 96,7%.

Os resultados de salinidade, pH e oxigênio dissolvido, medidos no início e no final do teste nas diferentes concentrações, encontram-se listados na ficha em anexo.

O resultado da CL50; 96h obtido com o zinco foi 0,34 mg/L (IC = 0,30 – 0,38 mg/L).





UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

INSTITUTO DE BIOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA

Tabela 1 - Resultados de sobrevivência e do percentual de mortalidade de misidáceos durante a leitura realizada a cada 24 horas, no teste conduzido com o Fluido Inicial Gel Sweeps.

Concentração da amostra (ppm)	Número de misidáceos vivos					Mortalidade após 96h (%)
	0 h	24h	48h	72h	96h	
Controle	10	10	10	10	10	3,3
	10	10	10	9	9	
	10	10	10	10	10	
10.000	10	10	10	10	10	3,3
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	9	9	
30.000	10	10	10	10	10	3,3
	10	10	9	9	9	
	10	10	10	10	10	
50.000	10	10	10	10	10	3,3
	10	10	9	9	9	
	10	10	10	10	10	
100.000	10	10	9	9	9	3,3
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
300.000	10	10	10	10	10	6,6
	10	9	9	9	9	
	10	9	9	9	9	
500.000	10	10	10	10	10	3,3
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	9	
700.000	10	10	10	9	9	3,3
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
1.000.000	10	10	10	10	10	3,3
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	9	

J. Soares



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

INSTITUTO DE BIOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA

7

4 - CONCLUSÃO

O resultado obtido com o padrão encontra-se dentro da faixa estabelecida para a espécie.

A sobrevivência no controle (96,7%) e os resultados obtidos nas análises químicas validam o teste realizado. Os resultados indicam que o fluido de perfuração Inicial Gel Sweeps não apresentou efeito agudo para *Mysidopsis juniae*, nas condições de teste.

5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- American Petroleum Institute. 1984. Recommended practice. Standard procedure for liquid drilling fluid bioassays (Tentative). Washington (API RP 13H).
- 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 (EPA-600/s3-84-067).
- Hamilton, M.; Russo, R.C. & Thurston, R.V. Trimmed Spearman-Kärber Method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environmental Science & Technology*, 1977, vol. 11, nº 7.
- Rand, G.M. 1995. *Fundamentals of Aquatic toxicology. Effects environmental fate, and risk assessment*. 2ª. Ed. 1125 p.
- Reynier, M.V. 1996. Aspectos do ciclo de vida de *Mysidium gracile* (Dana, 1852) (Crustacea – Mysidacea) e um estudo sobre a sua adequação para testes de toxicidade com hidrocarbonetos. Dissertação de Mestrado. Escola de Engenharia de São Carlos, USP, São Paulo, 95p.
- 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.

Handwritten signature



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA

6 - EQUIPE TÉCNICA

BIÓLOGAS:

MSc Leila Aparecida da Silva Kraus CRB-2 - 12.156/02
MSc Marcia Vieira Reynier CRB-2 - 07.135/02
MSc Maria Cristina da Silva Maurat CRB-2 - 12.671/02

TÉCNICAS:

Priscila Reis da Silva
Viviane Euzébio Luiz

Rio de Janeiro, 22 de janeiro de 2002.


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

ANEXOS



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA - DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA
LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

TESTE Nº 522 Operador(es): Wiltonne Rita Reis Maria
Espécie: H. gmel

ORIGEM DOS ORGANISMOS			
Cultivo (X)	Fonte:	<u>lab Ecotoxicologia UFRJ</u>	
Campo ()	Local de coleta:	Temperatura:	°C
	Data:	Salinidade:	‰

MANUTENÇÃO DOS ORGANISMOS:			
Alimento: náuplios de <i>Artemia</i> sp. <i>ad libitum</i>	Temperatura:	<u>25 ± 1</u> °C	
Tempo de cultivo: <u>4</u> dias	Salinidade:	<u>35 ± 1</u> ‰	
Idade dos organismos: <u>1 a 4</u> dias	Fotoperíodo:	12:12h	

TESTE			
INÍCIO	Data:	Hora:	
	<u>15 / 01 / 02</u>	<u>13 h 00 min</u>	
TÉRMINO	Data:	Hora:	
	<u>19 / 01 / 02</u>	<u>14 h 00 min</u>	
Preliminar ()	Estático: (X)	Com aeração: (X)	
Definitivo (X)	Semi-estático () Renovação: _____ h.	Sem aeração: ()	



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA • DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA
LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

AMOSTRA				
Descrição: <u>Fundo Inicial Gel Sweeps</u>				
Código de entrada no laboratório: <u>040102</u>		Data de entrada: <u>11/01/02</u>		Salinidade: <u>34</u> ‰ sem ajuste: (x) com ajuste ()
Ajuste da salinidade				
Volume de água destilada: _____ mL	Volume salmoura _____ mL	Volume de amostra: _____ mL	Salinidade final da amostra _____ ‰	Concentração final da amostra: _____ ppm
pH: da amostra () sem ajuste <u>9,88</u>		() com ajuste <u>600</u> µL de <u>HCl</u> pH final <u>8,37</u>		
Salmoura: Método _____ Salinidade: _____ ‰ pH _____				

ÁGUA DE DILUIÇÃO		
Fonte: Angra dos Reis	Data da coleta ou preparo: <u>29/11/01</u>	
Salinidade: <u>36</u> ‰	Oxigênio dissolvido: <u>6,37</u> mg/L	pH: <u>8,70</u>

Volume da solução-teste por béquer: 1000
Nº de organismos por béquer: 10
Nº de réplicas por concentração: 3



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA - DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA
LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Preparo da solução-estoque: 1.000.000 ppm (mg/L, %) Teste nº 522
600 mL (mg) da substância (amostra bruta) + 5.400 mL de água de diluição.

Preparo das soluções-teste

- Solução 1: 10.000 ppm (mg/L,%)
30 mL da solução-estoque + 2.970 mL de água de diluição.
Solução 2: 30.000 ppm (mg/L,%)
90 mL da solução-estoque + 2.910 mL de água de diluição.
Solução 3: 50.000 ppm (mg/L,%)
150 mL da solução-estoque + 2.850 mL de água de diluição.
Solução 4: 100.000 ppm (mg/L,%)
300 mL da solução-estoque + 2.700 mL de água de diluição.
Solução 5: 300.000 ppm (mg/L,%)
900 mL da solução-estoque + 2.100 mL de água de diluição.
Solução 6: 500.000 ppm (mg/L,%)
1.500 mL da solução-estoque + 1.500 mL de água de diluição.
Solução 7: 1.000.000 ppm (mg/L,%)
2.100 mL da solução-estoque + 900 mL de água de diluição.
3.000.000 → 3.000 mL " + " " " " " "

PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS DAS SOLUÇÕES-TESTE

Concentração ppm, mg/L, %	Béquer nº	Início			Término		
		S %	OD (mg/l)	pH	S %	OD (mg/l)	pH
Controlé	2	36	6.37	8.39	36	6,04	8,45
10.000	25	35	6.03	8.56	35	6,10	8,59
30.000	28	35	6.18	8.47	35	6,01	8,53
50.000	31	35	6.11	8.57	35	5,67	8,50
100.000	34	35	5.96	8.49	35	6,22	8,56
300.000	37	34	6.21	8.54	35	6,11	8,59
500.000	40	34	6.23	8.50	35	6,19	8,59
700.000	43	34	5.61	8.43	35	6,15	8,55
1.000.000	46	33	6.12	8.64	33	6,19	8,66



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA - DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA
LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

ACOMPANHAMENTO DO TESTE

TESTE Nº 522

bêquer nº	Nº de org. mortos				bêquer nº	Nº de org. mortos			
	24h	48h	72h	96h		24h	48h	72h	96h
1	∅	∅	∅	∅	41	∅	∅	∅	∅
2	∅	∅	1	∅	42	∅	∅	∅	1
3	∅	∅	∅	∅	43	∅	∅	1	∅
25	∅	∅	∅	∅	44	∅	∅	∅	∅
26	∅	∅	∅	∅	45	∅	∅	∅	∅
27	∅	∅	1	∅	46	∅	∅	∅	∅
28	∅	∅	∅	∅	47	∅	∅	∅	∅
29	∅	1	∅	∅	48	∅	∅	∅	1
30	∅	∅	∅	∅					
31	∅	∅	∅	∅					
32	∅	1	∅	∅					
33	∅	∅	∅	∅					
34	∅	1	∅	∅					
35	∅	∅	∅	∅					
36	∅	∅	∅	∅					
37	∅	∅	∅	∅					
38	1	∅	∅	∅					
39	1	∅	∅	∅					
40	∅	∅	∅	∅					

Concentração de alimento: 30 náuplios de *Artêmia* sp. por misidáceo/dia.
 Volume da solução de *Artêmia* sp.: 0h 71 µL 24h 21 µL
 48h 36 µL 72h 29 µL



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA - DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA
LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

REGISTRO DE DADOS

TESTE Nº 522

Conc. nominal (ppm % ou mg/L)	réplica 1		réplica 2		réplica 3		réplica 4		Total de mortos	Mortalidade %
	M	V	M	V	M	V	M	V		
controle	0	10	1	9	0	10	—	—	1	3,3
10.000	0	10	0	10	1	9	—	—	1	3,3
30.000	0	10	1	9	0	10	—	—	1	3,3
50.000	0	10	1	9	0	10	—	—	1	3,3
100.000	1	9	0	10	0	10	—	—	1	3,3
300.000	0	10	1	9	1	9	—	—	2	6,6
500.000	0	10	0	10	1	9	—	—	1	3,3
700.000	1	9	0	10	0	10	—	—	1	3,3
1.000.000	0	10	0	10	1	9	—	—	1	3,3

M = número de organismos mortos
V = número de organismos vivos

Sobrevivência no controle: 96,7 %

Obs:

RANDOMIZAÇÃO DE BÉQUERES

Concentração (ppm)	Béquer nº	Concentração (ppm)	Béquer nº
controle	1-3	300.000	37-39
10.000	25-27	500.000	40-42
30.000	28-30	700.000	43-45
50.000	31-33	1.000.000	46-48
100.000	34-36		



1
L1752LVC

TESTE DE TOXICIDADE DO FLUIDO ALPHADRIL - AMOSTRA Nº 161
UTILIZANDO *Lytechinus variegatus* (Echinodermata-Echinoidea)

SOLICITANTE:

M-I Drilling Fluids do Brasil Ltda
Rua 19 de Fevereiro, nº 30 - 4º Andar
Botafogo, Rio de Janeiro - RJ
CEP 22280-030

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 1752LVC

Rio de Janeiro

Avenida 24, s/nº - Polo Bio-Rio - Laboratório 4 - Cidade Universitária - Ilha do Fundão
Cep: 21941-590 – Rio de Janeiro – RJ – Tel.(5521) 3867-5651 / 3867-5501 R: 220 – e-mail: labtox@labtox.com.br
Visite nosso site: www.labtox.com.br



L1752 LVC

ENGLISH SUMMARY

Objective

The purpose of this study was to determine the chronic toxicity of the drilling fluid **Alphadril (Sample 161)** to sea-urchin (*Lytechinus variegatus*), submitted by M-I Drilling Fluids do Brasil Ltda. in a test conducted on January 18th, 2005.

Methods

The drilling fluid sample was delivered to Labtox on January 12th, 2004. The sample was stored at 1-4°C.

At the time of the test, the drilling fluid was homogenized using an industrial mixer for 30 minutes at 1,500 rpm. Then, a 1:9 ratio of drilling fluid seawater slurry was prepared by adding 100 mL of homogenized sample to 900 mL of natural filtered seawater. The solution prepared was mixed for five minutes at 150 rpm and allowed to settle for one hour.

The suspended particulate phase (SPP) was decanted, leaving settled particles on the bottom of the flask. The SPP used as the 1,000,000 ppm test concentration. An aliquot of the SPP was then added to each 100 mL volumetric flasks with the proper volume of natural seawater. The SPP was added to each replicate in increasing order of concentration, beginning with the 488-ppm concentration and ending with the 1,000,000-ppm concentration. A control group was included containing only 10 mL of the dilution water per test chamber.

SUMMARY OF TEST CONDITIONS

1. Test type:	Chronic
2. Temperature:	25±0,5°C
3. Photoperiod:	12 h light, 12 h darkness
4. Test chamber size:	Test tube
5. Test solution volume:	10 mL
6. Organisms origin:	Gametes obtained from adult
7. No. organisms per test tube:	300 eggs
8. No. replicate chambers per concentration:	4
9. No. of concentrations:	12 + 1 control
10. Test duration:	24 hours
11. Dilution water	Natural filtered seawater (0,45 µm)
12. Salinity:	36 ± 1 ‰
13. Endpoint:	Abnormal embryos
14. Analytical Method:	LOEC/NOEC Toxstat (Gulley <i>et al.</i> , 1991)
15. Test acceptability criterion:	80% of normal embryos in controls
16. Reference substance:	SDS
17. Range of sensitivity:	0,74 – 1,86 mgSDS.L ⁻¹

Test results

NOEC 31,250 ppm LOEC 62,500 ppm
CV 44,194 ppm

Reference substance: EC(I)50: 1,62 mg.L⁻¹ (IC: 1,58 – 1,65 mg.L⁻¹)

Control: 82,75 % embryos



2

L1752LVC

LAUDO DE TOXICIDADE

Órgão requisitante: M-I Drilling Fluids do Brasil Ltda

Técnico requisitante: José França

Endereço: Rua 19 de Fevereiro, nº 30 - 4º Andar

Tel.: (21) 2537-2288

Avaliações solicitadas: Teste Embriolarval

Organismo teste: *Lytechinus variegatus*

Tipos de teste: Crônico de curta duração.

Resposta do teste: Efeito no desenvolvimento dos embriões (retardamento e/ou ocorrência de anomalias)

Responsável pelo preparo da amostra: M-I Drilling Fluids do Brasil Ltda

Local de preparo da amostra: Rua Jesus Soares Pereira, 507 - Costa do Sol - Macaé - RJ

Identificação da amostra pelo solicitante: Fluido Alphadril - Amostra nº 161

Data de preparo: 10/01/2005

Código de entrada no Labtox: L175205

Data de entrada no Labtox: 12/01/2005

Data de início do teste: 18/01/2005

Data de término do teste: 19/01/2005

Composição da amostra:	PRODUTO	CONCENTRAÇÃO	UNIDADE
	Água industrial	0,87	bbf
	KCl	15	lb/bbf
	NaCl	50	lb/bbf
	Polysafe 600	1	lb/bbf
	Polypac UL	2	lb/bbf
	Duovis	2	lb/bbf
	Carbonato de cálcio 2-44	30	lb/bbf
	MI-BR Alpha free	10,00	lb/bbf
	Ultracap	1,5	lb/bbf
	Ultrahib	10,00	lb/bbf
	Ácido Cítrico	2	lb/bbf
	Bicarbonato sódio	2	lb/bbf
	M-I Lube LpH	6	lb/bbf
	Barita	20	lb/bbf
	M-I Cide	0,07	lb/bbf
	EMI-176	4,00	lb/bbf

Avenida 24, s/nº - Polo Bio-Rio - Laboratório 4 - Cidade Universitária - Ilha do Fundão
Cep: 21941-590 - Rio de Janeiro - RJ - Tel:(5521) 3867-5651 / 3867-5501 R. 220 - e-mail: labtox@labtox.com.br
Visite nosso site: www.labtox.com.br



3

L1752LVC

RESULTADOS	
CENO 31.250 ppm da FPS	CEO 62.500 ppm da FPS
VC 44.194 ppm da FPS	
Controle: 82,75 % de pluteus	
DSS: CE(I)50: 1,62 mg.L ⁻¹ (IC: 1,58 – 1,66 mg.L ⁻¹)	

1 – OBJETIVO

Este teste, realizado em 18 de janeiro de 2005, teve como objetivo determinar a toxicidade crônica de curta duração do fluido Alphadril (Amostra nº 161), sobre os embriões do ouriço *Lytechinus variegatus*.

2 – METODOLOGIA

A determinação da toxicidade crônica em relação à *L. variegatus* seguiu a metodologia descrita em CETESB (1999). O teste consiste na exposição dos ovos a diferentes diluições do fluido, avaliando-se a diluição que causa retardamento no desenvolvimento embriolar 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 larvas pluteus com desenvolvimento normal foi verificada através dos testes de “Shapiro-Wilks” e “Bartlett”,

Avenida 24, s/nº - Polo Bio-Rio - Laboratório 4 - Cidade Universitária - Ilha do Fundão
Cep: 21941-590 - Rio de Janeiro - RJ - Tel: (5521) 3867-5651 / 3867-5501 R: 220 - e-mail: labtox@labtox.com.br
Visite nosso site: www.labtox.com.br



4

L1752LVC

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.

VALIDADE DO TESTE

O teste 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 0,74 a 1,86 mg.L⁻¹.

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 dela (solução-estoque de 1.000.000 ppm), foram preparadas as soluções-teste, sendo testadas as seguintes diluições: 488; 976; 1.953; 3.906; 7.812; 15.625; 31.250; 62.500; 125.000; 250.000; 500.000 e 1.000.000 ppm (Fichas em anexo).

3 – RESULTADOS

Os dados brutos da contagem do número de pluteus normais e mal formados e/ou com atraso no desenvolvimento são apresentados na tabela I.

O valor de CENO (concentração de efeito não observado) obtido no teste com o Fluido Alphadril (Amostra nº 161) foi de 31.250 ppm da FPS, o valor de CEO (concentração de efeito observado) foi de 62.500 ppm da FPS e o VC (valor crônico) de 44.194 ppm da FPS.

O valor médio do percentual de pluteus normais obtido no controle foi de 82,75 % e a CE(I)50 obtida com a substância de referência (DSS) foi de 1,62mg.L⁻¹(IC:1,58 –1,66mg.L⁻¹).



5

L1752LVC

Os valores de oxigênio, pH e salinidade, medidos no início e final do teste são apresentados nas fichas em anexo.

RESUMO DAS CONDIÇÕES DE TESTE

Tipo de teste.....	crônico
Temperatura de incubação.....	25 ± 1° 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.....	36 ± 1 ‰
Duração do teste.....	24 horas
Resposta.....	retardamento no desenvolvimento embrionário ou anomalias
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.

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	0.168				
488	0.168	0.205		1.71	k= 1, v=27
976	0.168	0.205		1.79	k= 2, v=27
1953	0.168	0.205		1.81	k= 3, v=27
3906	0.173	0.000		1.82	k= 4, v=27
7812	0.174	0.078		1.83	k= 5, v=27
15625	0.174	0.078		1.84	k= 6, v=27
31250	0.174	0.078		1.84	k= 7, v=27
62500	0.270	4.571	*	1.84	k= 8, v=27

s = 0.030

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



6

L1752LVC

Tabela I: Número de pluteus normais e mal formados de *L. variegatus* obtidos nas diferentes diluições do fluido Alphasdril (Amostra nº 161).

Diluição da FPS (ppm)	Número de pluteus		Diluição da FPS (ppm)	Número de pluteus	
	Normais	Mal formados		Normais	Mal formados
Controle	80	20	31.250	85	15
	80	20		78	22
	88	12		85	15
	83	17		86	14
488	80	20	62.500*	69	31
	87	13		75	25
	83	17		78	22
	80	20		70	30
976	86	14	125.000*	0	100
	87	13		0	100
	82	18		0	100
	81	19		0	100
1.953	83	17	250.000*	0	100
	85	15		0	100
	80	20		0	100
	86	14		0	100
3.906	82	18	500.000*	0	100
	82	18		0	100
	84	16		0	100
	83	17		0	100
7.812	80	20	1.000.000*	0	100
	85	15		0	100
	81	19		0	100
	80	20		0	100
15.625	81	19			
	85	15			
	82	18			
	83	17			

* Significativamente diferente do controle

b



7

L1752LVC

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. (Echinodermata, Echinoidea)*. Norma Técnica L5.250, São Paulo, Cetesb, 22p.
- 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 (EPA-600/s3-84-067).
- 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, 126p.

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 Aparecida da S. Kraus

Rio de Janeiro, 21 de janeiro de 2005.



Teste nº 1752 lvc

Data Início: 19 / 01 / 05 Hora: 15:30 Término: 19 / 01 / 05
 Organismo-teste: L. variegatus Operador(es): Viviane
 Tipo de teste: () fecundação () embriológico
 Tipo de amostra: fluido Cód. entrada: 1175205 Salinidade: 37 ‰ pH: 8,68
 Solução-estoque: 100 mL (mg) da substância (amostra bruta) + 900 mL de água de diluição
 Concentração final da solução-estoque: 1.000.000 ppm (mg/L, %)

Ajuste da salinidade: Vol. água destilada — mL Vol. de salmoura: — mL
 Vol. amostra — mL Salinidade final da amostra — ‰ Conc. final da amostra: —
 Salmoura: Método: — Salinidade: — ‰ pH: —

Ajuste do pH: — µL de HCl — µL de NaOH pH final: —
 Água de diluição: Lote: 033 Salinidade: 35 ‰ pH: 8,28 OD: 6,70 mg.L⁻¹
 Vol. da solução-teste por tubo: 10 mL Vol. solução de ovos: 95 µL
 Nº de réplicas por diluição: 5

Manutenção do teste: Temperatura 25±0,5°C Fotoperíodo: 12:12h Duração do teste: 24 h

PREPARO DAS SOLUÇÕES-TESTE:			
Diluição	Vol. sol. estoque mL	Tubos nº	
		Leitura	F / Q
100	—	1-9	10
400	0,049	291 - 294	295
936	0,098	296 - 299	300
1953	0,195	301 - 304	305
3906	0,39	306 - 309	310
7812	0,78	311 - 314	315
15625	1,56	316 - 319	320
31250	3,12	321 - 324	325
62500	6,25	326 - 329	330
125000	12,5	331 - 334	335
250000	25	336 - 339	340
500000	50	341 - 344	345
1000000	100	346 - 349	350
—	—	—	—

Avenida 24, s/nº - Polo Bio-Rio - Laboratório 4 - Cidade Universitária - Ilha do Fundão
 Cep: 21941-590 - Rio de Janeiro - RJ - Tel:(5521) 3867-5651 / 3867-5501 R: 220 - e-mail: labtox@labtox.com.br
 Visite nosso site: www.labtox.com.br



Teste nº 1952 lue

2

PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS

Diluição (ppm)	Início			Término		
	S (‰)	OD	pH	S (‰)	OD	pH
0,0	35	6,70	8,28	36	6,64	8,24
488	35	7,29	8,14	36	6,85	8,24
1952	35	7,33	8,13	36	6,88	8,25
7812	35	7,45	8,15	36	6,75	8,23
31250	36	7,49	8,17	36	5,10	8,08
125000	36	7,52	8,21	36	6,55	8,21
500000	36	7,40	8,40	36	5,87	8,13
1000000	37	7,52	8,68	37	4,10	7,96

OBS: _____



1

L1752MJA

TESTE DE TOXICIDADE DO FLUIDO ALPHADRIL - AMOSTRA Nº 161
UTILIZANDO *Mysidopsis juniae* (CRUSTACEA-MYSIDACEA)

SOLICITANTE:

M-I Drilling Fluids do Brasil Ltda
Rua 19 de Fevereiro, 30 – 4º Andar
Rio de Janeiro - RJ
CEP: 22280-030

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 1752 MJA

Rio de Janeiro

Avenida 24, s/nº - Polo Bio-Rio - Laboratório 4 - Cidade Universitária - Ilha do Fundão
Cep: 21941-590 – Rio de Janeiro – RJ – Tel:(5521) 3867-5651 / 3867-5501 R: 220 – e-mail: labtox@labtox.com.br
Visite nosso site: www.labtox.com.br



L1752MJA

ENGLISH SUMMARY

Objective

The purpose of this study was to determine the acute toxicity of the fluid ALPHADRIL (Sample 161) to mysids (*Mysidopsis juniae*), submitted by M-1 Drilling Fluids do Brasil Ltda. in a test conducted on January 14th, 2005.

Methods

The sample was delivered to Labtox on January 12th, 2005. The sample was stored at 1-4°C.

At the time of the test, the drilling fluid was homogenized using an industrial mixer for 30 minutes at 1,500 rpm. Then, a 1:9 ratio of drilling fluid seawater slurry was prepared by adding 600 mL of homogenized sample to 5,400 mL of a natural filtered seawater. The solution preparation was mixed for five minutes at 150 rpm and allowed to settle for one hour.

The suspended particulate phase (SPP) was decanted, leaving settled particles on the bottom of the flask. The SPP used as the 1,000,000 ppm test concentration. An aliquot of the SPP was then added to each 3000 mL volumetric flasks with the proper volume of natural seawater. The SPP was added to each replicate in increasing order of concentration, beginning with the 7,812-ppm concentration and ending with the 250,000-ppm concentration. A control group was included containing only 1000 mL of the dilution water per test chamber.

SUMMARY OF TEST CONDITIONS

1. Test type:	Acute
2. Temperature:	25±1,0°C
3. Photoperiod:	12 h light, 12 h darkness
4. Test chamber size:	1000 mL
5. Test solution volume:	1000 mL
6. Organisms origin:	Labtox
7. Age of test organisms:	1 – 3 days
8. No. organisms per test chamber:	10
9. No. replicate chambers per concentration:	3
10. No. of concentrations:	6 + 1 control
11. No organisms per concentration:	30
12. Feeding regime:	<i>Artemia nauplii</i> once daily
13. Test duration:	96 hours
14. Dilution water	Natural filtered seawater
15. Salinity:	34 ± 1‰
16. Endpoint:	Mortality (LC(I)50)
17. Analytical Method:	Trimmed Spearman-Kärber (Hamilton <i>et al.</i> , 1977)
18. Test acceptability criterion:	90% or greater survival in controls
19. Reference substance:	Zinc
20. Range of sensitivity:	0,21 – 0,41 mgZn.L ⁻¹

Test results

LC(I) 50; 96h 68,551,56 ppm

Reference substance: LC(I)50; 96h: 0,27 mg.L⁻¹ (CL: 0,25 – 0,31 mg.L⁻¹)

Control survival: 100 %

Avenida 24, s/nº - Polo Bio-Rio - Laboratório 4 - Cidade Universitária - Ilha do Fundão
Cep: 21941-590 - Rio de Janeiro - RJ - Tel:(5521) 3867-5651 / 3867-5501 R: 220 - e-mail: labtox@labtox.com.br
Visite nosso site: www.labtox.com.br



2

L1752MJA

LAUDO DE TOXICIDADE

Órgão requisitante: M-I Drilling Fluids do Brasil Ltda

Técnico requisitante: José França

Endereço: Rua 19 de Fevereiro, nº 30 – 4º andar

Tel.: (21) 2537-2288

Avaliação solicitada: Teste de toxicidade aguda com microcrustáceo misidáceo.

Organismo teste: *Mysidopsis juniae*

Tipo de teste: Agudo

Resposta do teste: Efeitos sobre a sobrevivência

Responsável pelo preparo da amostra: M-I Drilling Fluids do Brasil Ltda

Local de preparo da amostra: Rua Jesus Soares Pereira, 507 - Costa do Sol - Macaé – RJ

Identificação da amostra pelo solicitante: Fluido Alphadril

Amostra nº 161

Data de preparo: 10/01/2005

Código de entrada no Labtox: L175205

Data de entrada no Labtox: 12/01/2005

Data de início do teste: 14/01/2005

Data de término do teste: 18/01/2005

Composição da amostra:	PRODUTO	CONCENTRAÇÃO	UNIDADE
	Água industrial	0,87	bbf
	KCl	15	lb/bbf
	NaCl	50	lb/bbf
	Polysafe 600	1	lb/bbf
	Polypac UL	2	lb/bbf
	Duovis	2	lb/bbf
	Carbonato de cálcio 2-44	30	lb/bbf
	MI-BR Alpha free	10,00	lb/bbf
	Ultracap	1,5	lb/bbf
	Ultrahib	10,00	lb/bbf
	Ácido Cítrico	2	lb/bbf
	Bicarbonato sódio	2	lb/bbf
	M-I Lube LpH	6	lb/bbf
	Barita	20	lb/bbf
	M-I Cide	0,07	lb/bbf
	EMI-176	4,00	lb/bbf

Avenida 24, s/nº - Polo Bio-Rio - Laboratório 4 - Cidade Universitária - Ilha do Fundão
Cep: 21941-590 - Rio de Janeiro - RJ - Tel: (5521) 3867-5651 / 3867-5501 R: 220 - e-mail: labtex@labtex.com.br
Visite nosso site: www.labtox.com.br



3

L1752MJA

RESULTADOS
CL(I)50; 96 horas: 68.551,56 ppm da FPS
Intervalo de confiança IC: 59.692,94 – 78.724,83 ppm da FPS
Sobrevivência no controle: 100 %
Zinco: CL(I)50: 0,27 mg.L ⁻¹ (IC: 0,25 – 0,31 mg.L ⁻¹)

1 – OBJETIVO

Este teste, realizado de 14 a 18 de janeiro de 2005, teve como objetivo determinar a toxicidade aguda do fluido Alphadril (Amostra nº 161), sobre o microcrustáceo *Mysidopsis juniae*.

2 – METODOLOGIA

A determinação da toxicidade aguda em relação à *M. juniae* seguiu a metodologia descrita em CETESB (1992).

Jovens de *M. juniae* com 1 a 3 dias de idade, foram expostos a diferentes diluições da amostra, num sistema estático por um período de 96 horas.

A toxicidade foi medida em termos de efeitos sobre a sobrevivência, em leituras do teste a cada 24 horas.

PREPARO DA AMOSTRA

A amostra do fluido foi mantida em temperatura aproximada de 4°C até a 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 600 mL da amostra homogeneizada e 5400 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 dela (solução-estoque de 1.000.000 ppm) foram preparadas as soluções-teste, sendo

Avenida 24, s/nº - Polo Bio-Rio - Laboratório 4 - Cidade Universitária - Ilha do Fundão
Cep: 21941-590 - Rio de Janeiro - RJ - Tel:(5521) 3867-5651 / 3867-5501 R: 220 - e-mail: labtox@labtox.com.br
Visite nosso site: www.labtox.com.br





4

L1752MJA

testadas as seguintes diluições: 7.812; 15.625; 31.250; 62.500; 125.000 e 250.000 ppm (Fichas em anexo). Nas diluições de 500.000 e 1.000.000 ppm os organismos morreram durante a montagem do teste.

VALIDADE DO TESTE

O teste é considerado válido quando o percentual de sobrevivência no controle é maior ou igual a 90%.

RESUMO DAS CONDIÇÕES DE TESTE

Tipo de teste: ----- agudo
Temperatura de incubação: ----- $25 \pm 1,0$ °C
Luminosidade: ----- 12 horas claro/12 horas escuro
Frasco teste: ----- béquer de 1000 mL
Volume de solução-teste: ----- 1000 mL
Origem dos organismos: ----- cultivo Labtox
Idade dos organismos: ----- 1 a 3 dias
Nº de organismos / frasco: ----- 10
Nº de réplicas / diluição: ----- 3
Nº de diluições: ----- 6 + 1 controle *
Alimentação: ----- 20 náuplios de *Artemia* sp. recém eclodidos/misidáceo/dia
Água de diluição: ----- água do mar natural filtrada
Salinidade das soluções-teste: ----- 34 ± 1 ‰
Duração do teste: ----- 96 horas
Resposta: ----- mortalidade
Valor medido: ----- CL(I)50; 96h (diluição inicial letal a 50% dos organismos em teste, em 96h)
Método de cálculo: ----- Trimmed Spearman-Kärber (Hamilton *et al.*, 1977)

* Controle: exposição do organismo à água de diluição (água do mar natural) nas mesmas condições da amostra.

CONTROLE DOS TESTES DE *Mysidopsis juniae*

Mensalmente é realizado um teste de toxicidade com o padrão, zinco (Zn), na forma de sulfato de zinco heptahidratado, com o objetivo de verificar se os organismos cultivados no Labtox estão respondendo dentro da faixa de toxicidade previamente estabelecida para a espécie pelo laboratório, que é de 0,21 a 0,41 mg.L⁻¹.

O resultado da CL(I)50; 96h obtido no teste realizado, em janeiro de 2005, com o zinco foi 0,27 mg.L⁻¹ (IC: 0,25 – 0,31 mg.L⁻¹).





5

L1752MJA

3 – RESULTADOS

A tabela I apresenta o percentual de mortalidade e o número de misidáceos vivos durante a leitura realizada a cada 24 horas, nas diferentes diluições testadas.

A CL(I)50:96h obtida com o fluido Alphadril (Amostra n° 161) foi de 68.551,56 ppm da FPS (IC: 59.692,94 – 78.724,83 ppm da FPS). A sobrevivência no controle foi de 100%.

Os valores de salinidade, pH e oxigênio dissolvido, medidos no início e no final do teste, encontram-se listados na ficha em anexo.

Tabela I - Resultados de sobrevivência e do percentual de mortalidade de misidáceos durante a leitura realizada a cada 24 horas, no teste conduzido com o fluido Alphadril -Amostra n° 161.

Diluição da FPS (ppm)	Número de misidáceos vivos					Mortalidade após 96h (%)
	0 h	24h	48h	72h	96h	
Controle	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
7.812	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
15.625	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
31.250	10	10	10	10	8	20
	10	10	10	10	7	
	10	10	10	10	9	
62.500	10	10	10	9	7	16,7
	10	10	10	10	9	
	10	10	10	10	9	
125.000	10	7	2	0	0	100
	10	8	4	0	0	
	10	3	1	0	0	
250.000	10	0	0	0	0	100
	10	0	0	0	0	
	10	0	0	0	0	





6

L1752MJA

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Test Type: Agudo Duration: 96 hours Concentration Unit: ppm

Raw Data:

Concentration: 15625 31250 62500 125000 250000

Number Exposed: 30 30 30 30 30

Mortalities: 0 6 5 30 30

SPEARMAN-KARBER TRIM: .00%

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: LC50: 68.551,56

95% Lower Confidence: 59.692,94

95% Upper Confidence: 78.724,83

4 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

American Petroleum Institute. 1984. Recommended practice. Standard procedure for liquid drilling fluid bioassays (Tentative). Washington (API RP 13H).

CETESB 1992. *Água do mar – Teste de toxicidade aguda com Mysidopsis juniae SILVA, 1979 (CRUSTACEA – MYSIDACEA)*. Norma Técnica L5.251. São Paulo, CETESB 19 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 (EPA-600/s3-84-067).

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

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.



Avenida 24, s/nº - Polo Bio-Rio - Laboratório 4 - Cidade Universitária - Ilha do Fundão
Cep: 21941-590 - Rio de Janeiro - RJ - Tel:(5521) 3867-3651 / 3867-5501 R. 220 - e-mail: labtox@labtox.com.br
Visite nosso site: www.labtox.com.br



7

L1752MJA

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. Marcia Vieira Reynier



REVISADO POR:

Dra. Maria Cristina da S. Maurat



Rio de Janeiro, 18 de janeiro de 2005.



Teste 1752 - Mja

Data Início: 14 / 01 / 05 Hora: 09:20 Término: 18 / 01 / 05
Organismo-teste: M. juncus Operador(es): DESIDERIA / GABRIELE

Tipo de amostra: Água Cód. entrada L175205 Salinidade: 35 ‰ pH 8,85
Solução-estoque: 600 mL (mg) da substância (amostra bruta) + 5400 mL de água de diluição
Concentração final da solução-estoque: 1000000 (ppm) (mg/L, ‰)
Ajuste da salinidade: Vol. água destilada - mL Vol. de salmoura: - mL
Vol. amostra - mL Salinidade final da amostra - ‰ Conc. final da amostra: -
Salmoura: Método: - Salinidade: - ‰ pH: -

Ajuste do pH: - µL de HCl - µL de NaOH pH final: -
Água de diluição: Lote: 033 Salinidade: 33 ‰ pH: 8,25 OD: 6,02 mg.L⁻¹
Origem dos organismos: Cultivo Labtox Lote: 172A Idade: 1a3 dias
Teste: Com aeração (x) Sem aeração () Estático (x) Semi-estático () renovação: - h
Vol. da solução-teste por béquer: 900 mL N° de organismos por béquer: 10
N° réplicas por diluição: 3

Atenção do teste: Temperatura 25±1°C Fotoperíodo: 12:12 h

PREPARO DAS SOLUÇÕES-TESTE		
* Avolumado para <u>3000</u> mL		
Diluição	Vol. sol. estoque mL*	Béquer n°
ppm		
0,0	-	1-3
3812	23,44	4-6
15625	46,88	7-9
31250	93,75	10-12
62500	187,5	13-15
125000	375	16-18
250000	750	19-21

OBS: Nas diluições de 500.000 e 1.000.000 ppm, os organismos morreram durante a montagem do teste.



80 1752
Teste ~~1752~~ MJC

2

ACOMPANHAMENTO DO TESTE

bêquer nº	Nº de org. mortos				bêquer nº	Nº de org. mortos			
	24h	48h	72h	96h		24h	48h	72h	96h
1	0	0	0	0	18	4	2	1	—
2	0	0	0	0	19	10	—	—	—
3	0	0	0	0	20	10	—	—	—
4	0	0	0	0	21	10	—	—	—
5	0	0	0	0					
6	0	0	0	0					
7	0	0	0	0					
8	0	0	0	0					
9	0	0	0	0					
10	0	0	0	2					
11	0	0	0	3					
12	0	0	1	1					
13	0	0	1	2					
14	0	0	0	1					
15	0	0	0	1					
16	3	5	2	—					
17	2	4	4	—					

Vol. da sol. de *Artêmia* sp.: 0h 33,5 µL 24h 39,5 µL 48h 39,5 µL 72h 45,5 µL
45

PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS DAS SOLUÇÕES-TESTE

Sobrevivência no controle: 100 %

Diluição (ppm)	Total de mortos	Mortalidade (%)	Início			Término			Bêquer nº
			S %	OD (mg.L ⁻¹)	pH	S %	OD (mg.L ⁻¹)	pH	
0,0	0	0	33	6,02	8,25	34	6,24	8,20	2
7812	0	0	33	6,85	8,25	34	7,03	8,11	4
15625	0	0	33	6,91	8,20	34	6,09	8,15	7
31250	6	90	33	6,86	8,35	34	6,13	8,10	10
62500	5	16,7	33	6,92	8,37	34	6,60	8,15	15
125000	30	100	33	7,02	8,39	34	6,98	8,22	16
250000	30	100	33	6,97	8,48	34	6,20	7,84	20

Avenida 24, s/nº - Polo Bio-Rio - Laboratório 4 - Cidade Universitária - Ilha do Fundão
Cep: 21941-590 - Rio de Janeiro - RJ - Tel:(5521) 3867-5651 / 3867-5501 R: 220 - e-mail: labtox@labtox.com.br
Visite nosso site: www.labtox.com.br

