

**TESTE DE TOXICIDADE DO FLUIDO HYDRO-GUARD NaCl-KCl
UTILIZANDO *Lytechinus variegatus* (Echinodermata-Echinoidea)**

SOLICITANTE:

Halliburton – Baroid Drilling Fluids
Av. Prefeito Aristreu 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

Teste 1701 LVC

Rio de Janeiro

L1701LVC

LAUDO DE TOXICIDADE

Órgão requisitante: Halliburton – Baroid Drilling Fluids

Técnico requisitante: Jan Aslan

Endereço: Aristreu Ferreira da Silva, 1.000 – Novo Cavaleiros – Macaé, RJ

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

Avaliações solicitadas: Teste Embriolarval

Organismo teste: *Lytechinus variegatus*

Tipos de teste: Crônico de curta duração.

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

Identificação da amostra pelo solicitante: Fluido Hydro-Guard NaCl-KCl

Data: Não informada

Código de entrada no Labtox: L170104

Data de entrada no Labtox: 10/12/2004

Data de início do teste: 06/01/2005

Data de término do teste: 07/01/2005

Composição da amostra:	PRODUTOS	CONCENTRAÇÃO	UNIDADE
	Cadit (sol satur)	0,39	bb1
	Água Industrial	0,60	bb1
	Cloreto de potássio II	16,0	lb/bbl
	Ácido cítrico	0,1	lb/bbl
	BDF-293	1,0	lb/bbl
	Clay Sync	3,0	lb/bbl
	Barazan D Plus	1,75	lb/bbl
	N Dril HT Plus	5,0	lb/bbl
	Clay Seal	6,0	lb/bbl
	CaCO ₃ 2-44	30,0	lb/bbl
	Polifoam P-10	0,1	lb/bbl
	Soda Cáustica	0,2	lb/bbl
	Liovac 4260	3,0	%

RESULTADOS**CENO** 15.625 ppm da FPS **CEO** 31.250 ppm da FPS**VC** = 22.097 ppm da FPS

Controle: 89,5 % de pluteus

DSS: CE(I)50 = 1,66 mg.L⁻¹ (IC = 1,61 – 1,71 mg.L⁻¹)

L1701LVC

1 - OBJETIVO

O objetivo deste teste, realizado em 06 de janeiro de 2005, foi avaliar a toxicidade crônica de curta duração do Fluido Hydro-Guard NaCl-KCl 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⁻¹.

L1701LVC

RESUMO DAS CONDIÇÕES DE TESTE

Tipo de teste.....	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 / diluição.....	04
Nº de diluições.....	12 + 1 controle*
Alimentação.....	sem alimentação
Água de diluição.....	água do mar natural filtrada (0,45 µm)
Salinidade das soluções-teste.....	33 a 41 ‰
Duração do teste.....	24 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.

PREPARO DA AMOSTRA

A amostra do fluido foi mantida em temperatura aproximada de 4°C até a 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 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; 62.000; 125.000; 250.000; 500.000 e 1.000.000 ppm (Fichas em anexo).

L1701LVC

3 – RESULTADOS

Os dados brutos da contagem do número de pluteus normais 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 Hydro-Guard NaCl-KCl foi de 15.625 ppm, o valor de CEO (concentração de efeito observado) foi de 31.250 ppm e o VC (valor crônico) de 22.097 ppm.

O valor médio do percentual de pluteus normais obtido no controle foi de 89,5% e a CE(I)50 obtida com a substância de referência (DSS) foi de 1,66mg.L⁻¹(IC:1,61 –1,71mg.L⁻¹).

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	0.105				
488	0.125	1.252		1.71	k= 1, v=27
976	0.130	1.534		1.79	k= 2, v=27
1953	0.130	1.534		1.81	k= 3, v=27
3906	0.130	1.534		1.82	k= 4, v=27
7812	0.130	1.534		1.83	k= 5, v=27
15625	0.130	1.534		1.84	k= 6, v=27
31250	0.295	11.898	*	1.84	k= 7, v=27
62500	0.477	23.327	*	1.84	k= 8, v=27

s = 0.023

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

L1701LVC

Tabela I: Número de pluteus normais e mal formados de *L. variegatus* obtidos nas diferentes diluições do fluido Hydro-Guard NaCl-KCl no teste realizado em 06/01/2005.

Diluição da FPS (ppm)	Número de pluteus		Diluição da FPS (ppm)	Número de pluteus	
	Normais	Mal formados		Normais	Mal formados
Controle	90	10	31.250*	76	24
	92	08		68	32
	87	13		71	29
	89	11		67	33
488	87	13	62.500*	55	45
	88	12		50	50
	89	11		52	48
	86	14		52	48
976	88	12	125.000*	0	100
	85	15		0	100
	86	14		0	100
	80	20		0	100
1.953	89	11	250.000*	0	100
	87	13		0	100
	88	12		0	100
	89	11		0	100
3.906	86	14	500.000*	0	100
	88	12		0	100
	87	13		0	100
	89	11		0	100
7.812	85	15	1.000.000*	0	100
	84	16		0	100
	87	13		0	100
	82	18		0	100
15.625	88	12			
	85	15			
	85	15			
	86	14			

* Significativamente diferente do controle

L1701LVC

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 Realease 3.3", Laramie, WY University of Wyoming, 19 p.
- Hamilton, M.; Russo, R.C. & Thurston, R.V. 1977. Trimmed Spearman-Kärber Method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environmental Science & Technology*, , vol. 11, nº 7.
- 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

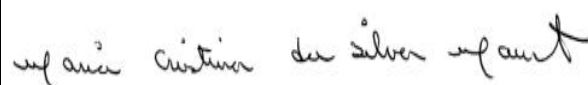
Coordenadora de Pesquisa e Tecnologia: Viviane Euzébio Luiz

BIÓLOGAS:

Carina C. Gomes Machado - CRB-2 – 32963/02
Desideria Lima Calleja - CRB-2 – 38219/02 P

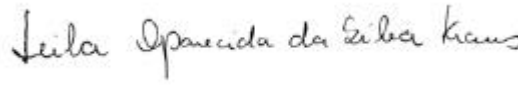
ELABORADO POR:

Dra. Maria Cristina da S. Maurat



REVISADO POR:

MSc Leila Aparecida da Silva Kraus



Rio de Janeiro, 13 de janeiro de 2005.