

ENSAIO DE TOXICIDADE DO FLUIDO ESPAÇADOR MUDPUSH II**MBZ SHELL-283 UTILIZANDO *Lytechinus variegatus*****(ECHINODERMATA-ECHINOIDEA)**

SOLICITANTE:

Schlumberger Serviços de Petróleo Ltda.
Rua Rodolfo David Gomes s/no.
Novo Cavalheiros, Macaé, RJ
CEP 27 930 000
Tel: (22) 2763 5304

Técnico solicitante: Carlos Eduardo Rego
e-mail: crego2@macae.oilfield.slb.com

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 / 3525-2466 / 3525-2442
e-mail: labtox@labtox.com.br
CEP: 21941-590

Lauda 2906 LVC – Rev 01

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: 24 a 28 horas

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

Identificação da amostra pelo solicitante: Fluido Espaçador MUDPUSH II – MBZ Shell-283
Sonda Shell 13 3/8"

Data de coleta: Não informada

Código de entrada no Labtox: L290606

Data de entrada no Labtox: 03/11/2006

Data de início do ensaio: 23/11/2006

Data de término do ensaio: 24/11/2006

| Composição da amostra: | PRODUTO | CONCENTRAÇÃO | DESCRIÇÃO |
|------------------------|--------------|-----------------------------|----------------|
| | Água Indust. | 0,823 bbl/bbl de espaçador | |
| | D020 | 6,600 lb/bbl de espaçador | Bentonita |
| | D182 | 4,100 lb/bbl de espaçador | Espaçador |
| | D175 | 0,020 gal/bbl de espaçador | Anti-espumante |
| | D031 | 243,25 lbm/bbl de espaçador | Agente de peso |

| RESULTADOS |
|--|
| CENO 125.000 ppm da FPS CEO 250.000 ppm da FPS VC 176.777 ppm da FPS |
| Controle: 93,2 % de pluteus |
| Ensaio com DSS (23/11/06): 1,85 mg.L ⁻¹ (IC: 1,79 – 1,88 mg.L ⁻¹) |

FPS: Fração Particulada Suspensa IC: Intervalo de confiança

1 – OBJETIVO

Este ensaio, realizado em 23 de novembro de 2006, teve como objetivo determinar a toxicidade crônica de curta duração do Fluido Espaçador MUDPUSH II – MBZ Shell-283, 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 NBR 15.350 (ABNT, 2006), 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: 62.500; 125.000; 250.000; 5000.000 e 1.000.000 ppm da FPS.

RESUMO DAS CONDIÇÕES DE ENSAIO

| | |
|---|--|
| Tipo de ensaio..... | crônico |
| Temperatura de incubação..... | 25 ± 1° C |
| Fotoperíodo..... | 12h luz/12h 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..... | 05 + 1 controle* |
| Água de diluição..... | água do mar natural filtrada |
| Salinidade das soluções-teste..... | 36 ‰ |
| pH das soluções-teste:..... | 8,14 a 8,89 |
| Oxigênio dissolvido das soluções-teste..... | 5,97 a 7,75 mg.L ⁻¹ |
| Duração do ensaio..... | 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.

3 – RESULTADOS

Os dados brutos de contagem e o percentual de pluteus normais, obtidos no controle e nas diferentes soluções-teste, são apresentados na tabela I.

Os valores máximos e mínimos de oxigênio dissolvido, 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 de *L. variegatus* por réplica e percentual de pluteus normais obtido no controle e nas diferentes diluições da FPS do Fluido Espaçador MUDPUSH II – MBZ Shell-283.

| Solução-teste (ppm da FPS) | Pluteus Normais | | Solução-teste (ppm da FPS) | Pluteus Normais | |
|----------------------------|--------------------|---------------------|----------------------------|--------------------|---------------------|
| | Número por réplica | % por solução-teste | | Número por réplica | % por solução-teste |
| Controle | 94 | 93,2 | 250.000* | 60 | 42,7 |
| | 95 | | | | |
| | 95 | | | | |
| | 89 | | | | |
| 62.500 | 91 | 92,5 | 500.000* | 0 | 0 |
| | 91 | | | | |
| | 95 | | | | |
| | 93 | | | | |
| 125.000 | 91 | 91,2 | 1.000.000* | 0 | 0 |
| | 94 | | | | |
| | 90 | | | | |
| | 90 | | | | |

* Significativamente diferente do controle.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Transform: NATURAL LOG(Y)

WILLIAMS TEST (Isotonic regression model) TABLE 2 OF 2

| IDENTIFICATION | ISOTONIZED MEAN | CALC. WILLIAMS | SIG P=.05 | TABLE WILLIAMS | DEGREES OF FREEDOM |
|----------------|-----------------|----------------|-----------|----------------|--------------------|
| Controle | -2.753 | | | | |
| 62500 | -2.618 | 0.649 | | 1.78 | k= 1, v=12 |
| 125000 | -2.457 | 1.422 | | 1.87 | k= 2, v=12 |
| 250000 | -0.584 | 10.403 | * | 1.90 | k= 3, v=12 |

s = 0.295

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

GARANTIA DOS RESULTADOS

Os dados apresentados neste 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

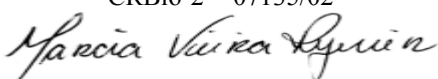

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. 2006. Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade crônica – Método de Ensaio com ouriço-do-mar (*Echinodermata, Echinoidea*). NBR 15.350, 17 p.

API - 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).

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.

| LAUDO ELABORADO POR: | REVISADO POR: |
|---|--|
| Dra. Marcia Vieira Reynier CRBio-2 - 07135/02  | MSc Leila A. Silva Kraus CRBio-2 - 12156/02  |

Rio de Janeiro, 19 de setembro de 2007.