

**ENSAIO ECOTOXICOLÓGICO COM O FLUIDO RISERLESS
PAD MUD – 11,3 LB/GAL UTILIZANDO *Lytechinus variegatus*
(ECHINODERMATA-ECHINOIDEA)**



Laboratório de Análise Ambiental

Av. Carlos Chagas Filho, 791
Pólo Bio-Rio // Laboratório 4
Cidade Universitária // Ilha do Fundão
CEP 21941-904 // Rio de Janeiro // RJ
55 (21) 3867 5851 // 55 (21) 3525 2466
Email: labtox@labtox.com.br
<http://www.labtox.com.br>

SOLICITANTE:

CHEVRON BRASIL PETRÓLEO LTDA
Av. República do Chile, 230 – 18º - Centro
Rio de Janeiro - RJ - CEP: 20.031-170
Tel: (21) 2510-5884 / 2510-5909

Técnico solicitante: Fernanda N. Othero
e-mail: fernanda.othero@chevron.com

EXECUTADO POR:

LABTOX – Laboratório de Análise Ambiental Ltda
Av. Carlos Chagas Filho, 791 - Pólo Bio-Rio
Cidade Universitária – Ilha do Fundão CEP: 21.941-904
Tel: (21) 3867-5651 / 3525-2466 / 3525-2442
e-mail: labtox@labtox.com.br

Laudo 0578 LVC – Rev 00

Rio de Janeiro
Setembro/2013

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 no desenvolvimento, até larva pluteus)

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: $CI_{50}(I)$: 1,46 - 2,51 mg.L⁻¹ (07/01/2013)

DADOS DA AMOSTRA

Identificação da amostra pelo solicitante: Fluido RISERLESS PAD MUD

Peso: 11,3 lb/gal

Localização: Brasco

Data: 26/08/2013

Código de entrada no Labtox: L057813 Data de entrada: 29/08/2013

Data de início do ensaio: 09/09/2013 Data de término: 10/09/2013

Composição da amostra:

PRODUTOS	DESCRIÇÃO/FUNÇÃO	CONCENTRAÇÃO	
		LPB	kg/m ³
ÁGUA	-	308,01	878,77
BENTONITA	Argila -Viscosificante	15,00	42,80
SODA CÁUSTICA	Hidróxido de Sódio - Controlador de pH	0,10	0,29
BARITA	Sulfato de Bário - Agente Adensante	151,24	431,50
DUOVIS	Goma Xantana - Viscosificante	0,25	0,71



Laboratório de Análise Ambiental

Av. Carlos Chagas Filho, 791

Pólo Bio-Rio // Laboratório 4

Cidade Universitária // Ilha do Fundão

CEP 21941-904 // Rio de Janeiro // RJ

55 (21) 3867 5851 // 55 (21) 3525 2466

Email: labtox@labtox.com.br

http://www.labtox.com.br



Av. Carlos Chagas Filho, 791
 Pólo Bio-Rio // Laboratório 4
 Cidade Universitária // Ilha do Fundão
 CEP 21941-904 // Rio de Janeiro // RJ
 55 (21) 3867 5851 // 55 (21) 3525 2466
 Email: labtox@labtox.com.br
 http://www.labtox.com.br

RESULTADOS	
CENO(I) 250.000 ppm da FPS	CEO(I) 500.000 ppm da FPS
VC(I) 353.553 ppm da FPS	
Controle: 87,5 % de pluteus	
Ensaio com DSS (09/09/2013): 2,03 mg.L ⁻¹ (IC: 1,94 – 2,12 mg.L ⁻¹)	

FPS: Fração Particulada Suspensa IC: Intervalo de confiança

1 – OBJETIVO

Este ensaio teve como objetivo determinar a toxicidade crônica de curta duração da amostra, 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, 2012). O ensaio consiste na exposição dos ovos a diferentes diluições da FPS, 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(I) (maior concentração nominal da amostra no início do ensaio que não causa efeito significativamente diferente do controle) e CEO(I) (menor concentração nominal da amostra no início do ensaio 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(I) (valor crônico inicial), que representa a média geométrica de CENO(I) e CEO(I).

PREPARO DA AMOSTRA

A amostra 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 na metodologia descrita em NBR 15.469 (ABNT, 2007). A partir da FPS (solução-estoque de 1.000.000 ppm), foram preparadas as seguintes soluções-teste: 31.250; 62.500; 125.000; 250.000; 500.000 e 1.000.000 ppm da FPS.



Av. Carlos Chagas Filho, 791
Pólo Bio-Rio // Laboratório 4
Cidade Universitária // Ilha do Fundão
CEP 21941-904 // Rio de Janeiro // RJ
55 (21) 3867 5851 // 55 (21) 3525 2466
Email: labtox@labtox.com.br
http://www.labtox.com.br

RESUMO DAS CONDIÇÕES DE ENSAIO

Tipo de ensaio.....	crônico
Temperatura de incubação.....	25 ± 2 °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.....	06 + 1 controle*
Água de diluição.....	água do mar natural filtrada
Água de diluição:.....	Salinidade: 34 ‰.....OD: 7,93 mg.L ⁻¹pH: 8,03
Solução-estoque:.....	Salinidade: 31 ‰.....OD: 8,58 mg.L ⁻¹pH: 8,29
Salinidade das soluções-teste.....	31 a 34 ‰
pH das soluções-teste:.....	7,91 a 8,29
Oxigênio dissolvido das soluções-teste.....	4,95 a 8,58 mg.L ⁻¹
Duração do ensaio.....	24 horas
Resposta.....	retardamento no desenvolvimento embriolarval ou anomalias
Expressão do resultado.....	CENO(I), CEO(I) e VC(I)
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 de oxigênio dissolvido (OD), pH e salinidade da água de diluição e da solução-estoque (FPS), medidos no início do ensaio, bem como os valores máximos e mínimos destes parâmetros medidos nas soluções-teste, 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 médio de pluteus normais obtido no controle e nas diferentes soluções-teste.

Solução-teste (ppm FPS)	Pluteus Normais		Solução-teste (ppm FPS)	Pluteus Normais	
	Número por réplica	% por solução- teste		Número por réplica	% por solução- teste
Controle	88	87,5	250.000	87	86,5
	89				
	87				
	86				
31.250	89	90,5	500.000*	0	0,0
	86				
	88				
	91				
62.500	85	85,0	1.000.000*	0	0,0
	89				
	84				
	82				
125.000	89	85,8			
	89				
	81				
	84				

* Diferença significativa em relação ao 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	0.120				
31250	0.120	0.267		1.73	k= 1, v=18
62500	0.143	0.935		1.82	k= 2, v=18
125000	0.143	0.935		1.85	k= 3, v=18
250000	0.143	0.935		1.86	k= 4, v=18
500000	1.000	46.771	*	1.87	k= 5, v=18

s = 0.026

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



Laboratório de Análise Ambiental

Av. Carlos Chagas Filho, 791

Pólo Bio-Rio // Laboratório 4

Cidade Universitária // Ilha do Fundão

CEP 21941-904 // Rio de Janeiro // RJ

55 (21) 3867 5851 // 55 (21) 3525 2466

Email: labtox@labtox.com.br

http://www.labtox.com.br

GARANTIA DOS RESULTADOS

Os dados apresentados neste laudo são confidenciais e referem-se unicamente aos resultados obtidos no(s) ensaio(s) com a(s) amostra(s) acima citada(s). 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.



Av. Carlos Chagas Filho, 791
Pólo Bio-Rio // Laboratório 4
Cidade Universitária // Ilha do Fundão
CEP 21941-904 // Rio de Janeiro // RJ
55 (21) 3867 5851 // 55 (21) 3525 2466
Email: labtox@labtox.com.br
<http://www.labtox.com.br>

4 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. 2012. Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade crônica – Método de Ensaio com ouriço-do-mar (*Echinodermata, Echinoidea*). NBR 15.350, 17 p.

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. 2007. Ecotoxicologia Aquática – Preservação e preparo de amostras. NBR 15.469, 7p.

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

Responsável Técnico:

MSc Leila A. Silva Kraus

CRBio-2 - 12156/02

Diretora

Rio de Janeiro, 10 de outubro de 2013.