

L1508LVC

**TESTE DE TOXICIDADE DO FLUIDO PERFORMAX MAXIMUM UTILIZANDO**  
***Lytechinus variegatus* (Echinodermata-Echinoidea)**

SOLICITANTE:

Baker Hughes do Brasil Ltda.  
Avenida JFM, s/nº - Lote 28, Quadra 04  
Balneário Lagomar, Macaé, RJ  
CEP 27970-430 – Tel (22) 2765-2505

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

Teste 1508LVC

Rio de Janeiro

## LAUDO DE TOXICIDADE

Órgão requisitante: Baker Hughes do Brasil Ltda.

Técnico requisitante: Alexandra Martins

Endereço: Avenida JFM, s/nº - Lote 28, Quadra 04, Balneário Lagomar, Macaé, RJ –  
CEP 27970-430 Tel.: (22) 2765-2505

Avaliações solicitadas: Teste Embriológico

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: Baker Hughes do Brasil Ltda.

Identificação da amostra pelo solicitante: Fluido Performax Maximum, peso 9,7 ppg - Lote 1

Data de preparo: 24/08/2004

Código de entrada no Labtox: L150804 Data de entrada no Labtox: 24/08/2004

Composição da amostra:	Produto	Concentração	Unidade
	Pré-hydrated bentonite	3.0	ppb
	Water	0.84	bb1
	NaCl	73	ppb (20% by wt)
	Caustic soda	0.75	ppb
	Soda ash	0.25	ppb
	XANPLEX D	0.75	ppb
	NEW DRILL Plus	0.5	ppb
	MIL-PAC LV	1.0	ppb
	BIO-LOSE	1.5	ppb
	MAX-PLEX	4.0	ppb
	MAX-SHIELD	3.0%	by vol
	CLAYTROL	9.0	ppb
	DFE 1408	2.5%	by vol
	MIL-CARB	10.0	ppb

RESULTADOS	
<b>CENO</b> 44.650 ppm	<b>CEO</b> 89.300 ppm
<b>VC</b> = 63.145 ppm	
Controle: 91,7 % de pluteus	
DSS: CE(I)50 = 1,29 mg.L <sup>-1</sup> (IC = 1,24 – 1,34 mg.L <sup>-1</sup> )	

IC: Intervalo de confiança

## 1 - OBJETIVO

Este teste, realizado em 25 de agosto de 2004, teve como objetivo determinar a toxicidade crônica do Fluido Performax Maximum, sobre os embriões do ouriço *Lytechinus variegatus*.

## 2 – METODOLOGIA

O teste embriológico seguiu a Norma CETESB (1999). Este teste consiste na exposição dos ovos a diferentes diluições do fluido, avaliando-se a diluição que causa retardamento no desenvolvimento embriolarval e/ou ocorrência de anomalias nos organismos expostos, nas condições de teste.

A cada série de amostra testada é realizado um teste de toxicidade com o padrão, dodecil sulfato de sódio (DSS), com o objetivo de verificar se os organismos estão respondendo dentro da faixa de toxicidade previamente estabelecida.

### CÁLCULO DA CENO, CEO E VC

O valor de CENO (maior concentração utilizada que não causa efeito significativamente diferente do controle) e CEO (menor concentração utilizada que causa efeito significativamente diferente do controle) foi obtido através do teste de hipóteses utilizando-se o programa estatístico TOXSTAT versão 3.3 (Gulley *et al.*, 1991).

A normalidade e homocedasticidade da proporção de embriões desenvolvidos foi verificada através dos testes de “Shapiro-Wilks” e “Bartlett”, 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 e indica a concentração máxima aceitável da amostra.

### VALIDADE DO TESTE

O teste EMBRIOLÓGICO é considerado válido quando:

- Apresentar no controle o mínimo de 80% de pluteus;
- O resultado com a substância de referência estiver dentro do limite estabelecido para a espécie pelo Labtox que é de 0,74 a 1,86 mg.L<sup>-1</sup>.

## RESUMO DAS CONDIÇÕES DE TESTE

---

Tipo de teste.....	crônico
Temperatura de incubação.....	25 ± 0,5° C
Fotoperíodo.....	12:12h luz e escuro
Frasco-teste.....	tubos de ensaio
Volume de solução-teste.....	10 mL
Origem dos organismos.....	gametas obtidos de organismos coletados no campo
Nº de organismos / frasco.....	300 ovos
Nº de réplicas / diluição.....	04
Nº de diluições.....	12 + 1 controle*
Água de diluição.....	água do mar natural filtrada (0,45 µm)
Salinidade das soluções-teste.....	35 ±1 ‰
Duração do teste.....	25 horas
Resposta.....	embriões mal formados ou com o desenvolvimento retardado
Expressão do resultado.....	CENO, CEO e VC
Método de cálculo.....	Toxstat (Gulley <i>et al.</i> , 1991)

---

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

### PREPARO DA AMOSTRA

A amostra do fluido foi mantida em temperatura aproximada de 4°C, até a hora da realização do teste e sua preparação foi realizada com base nas metodologias propostas por API (1984); Duke *et al.* (1984) e Veiga (1998). Assim, a amostra foi homogeneizada em misturador industrial por 30 minutos a uma velocidade de 1.500 rpm e preparou-se um extrato aquoso a uma 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 uma hora. Após este período, a fração particulada suspensa (FPS) foi retirada e teve a salinidade ajustada de 49‰ para 35‰, resultando em uma solução-estoque de 714.400 ppm. A partir dessa solução foram preparadas as soluções-teste, sendo testadas as seguintes diluições: 349; 698; 1.395; 2.790; 5.581; 11.162; 22.325; 44.650; 89.300; 178.600; 357.200 e 714.400 ppm (Ficha em anexo).

### 3 – RESULTADOS

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

O valor de CENO (concentração de efeito não observado) obtido com Fluido Performax Maximum foi de 44.650 ppm da FPS, o valor de CEO (concentração de efeito observado) foi de 89.300 ppm da FPS e o VC (valor crônico) de 63.145 ppm da FPS.

O valor médio do percentual de pluteus saudáveis obtido no controle foi de 91,7% e a CE(I)50 obtida com a substância de referência (DSS) foi de 1,29 mg.L<sup>-1</sup> (IC = 1,24 – 1,34 mg.L<sup>-1</sup>).

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

#### 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	0.082				
349	0.082	0.035		1.70	k= 1, v=30
698	0.082	0.035		1.78	k= 2, v=30
1395	0.082	0.035		1.80	k= 3, v=30
2790	0.082	0.035		1.81	k= 4, v=30
5581	0.082	0.035		1.82	k= 5, v=30
11162	0.082	0.035		1.83	k= 6, v=30
22325	0.082	0.035		1.83	k= 7, v=30
44650	0.082	0.035		1.83	k= 8, v=30
89300	0.965	56.381	*	1.83	k= 9, v=30

s = 0.022

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

Tabela I: Número de pluteus saudáveis e afetados de *L. variegatus* obtido no controle e nas diferentes diluições do Fluido Performax Maximum.

Diluição da amostra (ppm)	Número de pluteus		Diluição da amostra (ppm)	Número de pluteus	
	Saudáveis	Afetados		Saudáveis	Afetados
Controle	91	09	22.325	94	06
	90	10		96	04
	94	06		98	02
	92	08		97	03
349	89	11	44.650	95	05
	88	12		91	09
	90	10		92	08
	92	08		92	08
698	97	03	89.300*	04	96
	89	11		04	96
	93	07		03	97
	89	11		03	97
1.395	95	05	178.600*	0	100
	88	12		0	100
	93	07		0	100
	90	10		0	100
2.790	89	11	357.200*	0	100
	90	10		0	100
	86	14		0	100
	85	15		0	100
5.581	94	06	714.400*	0	100
	89	11		0	100
	92	08		0	100
	93	07		0	100
11.162	94	06			
	93	07			
	91	09			
	94	06			

\* Significativamente diferente do controle

#### 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.
- 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.

#### 5 - EQUIPE TÉCNICA

##### DIRETORAS:

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

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

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

Coordenadora de Pesquisa e Tecnologia: Viviane Euzébio Luiz

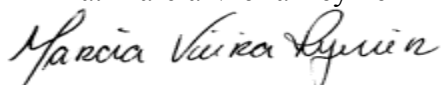
##### BIÓLOGAS:

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

Desideria Lima Calleja - CRB-2 - 38219/02 P

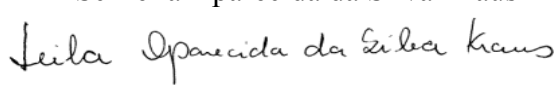
ELABORADO POR:

Dra. Marcia Vieira Reynier



REVISADO POR:

MSc Leila Aparecida da Silva Kraus



Rio de Janeiro, 12 de setembro de 2004.