

**ENSAIO DE TOXICIDADE COM O FLUIDO DE PERFURAÇÃO PER-FLEX  
(LOTE 02/06 SS-50) UTILIZANDO *Lytechinus variegatus*  
(ECHINODERMATA-ECHINOIDEA)**

SOLICITANTE:

Baker Hughes do Brasil Ltda.  
Avenida JFM. s/n° Lote 28 – Qd. 4 – Lagomar  
Macaé, RJ - CEP 27970-430  
Tel (22) 2765-2505

Técnico solicitante: Alexandra Costa Martins  
E-mail: alexandra.martins@bakerhughes.com

EXECUTADO POR:

LABTOX – Laboratório de Análise Ambiental Ltda  
Av. 24, s/n° - 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

Laudo 2565 LVC

Rio de Janeiro

## LAUDO DE TOXICIDADE

## DADOS DO ENSAIO

Avaliação solicitada: Ensaio Embriolarval

Organismo-teste: *Lytechinus variegatus*

Tipo de ensaio: Crônico de curta duração

Tempo de exposição: 28h

Resposta do ensaio: Efeito no desenvolvimento embriolarval (retardamento e/ou ocorrência de anomalias)

## VALIDADE DO ENSAIO

Desenvolvimento embriolarval no controle:  $\geq 80\%$

Sensibilidade do lote de organismos utilizados, à substância de referência, dentro da faixa estabelecida pelo Labtox

Substância de referência: DSS ( Dodecil sulfato de sódio)

Faixa de sensibilidade dos organismos:  $CI_{50}(I): 1,46 - 1,94 \text{ mg.L}^{-1}$  ( 21/02/2006 )

## DADOS DA AMOSTRA

Responsável pelo preparo da amostra: Baker Hughes do Brasil Ltda.

Identificação da amostra pelo solicitante: Fluido de perfuração Per-Flex - Lote 02/06 SS-50

Código de entrada no Labtox: L256506      Data de entrada da amostra no Labtox: 03/05/2006

Data de início do ensaio: 09/05/2006      Data de término do ensaio: 10/05/2006

Composição da amostra informada pelo solicitante:

Produto	Concentração	Unidade
Água industrial	-	qsp
Bicarbonato de sódio	0,3	ppb
Bio-Lose	1,6	ppb
Pac-LV	1,9	ppb
Cloreto de sódio	36	ppb
Calcário 2-44 $\mu$	22	ppb
Carbosan GT	0,3	ppb
Óxido de Magnésio	0,9	ppb
Goma Xantana	1,8	ppb
Goma Xantana clarificada	0,2	ppb
Cloreto de potássio Tipo II	15,0	ppb
Max-Guard	4,1	ppb
DFE 1408	1,2%	v/v
Max-Shield	1,2%	v/v
Bio-Spot	2,8%	v/v
Ácido cítrico	0,1	ppb

Solu-Flake fino (calcário em flocos)	2,2	ppb
Solu-Flake médio (calcário em flocos)	1,7	ppb
Aragonita 74-194 $\mu$	1,8	ppb
Calcário médio	1,8	ppb

<b>RESULTADOS</b>
<b>CENO</b> 31.250 ppm da FPS <b>CEO</b> 62.500 ppm da FPS <b>VC</b> 44.194 ppm da FPS
Controle: 88,2 % de pluteus
Ensaio com DSS (09/05/2006): 1,80mg.L <sup>-1</sup> (IC: 1,74 – 1,84mg.L <sup>-1</sup> )

FPS: Fração Particulada Suspensa    IC: Intervalo de confiança

## 1 – OBJETIVO

Este ensaio, realizado em 09 de maio de 2006, teve como objetivo determinar a toxicidade crônica de curta duração do fluido de perfuração Per-Flex (Lote 02/06 SS-50), sobre os embriões do ouriço-do-mar *Lytechinus variegatus*.

## 2 – METODOLOGIA

A determinação da toxicidade crônica em relação à *L. variegatus* seguiu a metodologia descrita em CETESB (1999), com adaptações. O ensaio consiste na exposição dos ovos a diferentes diluições do fluido, avaliando-se a solução-teste que causa retardamento no desenvolvimento embriolarval e/ou anomalias nos organismos expostos, nas condições de ensaio.

### ANÁLISE ESTATÍSTICA

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 Williams utilizando-se o programa estatístico TOXSTAT versão 3.3 (Gulley *et al.*, 1991).

Após a obtenção destes valores, foi calculado o VC (valor crônico), que representa a média geométrica de CENO e CEO.

## PREPARO DA AMOSTRA

A amostra do fluido foi mantida em temperatura inferior a 10°C até a realização do ensaio. O preparo da fração particulada suspensa (FPS), na proporção de 1:9, com água do mar, foi realizado com base nas metodologias propostas por API (1984); Duke *et al.* (1984) e Veiga (1998). A partir da FPS (solução-estoque de 1.000.000 ppm) foram preparadas as seguintes soluções-teste: 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 da FPS.

## RESUMO DAS CONDIÇÕES DE ENSAIO

Tipo de ensaio.....	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 / solução-teste.....	04
Nº de soluções-teste.....	12 + 1 controle*
Água de diluição.....	água do mar natural filtrada
Salinidade das soluções-teste.....	36 a 42 ‰
pH das soluções-teste.....	8,02 a 8,54
Oxigênio dissolvido das soluções-teste.....	4,46 a 6,75 mg.L <sup>-1</sup>
Duração do ensaio.....	28 horas
Resposta.....	retardamento no desenvolvimento embriolarval 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.

## 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.

Os valores máximos e mínimos de oxigênio, pH e salinidade medidos no início e final do ensaio, encontram-se na lista de resumo das condições de ensaio.

Tabela I: Número de pluteus normais e mal formados de *L. variegatus* obtidos nas diferentes diluições do fluido de perfuração Per-Flex (Lote 02/06 SS-50).

Solução-teste (ppm da FPS)	Número de pluteus		Solução-teste (ppm da FPS)	Número de pluteus	
	Normais	Mal formados		Normais	Mal formados
Controle	95	05	31.250	90	10
	83	17		91	09
	88	12		82	18
	87	13		88	12
488	88	12	62.500*	26	74
	94	06		28	72
	91	09		17	83
	89	11		32	68
976	93	07	125.000*	0	100
	91	09		0	100
	87	13		0	100
	89	11		0	100
1.953	87	13	250.000*	0	100
	92	08		0	100
	89	11		0	100
	91	09		0	100
3.906	87	13	500.000*	0	100
	88	12		0	100
	91	09		0	100
	90	10		0	100
7.812	90	10	1.000.000*	0	100
	85	15		0	100
	92	08		0	100
	89	11		0	100
15.625	88	12			
	89	11			
	91	09			
	92	08			

\* Significativamente diferente do controle.

## ANÁLISE ESTATÍSTICA

Transform: NO TRANSFORMATION

WILLIAMS TEST (Isotonic regression model) TABLE 2 OF 2

IDENTIFICATION	ISOTONIZED MEAN	CALC. WILLIAMS	SIG P=.05	TABLE WILLIAMS	DEGREES OF FREEDOM
Controle	0.104				
488	0.104	0.544		1.71	k= 1, v=27
976	0.104	0.544		1.79	k= 2, v=27
1953	0.104	0.544		1.81	k= 3, v=27
3906	0.107	0.428		1.82	k= 4, v=27
7812	0.107	0.428		1.83	k= 5, v=27
15625	0.107	0.428		1.84	k= 6, v=27
31250	0.123	0.198		1.84	k= 7, v=27
62500	0.743	24.705	*	1.84	k= 8, v=27

s = 0.036 Note: df used for table values are approximate when v > 20.

## GARANTIA DOS RESULTADOS

Os dados apresentados nesse laudo são confidenciais e referem-se unicamente aos resultados obtidos no ensaio com a amostra acima citada. Os dados brutos encontram-se à disposição da Empresa solicitante no Labtox.

Este laudo só pode ser reproduzido por completo. A reprodução de partes deste, só pode ser realizada com autorização escrita do Labtox.

## 4 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. 1999. *Água do mar - Teste de toxicidade crônica de curta duração com Lytechinus variegatus, Lamarck, 1816. (Echinodermata, Echinoidea)*. Norma Técnica L5.250, São Paulo, Cetesb, 22p.

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

## 5- EQUIPE TÉCNICA

### DIRETORAS:

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

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

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

### BIÓLOGAS:

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

Desideria Lima Calleja - CRBio-2 – 38219/02 P

Gabriele A. Correa da Rocha – CRBio-2 – 42496/02 P

Viviane Euzébio Luiz – CRBio-2 – 42.535/02 P

ELABORADO POR:

Dra. Marcia Vieira Reynier



REVISADO POR:

MSc Leila Aparecida da Silva Kraus



Rio de Janeiro, 18 de maio de 2006.