

**ENSAIO DE TOXICIDADE DO FLUIDO DE PERFURAÇÃO
HYDRO-GUARD /CMC/ LORDRILL UTILIZANDO *Lytechinus variegatus*
(ECHINODERMATA-ECHINOIDEA)**

SOLICITANTE:

Halliburton – Baroid Drilling Fluids
Av. Prefeito Aristeu Ferreira da Silva, 1.000
Novo Cavaleiros – Macaé - RJ
CEP: 27930-070

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 2427 LVC

Rio de Janeiro

LAUDO DE TOXICIDADE

Empresa solicitante: Halliburton – Baroid Drilling Fluids

Técnico solicitante: Jan Aslan

Endereço: Av. Prefeito Aristeu Ferreira da Silva, 1.000 – Novo Cavaleiros – Macaé, RJ

Tel.: (22) 2773-0900 / 2791-4837

Avaliação solicitada: Ensaio embriolarval

Organismo teste: *Lytechinus variegatus*

Tipo de ensaio: Crônico de curta duração.

Tempo de exposição: 27 horas

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

Substância de referência: DSS (Dodecil sulfato de sódio)

Faixa de sensibilidade dos organismos: $CI_{50}(I)$: 1,61 – 1,89 mg.L⁻¹ (17/01/2006)

Resultado do ensaio realizado com DSS em 26/01/2006: 1,68 mg.L⁻¹ (1,64 – 1,71 mg.L⁻¹)

Identificação da amostra pelo solicitante: Fluido de Perfuração Hydro-Guard /CMC/ Lordrill

Data: Não informada

Código de entrada no Labtox: L242706 Data de entrada no Labtox: 19/01/2006

Data de início do ensaio: 26/01/2006 Data de término do ensaio: 27/01/2006

Composição da amostra:	PRODUTO	CONCENTRAÇÃO	UNIDADE
	CADIT	0,38	bb1
	Água industrial	0,53	bb1
	Soda Caústica	0,15	lb/bb1
	KCL	16,0	lb/bb1
	Goma Xantana	1,50	lb/bb1
	CLAYSEAL	6,0	lb/bb1
	BDF-293	0,50	lb/bb1
	CLAY SYNC	2,0	lb/bb1
	Hidroxipropilamido	1,5	lb/bb1
	Carboximetilcelulose	4,0	lb/bb1
	Carbonato de Cálcio 2-44	5,0	lb/bb1
	Carbonato de Cálcio Fino	5,0	lb/bb1
	Carbonato de Cálcio Médio	5,0	lb/bb1

Obs₁: Os resultados apresentados neste laudo referem-se apenas ao ensaio realizado com a amostra acima citada.

Obs₂: Este laudo só pode ser reproduzido por completo. A reprodução de partes deste, só pode ser realizada com autorização escrita do Labtox.

RESULTADOS	
CENO 31.250 ppm da FPS	CEO 62.500 ppm da FPS
VC 44.194 ppm da FPS	
Controle: 83,75 % de pluteus	

FPS: Fração Particulada Suspensa

1 - OBJETIVO

O objetivo deste ensaio, realizado em 26 de janeiro de 2006, foi avaliar a toxicidade crônica de curta duração do Fluido de Perfuração Hydro-Guard/CMC/Lordrill, 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 CETESB (1999), 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 ocorrência de anomalias nos organismos expostos, nas condições de ensaio.

A cada lote de organismos utilizados é realizado um ensaio de toxicidade com a substância de referência dodecil sulfato de sódio (DSS), com o objetivo de verificar se a sensibilidade dos mesmos encontra-se dentro da faixa de toxicidade previamente estabelecida para a espécie.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

O resultado obtido no ensaio de toxicidade com a substância de referência foi analisado para a determinação da $CI_{50}(I)$ (concentração inicial que inibe 50% do desenvolvimento embriolarval). O método utilizado foi o de Interpolação Linear (Nörberg King, 1993).

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).

L2427LVC

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.

VALIDADE DO ENSAIO

O ensaio é considerado válido quando:

- Apresentar no controle o mínimo de 80% de pluteus;
- O resultado do ensaio com a substância de referência estiver dentro do limite estabelecido para a espécie pelo Labtox que é $CI_{50}(I)$ de a 1,61 a 1,89 mg.L⁻¹.

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.....	36 a 44 ‰
Duração do ensaio.....	27 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.

PREPARO DA AMOSTRA

A amostra do fluido foi mantida em temperatura aproximada de 4°C até a realização do ensaio e seu preparo foi realizado 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 600 mL da amostra homogeneizada e 5.400 mL de água do mar. O extrato foi homogeneizado em misturador industrial por 5 minutos a 150 rpm e

L2427LVC

decantado por 1 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 da FPS (Fichas em anexo).

3 – RESULTADOS

Os dados brutos da contagem do número de pluteus normais e mal formados são apresentados na tabela I.

O valor de CENO (concentração de efeito não observado) obtido no ensaio com o Fluido de Perfuração Hydro-Guard / CMC / Lordrill foi de 31.250 ppm da FPS, o valor de CEO (concentração de efeito observado) foi de 62.500 ppm da FPS e o VC (valor crônico) de 44.194 ppm da FPS.

O valor médio do percentual de pluteus normais obtido no controle foi de 83,75 % e a CI_{50} (I) obtida com a substância de referência (DSS) foi 1,68 mg.L⁻¹ (IC: 1,64 – 1,71 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: 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	0.156				
488	0.156	0.305		1.70	k= 1, v=30
976	0.156	0.305		1.78	k= 2, v=30
1953	0.156	0.305		1.80	k= 3, v=30
3906	0.156	0.305		1.81	k= 4, v=30
7812	0.161	0.078		1.82	k= 5, v=30
15625	0.161	0.078		1.83	k= 6, v=30
31250	0.161	0.078		1.83	k= 7, v=30
62500	0.213	2.344	*	1.83	k= 8, v=30
125000	0.500	15.822	*	1.83	k= 9, v=30

s = 0.030

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

Tabela I: Número de pluteus normais e mal formados de *L. variegatus* obtidos nas diferentes soluções-teste do Fluido de Perfuração Hydro-Guard/CMC/Lordrill.

Solução-teste (ppm da FPS)	Número de pluteus		Solução-teste (ppm da FPS)	Número de pluteus	
	Normais	Mal formados		Normais	Mal formados
Controle	89	11	31.250	87	13
	81	19		85	15
	84	16		88	12
	81	19		80	20
488	84	16	62.500*	76	24
	87	13		79	21
	82	18		78	22
	86	14		82	18
976	81	19	125.000*	53	47
	85	15		47	53
	85	15		56	44
	86	14		44	56
1953	86	14	250.000*	0	100
	87	13		0	100
	82	18		0	100
	82	18		0	100
3906	86	14	500.000*	0	100
	85	15		0	100
	82	18		0	100
	87	13		0	100
7812	82	18	1.000.000*	0	100
	81	19		0	100
	86	14		0	100
	83	17		0	100
15625	82	18			
	85	15			
	84	16			
	84	16			

* Diferença significativa em relação ao 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.
- Nörberg-King, T. 1993. A linear interpolation method for sublethal toxicity: the inhibition concentration (ICp) approach (version 2.0). U.S.EPA, Duluth, 1v.
- 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.

5 - EQUIPE TÉCNICA

DIRETORAS:

MSc Leila Aparecida da Silva Kraus - CRBio-2 - 12156/02
Dra. Marcia Vieira Reynier - CRBio-2 - 07135/02
Dra. Maria Cristina da Silva Maurat - CRBio-2 - 12671/02

BIÓLOGAS:

Carina C. Gomes Machado - CRBio-2 - 32963/02
Desideria Lima Calleja - CRBio-2 - 38219/02 P
Gabriele A. Correa da Rocha - CRBio-2 - 42.496/02 P
Viviane Euzébio Luiz - CRBio-2 - 42.535/02 P

ELABORADO POR:

Dra. Maria Cristina da S. Maurat



REVISADO POR:

MSc Leila Aparecida da Silva Kraus



Rio de Janeiro, 30 de janeiro de 2006.