

**ENSAIO DE TOXICIDADE DO FLUIDO DE PERFURAÇÃO CLAYTROL
(LOTE 02/05) UTILIZANDO *Lytechinus variegatus*
(ECHINODERMATA-ECHINOIDEA)**

SOLICITANTE:

Baker Hughes do Brasil Ltda.
Rodovia Amaral Peixoto, Km 184,
L.32/34 Q.05, Balneário Lagomar, Macaé, RJ
CEP 27970-020 – 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
CEP: 21941-590

Ensaio 1957LVC

Rio de Janeiro

LAUDO DE TOXICIDADE

Empresa solicitante: Baker Hughes do Brasil Ltda.

Técnico solicitante: Alexandra Martins

Endereço: Rodovia Amaral Peixoto, Km 184, L.32/34 Q.05, Balneário Lagomar, Macaé, RJ -
CEP 27970-020 Tel.: (22) 2765-2505

Avaliações solicitadas: Ensaio embriolarval

Organismo-teste: *Lytechinus variegatus*

Tipo de ensaio: Crônico de curta duração

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

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

Identificação da amostra pelo solicitante: Fluido de perfuração Claytrol – Lote 02/05

Data de preparo: 29/04/2005

Código de entrada no Labtox: L195705

Data de entrada no Labtox: 29/04/2005

Data de início do ensaio: 03/05/2005

Data de término do ensaio: 04/05/2005

Composição da amostra:	Produto	Concentração	Unidade
	Água industrial	Qsp	Bbl eq
	Bicarbonato de sódio	0,3	lb/bbl
	Cloreto de sódio	30	lb/bbl
	Soda cáustica	0,3	lb/bbl
	Óxido de magnésio	0,75	lb/bbl
	Barilha leve	0,35	lb/bbl
	Goma Xantana	1,5	lb/bbl
	Pac LV	2,5	lb/bbl
	Pac-R	1,5	lb/bbl
	Cloreto de potássio II	15	lb/bbl
	Clay-Trol	8	lb/bbl
	Carbonato de cálcio	50	lb/bbl
	CLIFER 28	0,5	lb/bbl
	Anti Espumante com silicone	0,25	lb/bbl
	Oleato de Polietileno Glicol	2	% v/v
	Triazina	0,3	lb/bbl
	Baritina	13,5	lb/bbl

RESULTADOS
CENO 488 ppm da FPS CEO 976 ppm da FPS VC 690 ppm da FPS
Controle: 84 % de pluteus
DSS: CE(I)50: 2,02 mg.L ⁻¹ (IC: 1,95 – 2,10 mg.L ⁻¹)

IC: Intervalo de confiança

1 - OBJETIVO

Este ensaio, realizado em 03 de maio de 2005, teve como objetivo determinar a toxicidade crônica do fluido de perfuração Claytrol (Lote 02/05), sobre os embriões do ouriço *Lytechinus variegatus*.

2 – METODOLOGIA

A determinação da toxicidade crônica em relação a *L. variegatus*, seguiu a metodologia descrita em CETESB (1999). Este ensaio 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 ensaio.

A cada série de amostra testada é realizado um ensaio de toxicidade com o padrão, dodecil sulfato de sódio (DSS), com o objetivo de verificar se a sensibilidade dos organismos utilizados encontra-se 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”,

L1957LVC

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.

PREPARO DA AMOSTRA

A amostra do fluido foi mantida em temperatura aproximada de 4°C, até a hora da realização do ensaio 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 a partir dela (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 (Ficha em anexo).

RESUMO DAS CONDIÇÕES DE ENSAIO

Tipo de ensaio.....	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 / solução-teste.....	04
Nº de soluções-teste.....	12 + 1 controle*
Água de diluição.....	água do mar natural filtrada
Salinidade das soluções-teste.....	33 a 41 ‰
Duração do ensaio.....	24 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.

VALIDADE DO ENSAIO

- 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 0,88 a 2,66 mg.L⁻¹.

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 ensaio com o fluido de perfuração Claytrol (Lote 02/05) foi de 488 ppm da FPS, o valor de CEO (concentração de efeito observado) foi de 976 ppm da FPS e o VC (valor crônico) de 690 ppm da FPS.

O valor médio do percentual de pluteus normais obtido no controle foi de 84% e a CE(I)50 obtida com a substância de referência (DSS) foi de 2,02 mg.L⁻¹ (IC: 1,95 – 2,10 mg.L⁻¹).

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

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Transform: LOG BASE 10(Y)

WILLIAMS TEST (Isotonic regression model) TABLE 2 OF 2

IDENTIFICATION	ISOTONIZED MEAN	CALC. WILLIAMS	SIG P=.05	TABLE WILLIAMS	DEGREES OF FREEDOM
Controle	-0.802				
488	-0.783	0.298		1.72	k= 1, v=21
976	-0.644	2.466	*	1.80	k= 2, v=21
1953	-0.621	2.832	*	1.83	k= 3, v=21
3906	-0.566	3.689	*	1.84	k= 4, v=21
7812	-0.559	3.796	*	1.85	k= 5, v=21
15625	-0.184	9.668	*	1.85	k= 6, v=21

s = 0.090

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

Tabela I: Número de pluteus normais e mal formados de *L. variegatus* obtido no controle e nas diferentes diluições do fluido de perfuração Claytrol (Lote 02/05).

Soluções-teste (ppm)	Número de pluteus		Soluções-teste (ppm)	Número de pluteus	
	Normais	Mal formados		Normais	Mal formados
Controle	82	18	31.250*	0	100
	82	18		0	100
	88	12		0	100
	84	16		0	100
488	80	20	62.500*	0	100
	81	19		0	100
	85	15		0	100
	87	13		0	100
976*	70	30	125.000*	0	100
	80	20		0	100
	74	26		0	100
	83	17		0	100
1.953*	75	25	250.000*	0	100
	77	23		0	100
	74	26		0	100
	78	22		0	100
3.906*	76	24	500.000*	0	100
	70	30		0	100
	72	28		0	100
	73	27		0	100
7.812*	52	48	1.000.000*	0	100
	79	21		0	100
	75	25		0	100
	77	23		0	100
15.625*	32	68			
	35	65			
	31	69			
	40	60			

* 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.
- 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

BIÓLOGAS:

Carina C. Gomes Machado - CRB-2 - 32963/02
Desideria Lima Calleja - CRB-2 - 38219/02 P
Viviane Euzébio Luiz - CRB-2 - 42.535/02 P

ELABORADO POR:	REVISADO POR:
Dra. Marcia Vieira Reynier 	MSc Leila Aparecida da Silva Kraus 

Rio de Janeiro, 31 de maio de 2005.