

L2442LVC

**ENSAIO DE TOXICIDADE DO FLUIDO HYDRO-GUARD / CMC / LORDRIL
(BDF-293 & CLAYSYNC) UTILIZANDO *Lytechinus variegatus*
(ECHINODERMATA-ECHINOIDEA)**

SOLICITANTE:

HALLIBURTON SERVIÇOS LTDA
Av. Prefeito Aristeu Ferreira da Silva, 1.000
Novo Cavaleiros – Macaé – RJ, CEP: 27930-070
Tel: (22) 2791-4300 – Fax (22) 2791-4648

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 2442 LVC

Rio de Janeiro

LAUDO DE TOXICIDADE

Empresa solicitante: Halliburton Serviços Ltda.

Técnico solicitante: Ronaldo Paraízo

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

Tel: (22) 2791-4300 – Fax (22) 2791-4648

Avaliação solicitada: Ensaio Embríolarval

Organismo-teste: *Lytechinus variegatus*

Tipo de ensaio: Crônico de curta duração

Tempo de exposição: 24h

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

Substância de referência: DSS (Dodecil sulfato de sódio)

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

Resultado do ensaio realizado com DSS em 06/02/2006: $1,47 \text{ mg.L}^{-1}$ ($1,35 - 1,58 \text{ mg.L}^{-1}$)

Identificação da amostra pelo solicitante: Fluido Hydro-Guard / CMC / Lordril
(BDF-293 & Claysync)

Código de entrada no Labtox: L244206 Data de entrada no Labtox: 02/02/2006

Data de início do ensaio: 06/02/2006 Data de término do ensaio: 07/02/2006

Composição da amostra informada pelo solicitante:

Produto	Concentração	Unidade
CADIT	0,38	bbI
Água industrial	0,53	bbI
Soda Cáustica	0,15	lb/bbI
KCl	16,0	lb/bbI
Goma Xantana	1,50	lb/bbI
Clayseal	8,0	lb/bbI
BDF-293	1,50	lb/bbI
Clay Sync	3,0	lb/bbI
Hidroxipropilamido	1,5	lb/bbI
Carboximetilcelulose Baixa Viscosidade	2,50	lb/bbI
Carboximetilcelulose Alta Viscosidade	1,50	lb/bbI
Carbonato de cálcio 2-44	5,0	lb/bbI
Carbonato de cálcio FINO	5,0	lb/bbI
Carbonato de cálcio MÉDIO	5,0	lb/bbI

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.

L2442LVC

RESULTADOS	
CENO 62.500 ppm da FPS	CEO 125.000 ppm da FPS
VC 88.388 ppm da FPS	
Controle: 88,2 % de pluteus	

FPS: Fração Particulada Suspensa

1 – OBJETIVO

Este ensaio, realizado em 06 de fevereiro de 2006, teve como objetivo determinar a toxicidade crônica de curta duração do Fluido Hydro-Guard / CMC / Lordril (BDF-293 & Claysync), 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). 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.

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).

L2442LVC

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.

PREPARO DA AMOSTRA

A amostra do fluido foi mantida em temperatura aproximada de 4°C até a realização do ensaio 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 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).

RESUMO DAS CONDIÇÕES DE ENSAIO

Tipo de ensaio.....	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 / solução-teste.....	04
Nº de soluções-teste.....	12 + 1 controle*
Água de diluição.....	água do mar natural filtrada
Salinidade das soluções-teste.....	34 a 41 ‰
Duração do ensaio.....	24 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.

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 1,61 a 1,89 $mg.L^{-1}$.

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 ensaio com o Fluido Hydro-Guard / CMC / Lordril (BDF-293 & Claysync) foi de 62.500 ppm da FPS, o valor de CEO (concentração de efeito observado) foi de 125.000 ppm da FPS e o VC (valor crônico) de 88.388 ppm da FPS.

O valor médio do percentual de pluteus normais obtido no controle foi de 88,2% e a $CI_{50}(I)$ obtida com a substância de referência (DSS) foi de $1,47mg.L^{-1}$ (IC: $1,35 - 1,58mg.L^{-1}$).

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

DUNNETTS TEST - TABLE 1 OF 2

Ho:Control>Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN CALCULATED IN		
		MEAN	ORIGINAL UNITS	T STAT SIG
1	Controle	0.118	0.118	
2	488	0.100	0.100	-0.904
3	976	0.113	0.113	-0.258
4	1953	0.110	0.110	-0.388
5	3906	0.110	0.110	-0.388
6	7812	0.113	0.113	-0.258
7	15625	0.113	0.113	-0.258
8	31250	0.123	0.123	0.258
9	62500	0.155	0.155	1.938
10	125000	0.330	0.330	10.980 *

Dunnnett table value = 2.54 (1 Tailed Value, P=0.05, df=30,9)

L2442LVC

Tabela I: Número de pluteus normais e mal formados de *L. variegatus* obtidos nas diferentes diluições do Fluido Hydro-Guard / CMC / Lordril (BDF-293 & Claysync).

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	94	06
	89	11		90	10
	88	12		85	15
	87	13		82	18
488	90	10	62.500	84	16
	91	09		82	18
	88	12		86	14
	91	09		86	14
976	90	10	125.000*	69	31
	87	13		71	29
	88	12		60	40
	90	10		68	32
1.953	89	11	250.000*	0	100
	90	10		0	100
	86	14		0	100
	91	09		0	100
3.906	88	12	500.000*	0	100
	90	10		0	100
	91	09		0	100
	87	13		0	100
7.812	87	13	1.000.000*	0	100
	90	10		0	100
	89	11		0	100
	89	11		0	100
15.625	90	10			
	88	12			
	91	09			
	86	14			

* 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.
- 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 - 42496/02 P
Viviane Euzébio Luiz - CRBio-2 - 42.535/02 P

ELABORADO POR:

Dra. Marcia Vieira Reynier



REVISADO POR:

MSc Leila Aparecida da Silva Kraus



Rio de Janeiro, 09 de fevereiro de 2006.