

TÍTULO DO ESTUDO:
TESTE DE TOXICIDADE CRÔNICA DE CURTA DURAÇÃO
COM OURIÇO DO MAR PARA O PRODUTO:
FLUIDO DE PERFURAÇÃO DRILL IN PERFLOW.

LABORATÓRIO CONTRATADO: TECAM- TECNOLOGIA AMBIENTAL LTDA.

EMPRESA: BAKER HUGHES INTEQ.

FABRICANTE: BAKER HUGHES INTEQ.

PRODUTO ANALISADO: FLUIDO DE PERFURAÇÃO DRILL IN
PERFLOW.

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

CÓDIGO TECAM: T08905-00.

RELATÓRIO Nº: RLT08905LY.

INÍCIO DO ESTUDO: 21/09/00.

TÉRMINO DO ESTUDO: 23/10/00.

EMIÇÃO DO RELATÓRIO: 10/11/00.

DIRETOR DE ESTUDO: Regina Sawaia Sáfadi (MSc).

EQUIPE: Alice Fumie Aita, Bióloga.

Maria Aparecida Gomes, Apoio Técnico.

ÍNDICE

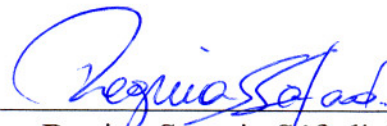
DECLARAÇÃO	3
RESUMO/ABSTRACT	4
SUMÁRIO	5
SUMMARY	7
PROCEDIMENTOS	9
1. Sistema teste.....	9
2. Preparo das soluções	9
3. Condições de teste.....	9
4. Substância de referência.....	10
5. Análises estatísticas.....	10
RESULTADOS/CONCLUSÃO	11
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	11
TABELA	12

DECLARAÇÃO

O presente estudo com o produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO DRILL IN PERFLOW** foi requerido pela empresa **BAKER HUGHES INTEQ** 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, 10 de novembro de 2000.



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

RESUMO

O objetivo deste estudo foi determinar a toxicidade crônica do produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO DRILL IN PERFLOW (T08905-00)** 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: 6 ppm; 32 ppm; 200 ppm; 800 ppm; 4000 ppm; 20000 ppm e 100000 ppm. Após 24 horas de exposição, foi observado que todas as concentrações 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) não pode ser estimada, sendo considerada inferior a 6 ppm.

ABSTRACT

This study was carried out to determine the chronic toxicity to sea urchin (*Lytechinus variegatus*) of the product **DRILL IN PERFLOW DRILLING FLUID (T08905-00)**. Three groups of 300 eggs newly fertilized were exposed during 24 hours to the following concentrations: 6 ppm; 32 ppm; 200 ppm; 800 ppm; 4000 ppm; 20000 ppm and 100000 ppm. After a 24-hour exposure, all concentrations showed chronic toxicity to sea urchin, when compared to the control. Therefore, under the test conditions, the no observed effect concentration (NOEC) was considered lower than 6 ppm.

SUMÁRIO

DADOS GERAIS

Empresa Solicitante: BAKER HUGHES INTEQ.

Nome do Produto: FLUIDO DE PERFURAÇÃO DRILL IN PERFLOW.

Fabricante: BAKER HUGHES INTEQ.

Código Tecam: T08905-00.

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

Metodologia: CETESB, 1999.

Diretor de estudo: Regina Sawaia Sáfadi (MSc).

DADOS DA AMOSTRA

Data de entrada: 21/09/00.

Tipo: Fluido de perfuração.

Estado Físico: Líquido.

Composição (dados fornecidos pelo fabricante):

Fresh Water	350 cc
KCl - Potassium chloride	7.13 g
Perflow DIF	55.0 g
X cide 102	0.05 g

CONDIÇÕES DE TESTE

Data de início: 30/09/00.

Data de término: 01/10/00.

Espécie: *Lytechinus variegatus*.

Duração: 24 horas.

Temperatura média da água: 25,0 ± 0,0 °C.

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

Renovação do meio: sem renovação (teste estático).

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

Concentrações: 6 ppm; 32 ppm; 200 ppm; 800 ppm; 4000 ppm; 20000 ppm;
100000 ppm.

CONCLUSÃO

A concentração de efeito não observado (CENO) do produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO DRILL IN PERFLOW**, avaliada para os efeitos sobre o desenvolvimento embriolarval de ouriço do mar (*Lytechinus variegatus*), não pode ser estimada nas condições de teste, sendo considerada:

CENO < 6 ppm

A concentração de efeito observado (CEO) e o valor crônico (VC) também não puderam ser estimados.

SUMMARY**GENERAL DATA****Sponsor:** BAKER HUGHES INTEQ.**Product:** DRILL IN PERFLOW DRILLING FLUID.**Manufacturer:** BAKER HUGHES INTEQ.**Tecam Code:** T08905-00.**Test:** Short-term chronic toxicity test to sea urchin (*Lytechinus variegatus*).**Methodology:** CETESB, 1999.**Study Director:** Regina Sawaia Sáfadi (MSc).**PRODUCT DATA****Received:** 09/21/00.**Type:** Drilling fluid.**Physical state:** Liquid.**Composition** (data from manufacturer):

Fresh Water	350 cc
KCl - Potassium chloride	7.13 g
Perflow DIF	55.0 g
X cide 102	0.05 g

TEST CONDITIONS**Initial date:** 09/30/00.**Ending date:** 10/01/00.**Specie:** *Lytechinus variegatus*.**Duration:** 24 hours.**Average water temperature:** 25.0 ± 0.0 °C.**Photoperiod:** 16 hours light and 8 hours darkness.**Solution renewal:** static test.

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

Concentrations: 6 ppm; 32 ppm; 200 ppm; 800 ppm; 4000 ppm; 20000 ppm;
100000 ppm.

CONCLUSION

The no observed effect concentration (NOEC) of the product **DRILL IN PERFLOW DRILLING FLUID**, estimated for the effects on embryo-larval development of sea urchin (*Lytechinus variegatus*), under the test conditions, was considered:

NOEC < 6 ppm

The lowest observed effect concentration (LOEC) and the chronic value (CV) could not also be estimated.

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. 100000 ppm:** 50 mL do produto + água de diluição até 500 mL.
- B. 20000 ppm:** 50 mL da concentração A + água de diluição até 250 mL.
- C. 4000 ppm:** 20 mL da concentração B + água de diluição até 100 mL.
- D. 800 ppm:** 4 mL da concentração B + água de diluição até 100 mL.
- E. 200 ppm:** 1 mL da concentração B + água de diluição até 100 mL.
- F. 32 ppm:** 16 mL da concentração E + água de diluição até 100 mL.
- G. 6 ppm:** 1 mL da concentração E + 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 soluções teste 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

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 $25,0 \pm 0,0$ °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. O teste foi encerrado após este período porque foi obtido o limite recomendado de mais de 80% dos embriões em estágio de larva pluteus bem desenvolvido.

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 de três concentrações do produto (menor, maior e intermediária).

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: 0,071 mg Zn/L (I.C.: 0,064 a 0,055 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.

RESULTADOS E CONCLUSÃO

O resultado do teste com o produto **FLUIDO DE PERFURAÇÃO DRILL IN PERFLOW** está apresentado na Tabela 1, com dados de efeito tóxico e análises físicas e químicas efetuadas no início e no final do teste.

Na maior concentração preparada, o teor final de oxigênio dissolvido foi de 3,0 mg/L, inferior ao limite recomendado de 3,9 mg/L (CETESB, 1999)

Após 24 horas de exposição, o desenvolvimento embrionário foi retardado ou inexistente nas concentrações 20000 ppm e 100000 ppm. Nas demais concentrações a porcentagem de efeito foi de 68 a 84%. A aplicação das análises estatísticas indicou que todas as concentrações 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) não pode ser estimada, sendo considerada inferior à menor concentração preparada, isto é, 6 ppm. A concentração de efeito observado (CEO) e o valor crônico (VC) também não puderam ser estimados.

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.

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 DRILL IN PERFLOW**, após o período de exposição.

Concentração	Efeito (%)	pH	Salinidade (‰)	Oxigênio dissolvido (mg O ₂ /L)
Controle	17	8,3 ± 0,1	33 ± 0	5,7 ± 0,9
6 ppm	68	8,3 ± 0,1	33 ± 0	5,7 ± 1,0
32 ppm	72	N.A.	N.A.	N.A.
200 ppm	76	8,3 ± 0,1	33 ± 0	5,7 ± 1,1
800 ppm	80	N.A.	N.A.	N.A.
4000 ppm	84	N.A.	N.A.	N.A.
20000 ppm	100	N.A.	N.A.	N.A.
100000 ppm	100	8,0 ± 0,5	32 ± 1	4,7 ± 2,3

N.A.: Não analisado.