

L1732LVC

**TESTE DE TOXICIDADE DO FLUIDO BENTONITA PRÉ-HIDRATADA**  
**AMOSTRA Nº 150 - UTILIZANDO *Lytechinus variegatus***  
**(Echinodermata-Echinoidea)**

SOLICITANTE:

M-I Drilling Fluids do Brasil Ltda  
Rua 19 de Fevereiro, nº 30 - 4º Andar  
Botafogo, Rio de Janeiro - RJ  
CEP 22280-030

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 1732LVC

Rio de Janeiro

L1732LVC

### LAUDO DE TOXICIDADE

Órgão requisitante: M-I Drilling Fluids do Brasil Ltda

Técnico requisitante: José França

Endereço: Rua 19 de Fevereiro, nº 30 - 4º Andar

Tel.: (21) 2537-2288

Avaliações solicitadas: Teste Embriolarval

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: M-I Drilling Fluids do Brasil Ltda

Local de preparo da amostra: Rua Jesus Soares Pereira, 507 - Costa do Sol - Macaé - RJ

Identificação da amostra pelo solicitante: Fluido Bentonita Pré-Hidratada

Amostra nº 150

Data de preparo: 28/12/2004

Código de entrada no Labtox: L173204

Data de entrada no Labtox: 29/12/2004

Data de início do teste: 04/01/2005

Data de término do teste: 05/01/2005

Composição da amostra:	PRODUTO	CONCENTRAÇÃO	UNIDADE
	Água Industrial	337,62	g
	Soda Caustica	0,15	g
	Bentonita	32	g

RESULTADOS	
<b>CENO 500.000 ppm da FPS</b>	<b>CEO 1.000.000 ppm da FPS</b>
<b>VC = 707.106 ppm da FPS</b>	
Controle: 95,5 % de pluteus	
DSS: CE(I)50 = 1,69 mg.L <sup>-1</sup> (IC = 1,62 – 1,77 mg.L <sup>-1</sup> )	

## 1 – OBJETIVO

Este teste, realizado em 04 de janeiro de 2005, teve como objetivo determinar a toxicidade crônica de curta duração do fluido Bentonita Pré-Hidratada (Amostra nº 150), sobre os embriões do ouriço *Lytechinus variegatus*.

## 2 – METODOLOGIA

A determinação da toxicidade crônica em relação à *L. variegatus* seguiu a metodologia descrita em CETESB (1999). O 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 larvas pluteus com desenvolvimento normal 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 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>.

L1732LVC

## 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 na 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 1 hora. Após este período, a fração particulada suspensa (FPS) foi retirada e teve o pH ajustado de 9,62 para 7,90 com 50 µL de HCl. A partir desta solução-estoque (1.000.000 ppm), foram preparadas as soluções-teste, sendo testadas as seguintes diluições: 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 (Fichas em anexo).

## RESUMO DAS CONDIÇÕES DE TESTE

Tipo de teste.....	crônico
Temperatura de incubação.....	25 ± 1° 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.....	31 a 35 ‰
Duração do teste.....	25 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.

### 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 teste com o Fluido Bentonita Pré-Hidratada (Amostra nº 150), foi de 500.000 ppm da FPS, o valor de CEO (concentração de efeito observado) foi de 1.000.000 ppm da FPS e o VC (valor crônico) de 707.106 ppm da FPS.

O valor médio do percentual de pluteus normais obtido no controle foi de 95,5 % e a

### 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 teste com o Fluido Bentonita Pré-Hidratada (Amostra nº 150), foi de 500.000 ppm da FPS, o valor de CEO (concentração de efeito observado) foi de 1.000.000 ppm da FPS e o VC (valor crônico) de 707.106 ppm da FPS.

O valor médio do percentual de pluteus normais obtido no controle foi de 95,5 % e a CE(I)50 obtida com a substância de referência (DSS) foi de 1,69mg.L<sup>-1</sup>(IC:1,62 –1,77mg.L<sup>-1</sup>).

Os valores de oxigênio, 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
0.0	0.045				
3906	0.060	0.732		1.70	k= 1, v=30
7812	0.060	0.732		1.78	k= 2, v=30
15625	0.071	1.281		1.80	k= 3, v=30
31250	0.071	1.281		1.81	k= 4, v=30
62500	0.072	1.311		1.82	k= 5, v=30
125000	0.072	1.311		1.83	k= 6, v=30
250000	0.072	1.311		1.83	k= 7, v=30
500000	0.072	1.311		1.83	k= 8, v=30
1000000	0.240	9.515	*	1.83	k= 9, v=30

$\alpha = 0.025$  Note: df used for table values are approximate when  $v > 20$

L1732LVC

Tabela I: Número de pluteus normais e mal formados de *L. variegatus* obtidos nas diferentes diluições do fluido Bentonita Pré-Hidratada (Amostra n° 150), no teste realizado em 04/01/2005.

Diluição da FPS (ppm)	Número de pluteus		Diluição da FPS (ppm)	Número de pluteus	
	Normais	Mal formados		Normais	Mal formados
Controle	94	06	31.250	97	03
	98	02		91	09
	95	05		97	03
	95	05		90	10
488	90	10	62.500	95	05
	95	05		92	08
	98	02		90	10
	97	03		92	08
976	92	08	125.000	93	07
	91	09		96	04
	89	11		90	10
	95	05		91	09
1.953	98	02	250.000	94	06
	96	04		95	05
	90	10		90	10
	89	11		92	08
3.906	92	08	500.000	92	08
	96	04		95	05
	91	09		93	07
	97	03		95	05
7.812	94	06	1.000.000*	83	17
	90	10		74	26
	95	05		76	24
	97	03		71	29
15.625	91	09			
	92	08			
	95	05			
	90	10			

\* 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, 126p.

#### 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

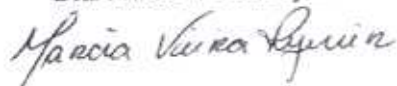
Coordenadora de Pesquisa e Tecnologia: Viviane Euzébio Luiz

##### 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 S. Kraus



Rio de Janeiro, 07 de janeiro de 2005.