

L1298LVC

**TESTE DE TOXICIDADE DO FLUIDO STA MUD (BENTONITA)
UTILIZANDO *Lytechinus variegatus* (Echinodermata-Echinoidea)**

SOLICITANTE:

Baker Hughes do Brasil Ltda.
Rodovia Amaral Peixoto, Km 184,
L.32/34 Q.05, Balneário Lagomar, Macaé, RJ
CEP 27970-020 – Tel (22) 2791-9322

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@biorio.org.br
CEP: 21941-590

Teste 1298LVC

Rio de Janeiro

L1298LVC

LAUDO DE TOXICIDADE

Órgão requisitante: Baker Hughes do Brasil Ltda.

Técnico requisitante: Alexandra Martins

Endereço: Rodovia Amaral Peixoto, Km 184, L.32/34 Q.05, Balneário Lagomar,
Macaé, RJ - CEP 27970-020

Tel.: (22) 2791-9322

Avaliações solicitadas: Teste Embriológico

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: Baker Hughes do Brasil Ltda.

Identificação da amostra pelo solicitante: Fluido STA Mud (Bentonita)

Código de entrada no Labtox: L129804

Composição da amostra:	Água industrial	0,886	bbl eq.
	Argila ativada	10	lb/bbl
	Amido pregelatinizado	8	lb/bbl
	Carbosan 135 TR	0,5	lb/bbl
	Soda cáustica	0,3	lb/bbl
	Barrilha leve	0,2	lb/bbl
	Baritina	129,5	lb/bbl

RESULTADOS	
CENO 250.000 ppm	CEO 500.000 ppm
VC = 353.553 ppm.	
Controle: 90% de pluteus	
DSS: CE(I)50 = 1,52 mg.L ⁻¹ (IC = 1,47 – 1,57 mg.L ⁻¹)	

IC: Intervalo de confiança

L1298LVC

1 - OBJETIVO

Este teste, realizado em 28 de janeiro de 2004, teve como objetivo determinar a toxicidade crônica do Fluido STA Mud (Bentonita), sobre os embriões do ouriço *Lytechinus variegatus*.

2 – METODOLOGIA

O teste embriológico seguiu a Norma CETESB (1999). Este 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 embriões desenvolvidos foi verificada através dos testes de “Chi-square” e “Bartlett”, respectivamente. A estimativa dos valores de CENO e CEO foi feita através do teste paramétrico 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.

RESUMO DAS CONDIÇÕES DE TESTE

Tipo de teste.....	estático sem renovação
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 da água.....	34±1 ‰
Duração do teste.....	24 horas
Resposta.....	embriões mal formados ou com o desenvolvimento retardado
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 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 a uma 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 uma hora. Após este período, a fração particulada suspensa (FPS) foi retirada e a partir dela foram preparadas

L1298LVC

as soluções-teste, sendo testadas as seguintes diluições: 488; 977; 1.953; 3.906; 7.813; 15.625; 31.250; 62.500; 125.000; 250.000; 500.000 e 1.000.000 ppm (Ficha em anexo).

VALIDADE DO TESTE

O teste EMBRIOLÓGICO é considerado válido quando:

- Apresentar no controle o mínimo de 80% de embriões no estágio de pluteus;
- O resultado com a substância de referência estiver dentro do limite estabelecido para a espécie pelo Labtox que é de 0,83 a 3,20 mg.L⁻¹.

3 – RESULTADOS

Os dados brutos da contagem do número de pluteus mal formados e/ou com atraso no desenvolvimento são apresentados na tabela I.

O valor de CENO (concentração de efeito não observado) obtido com Fluido STA Mud (Bentonita) foi de 250.000 ppm da FPS, o valor de CEO (concentração de efeito observado) foi de 500.000 ppm da FPS e o VC (valor crônico) de 353.553 ppm da FPS.

O valor médio do percentual de pluteus saudáveis obtido no controle foi de 90% e a CE(I)50 obtida com a substância de referência (DSS) foi de 1,52 mg.L⁻¹ (IC = 1,47 – 1,57 mg.L⁻¹).

Os valores de oxigênio dissolvido, pH e salinidade, medidos no início e final do teste, são apresentados nas fichas em anexo.

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.
- 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, 107p.

L1298LVC

Tabela I: Número de pluteus saudáveis e afetados de *L. variegatus* obtido no controle e nas diferentes concentrações do Fluido STA Mud (Bentonita), no teste realizado em 28/01/2004.

Diluição da amostra (ppm)	Número de pluteus	
	Saudáveis	Afetados
Controle	92	08
	89	11
	88	12
	91	09
488	91	09
	88	12
	88	12
	90	10
977	89	11
	87	13
	91	09
	91	09
1.953	90	10
	90	10
	89	11
	89	11
3.906	91	09
	88	12
	87	13
	90	10
7.813	90	10
	89	11
	91	09
	88	12
15.625	87	13
	93	07
	90	10
	89	11
31.250	87	13
	90	10
	92	08
	89	11

L1298LVC

62.500	93	07
	90	10
	88	12
	89	11
125.000	90	10
	88	12
	87	13
250.000	91	09
	92	08
	86	14
	92	08
500.000*	89	11
	03	97
	05	95
	03	97
1.000.000*	02	98
	0	100
	0	100
	0	100
	0	100
	0	100
	0	100
	0	100

* Significativamente diferente do controle.

L1298LVC

5 - EQUIPE TÉCNICA

Rio de Janeiro, 02 de fevereiro de 2004.

Leila Aparecida da Silva Kraus

MSc Leila Aparecida da Silva Kraus
CRB-2 - 12156/02

Marcia Vieira Reynier

Dra. Marcia Vieira Reynier
CRB-2 - 07135/02

Maria Cristina da Silva Maurat

Dra. Maria Cristina da Silva Maurat
CRB-2 - 12671/02

BIÓLOGAS:

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

Desideria Lima Calleja
CRB-2 - 38219/02 P

AUXILIAR DE ANÁLISE:

Viviane Euzébio Luiz

A N E X O S