

L2221LVC

**ENSAIO DE TOXICIDADE DO FLUIDO FLOPRO (AMOSTRA Nº 228)  
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](mailto:labtox@labtox.com.br)  
CEP: 21941-590

Ensaio 2221 LVC

Rio de Janeiro

L2221LVC

## LAUDO DE TOXICIDADE

Empresa solicitante: M-I Drilling Fluids do Brasil Ltda

Técnico solicitante: José França

Endereço: Rua 19 de Fevereiro, nº 30 - 4º Andar

Tel.: (21) 2537-2288

Avaliação solicitada: Ensaio Embriolarval

Organismo-teste: *Lytechinus variegatus*

Tipo de ensaio: Crônico de curta duração.

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

Responsável pelo preparo da amostra: M-I Drilling Fluids do Brasil Ltda

Identificação da amostra pelo solicitante: Fluido FLOPRO - Amostra nº 228

Data de preparo: 23/08/2005

Código de entrada no Labtox: L222105

Data de entrada no Labtox: 24/08/2005

Data de início do ensaio: 30/08/2005

Data de término do ensaio: 31/08/2005

Composição da amostra:	PRODUTO	DESCRIÇÃO DO PRODUTO	CONCENTRAÇÃO	UNIDADE
	Bicarbonato de sódio	Bicarbonato de sódio	2.00	lb/bbl
	M-I BR LUBE LpH	Lubrificante a base oleato	12.00	lb/bbl
	Safe Break MP	Peróxido de magnésio	1.50	lb/bbl
	Oxido de magnésio	Oxido de magnésio	2.00	lb/bbl
	M-I BR Trol	Hidroxipropilamido	12.00	lb/bbl
	Carbonato de cálcio	Carbonato de cálcio	80.00	lb/bbl
	Ácido cítrico	Ácido cítrico	2.50	lb/bbl
	Oxido de zinco	Oxido de zinco	2.50	lb/bbl
	DEFOAM AS	Anti espumante base silicone	0.60	lb/bbl
	KLA-GARD	Catiônico	10.00	lb/bbl
	DUOVIS	Goma xantana	2.00	lb/bbl
	KCl 96%	Cloreto de potássio	15.80	lb/bbl
	NaCl (salt)	Cloreto de sódio	35.00	lb/bbl
	M-I BAC 40	Biocida a base de glutaraldeido	0.70	lb/bbl

Obs<sub>1</sub>: Os resultados apresentados neste laudo referem-se apenas ao ensaio realizado com a amostra acima citada.

Obs<sub>2</sub>: Este laudo só pode ser reproduzido por completo. A reprodução de partes deste, só pode ser realizada com autorização escrita do Labtox.

RESULTADOS
CENO 7.812 ppm da FPS    CEO 15.625 ppm da FPS VC 11,048 ppm da FPS
Controle: 97,2 % de pluteus
DSS: CE(I)50: 1,64 mg.L <sup>-1</sup> (IC: 1,60 – 1,69 mg.L <sup>-1</sup> )

## 1 – OBJETIVO

Este ensaio, realizado em 30 de agosto de 2005, teve como objetivo determinar a toxicidade crônica de curta duração do Fluido FLOPRO - Amostra n° 228, 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 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 série de amostra testada, 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 organismos utilizados encontra-se 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”,

L2221LVC

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.....	35 a 40 ‰
Duração do ensaio.....	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.

## 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 de 0,88 a 2,66 mg.L<sup>-1</sup>.

## 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 FLOPRO - Amostra n° 228 foi de 7.812 ppm da FPS, o valor de CEO (concentração de efeito observado) foi de 15.625 ppm da FPS e o VC (valor crônico) de 11,048 ppm da FPS.

O valor médio do percentual de pluteus normais obtido no controle foi de 97,2% e a CE(I)50 obtida com a substância de referência (DSS) foi de 1,64 mg.L<sup>-1</sup> (IC: 1,60 – 1,69 mg.L<sup>-1</sup>).

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
Controle	0.028				
488	0.030	0.142		1.72	k= 1, v=21
976	0.040	0.710		1.80	k= 2, v=21
1953	0.040	0.710		1.83	k= 3, v=21
3906	0.050	1.278		1.84	k= 4, v=21
7812	0.050	1.278		1.85	k= 5, v=21
15625	0.385	20.305	*	1.85	k= 6, v=21

s = 0.025

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

L2221LVC

Tabela I: Número de pluteus normais e mal formados de *L. variegatus* obtidos nas diferentes diluições do Fluido FLOPRO - Amostra n° 228.

Solução-teste (ppm)	Número de pluteus		Solução-teste (ppm)	Número de pluteus	
	Normais	Mal formados		Normais	Mal formados
Controle	99	01	31.250*	0	100
	98	02		0	100
	95	05		0	100
	97	03		0	100
488	99	01	62.500*	0	100
	97	03		0	100
	94	06		0	100
	98	02		0	100
976	95	05	125.000*	0	100
	92	08		0	100
	96	04		0	100
	98	02		0	100
1.953	96	04	250.000*	0	100
	95	05		0	100
	99	01		0	100
	97	03		0	100
3.906	91	09	500.000*	0	100
	94	06		0	100
	95	05		0	100
	98	02		0	100
7.812	94	06	1.000.000*	0	100
	94	06		0	100
	98	02		0	100
	96	04		0	100
15.625*	58	42			
	61	39			
	67	33			
	60	40			

\* Significativamente diferente do controle

#### 4 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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.

Gulley,D.D.; Boelter,A.M.; Bergman,H.L. 1991. "TOXSTAT Realease 3.3", Laramie, WY University of Wyoming, 19 p.

#### 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, 10 de setembro de 2005.