

L1726LVC

**TESTE DE TOXICIDADE DO FLUIDO CATIÔNICO / FLOPRO**  
**AMOSTRA Nº 147 - 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  
CEP: 21941-590

Teste 1726LVC

Rio de Janeiro

Avenida 24, s/nº - Pólo Bio-Rio – Laboratório 4 - Cidade Universitária – Ilha do Fundão  
CEP: 21941-590 – tel: (21) 3867-5651 /3867-5501 ramal 220 e-mail:labtox@labtox.com.br  
Visite nosso site: [www.labtox.com.br](http://www.labtox.com.br)

L1726LVC

## 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 Catiônico / FloPro – Amostra nº 147

Data de preparo: 27/12/2004

Código de entrada no Labtox: L172604

Data de entrada no Labtox: 28/12/2004

Data de início do teste: 04/01/2005

Data de término do teste: 05/01/2005

Composição da amostra:	PRODUTO	CONCENTRAÇÃO	UNIDADE
	Água industrial	0,87	bb1
	KCL, II	15	lb/bb1
	NaCl	70	lb/bb1
	Flotrol	8,0	lb/bb1
	Polysafe 600	1,0	lb/bb1
	Polypac UL	2,0	lb/bb1
	Dril Kleen	1,0	lb/bb1
	Defoam AS	0,3	lb/bb1
	Optitrak 600	1.000	mg/L
	Duovis	2,0	lb/bb1
	M-I BR Trol	8,0	lb/bb1
	Safe Break MP	1,0	lb/bb1
	Óxido de Magnésio	1,0	lb/bb1
	Carbonato de Cálcio 2-44	35	lb/bb1
	Kla-Gard	10,0	lb/bb1
	M-I Lube LpH	10,5	lb/bb1
	Barita	50,0	lb/bb1
	M-I Bac 40	0,5	lb/bb1
	Bicarbonato de sódio	1,0	lb/bb1
	Ácido cítrico	1,0	lb/bb1

L1726LVC

RESULTADOS
<b>CENO</b> 15.625 ppm da FPS <b>CEO</b> 31.250 ppm da FPS <b>VC</b> = 22.097 ppm da FPS
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 Catiônico / FloPro (Amostra nº 147), 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.

L1726LVC

#### 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>.

#### 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 a partir dela solução-estoque de 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 da água.....	35±1 ‰
Duração do teste.....	25 horas
Resposta.....	retardamento no desenvolvimento embrionarval 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 Catiônico / FloPro (Amostra nº 147), foi de 15.625 ppm da FPS, o valor de CEO (concentração de efeito observado) foi de 31.250 ppm da FPS e o VC (valor crônico) de 22.097 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.

L1726LVC

Tabela I: Número de pluteus normais e mal formados de *L. variegatus* obtidos nas diferentes diluições do fluido Catiônico / FloPro (Amostra nº 147), 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*	11	89
	98	02		02	98
	95	05		0	100
	95	05		02	98
488	92	08	62.500*	0	100
	95	05		0	100
	90	10		0	100
	91	09		0	100
976	96	04	125.000*	0	100
	92	08		0	100
	91	09		0	100
	95	05		0	100
1.953	92	08	250.000*	0	100
	97	03		0	100
	90	10		0	100
	91	09		0	100
3.906	92	08	500.000*	0	100
	96	04		0	100
	97	03		0	100
	91	09		0	100
7.812	90	10	1.000.000*	0	100
	95	05		0	100
	96	04		0	100
	87	13		0	100
15.625	93	07			
	95	05			
	95	05			
	90	10			

\* Significativamente diferente do 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
0.0	0.045				
488	0.067	1.043		1.71	k= 1, v=24
976	0.067	1.043		1.79	k= 2, v=24
1953	0.067	1.043		1.82	k= 3, v=24
3906	0.067	1.043		1.83	k= 4, v=24
7812	0.067	1.043		1.84	k= 5, v=24
15625	0.067	1.067		1.84	k= 6, v=24
31250	0.963	43.494	*	1.85	k= 7, v=24

s = 0.030 Note: df used for table values are approximate when v > 20.

L1726LVC

#### 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

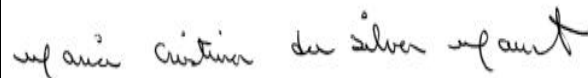
##### BIÓLOGAS:

Carina C. Gomes Machado - CRB-2 - 32963/02

Desideria Lima Calleja - CRB-2 - 38219/02 P

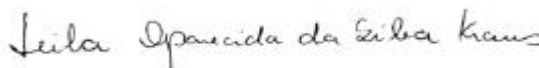
ELABORADO POR:

Dra. Maria Cristina da S. Maurat



REVISADO POR:

Dra. Leila Aparecida da S. Kraus



Rio de Janeiro, 07 de janeiro de 2005.