

L1053LVC

**TESTE DE TOXICIDADE COM O PRODUTO NIPACIDE GT (CÓDIGO LET
2624) UTILIZANDO O OURIÇO-DO-MAR *Lytechinus variegatus*
(Echinodermata-Echinoidea)**

SOLICITANTE:

CENPES/PEDDS/AMA/PETROBRAS
Centro de Pesquisa Leopoldo Miguez de Mello
Ilha do Fundão – Cidade Universitária – Q 7
CEP: 21.949-900 - Tel: (21) 3865-6100

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 1053LVC

Rio de Janeiro

Av. 24, s/nº - Cidade Universitária – Ilha do Fundão – Pólo BIO-RIO – Incubadeira 3-4
CEP: 21941-590 – tel: (0XX21) 3867-5651 / 3867-5501 ramal 220

Lucas

L1053LVC

LAUDO DE TOXICIDADE

Órgão requisitante: CENPES/PDEDS/AMA

Gerência de Avaliação e Monitoramento Ambiental

Técnico requisitante: Letícia Falcão Veiga

Endereço: Centro de Pesquisa Leopoldo Miguez de Mello Ilha do Fundão Cidade
Universitária Q7

Telefone: (21) 3865 7128

Avaliação solicitada: Teste embriolarval

Organismo teste: *Lytechinus variegatus*

Tipo de teste: crônico de curta duração

Resposta do teste: Efeitos no desenvolvimento dos embriões (retardamento e/ou
ocorrência de anomalias)

Identificação da amostra pelo solicitante: Nipacide GT (Biocida)

Cód.: 109939/2973 - Lote: BRAC054672

Data: 28/04/2003

Código LET 2624

Composição: Glutaral > 30,0 %

Methanol 0,25 %

Código de entrada no Labtox: L105303

RESULTADO DEFINITIVO	
TESTE EMBRIOLÓGICO	
CENO 0,078 ppm	CEO 0,156 ppm
VC = 0,11 ppm	
Controle: 89% de pluteus	
DSS: CE50 = 1,42 mg.L ⁻¹ (IC = 1,36 – 1,47 mg.L ⁻¹)	

IC = Intervalo de confiança

1 - OBJETIVO

Este teste, realizado em 26 de junho de 2003, teve como objetivo determinar a toxicidade crônica do produto Nipacide GT (Código do LET 2624) 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 concentrações da substância, avaliando-se a concentração 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..... $25 \pm 0,5^{\circ} \text{C}$
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.....8 + 1 controle*
Alimentação.....sem alimentação
Água de diluição.....água do mar natural filtrada ($0,45 \mu\text{m}$)
Salinidade da água..... $34 \pm 1 \text{‰}$
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 *et al.*, 1991)

*Controle: exposição do organismo à água de diluição (água do mar natural) nas mesmas condições da amostra.

PREPARO DA AMOSTRA

A amostra de Nipacide GT foi enviada ao Labtox pelo CENPES/PETROBRAS. Foi preparada uma solução-estoque de 500 ppm (v/v) do produto, utilizando-se 0,1 mL do produto e avolumando para 200 mL com água do mar. A partir dessa solução foram retiradas alíquotas para as soluções- teste, sendo testadas as seguintes diluições: 0,078; 0,156; 0,313; 0,625; 1,25; 2,5; 5,0 e 10,0 ppm (Fichas 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;
- Os parâmetros de qualidade da água estiverem dentro dos limites estabelecidos para a espécie;
- O resultado com a substância de referência estiver dentro do limite estabelecido para a espécie pelo Labtox (1,1 - 2,68 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 o produto Nipacide GT (Código do LET 2624) foi de 0,078 ppm, o valor de CEO (concentração de efeito observado) foi de 0,156 ppm e o VC (valor crônico) de 0,11 ppm.

O valor médio do percentual de pluteus saudáveis obtido no controle foi de 89 % e a CE50 obtida com a substância de referência (DSS) foi de 1,42 mg.L⁻¹ (IC= 1,36 – 1,47 mg.L⁻¹).

Os valores de oxigênio, pH e salinidade, encontram-se listados nas fichas em anexo e estiveram dentro dos limites aceitáveis para a espécie.

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. Norma Técnica L5.250, São Paulo, Cetesb, 22 p

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



L1053LVC

Tabela I: Número de pluteus afetados e saudáveis de *L. variegatus* obtidos nas diferentes concentrações do produto Nipacide GT (Código do LET 2624) no teste conduzido em 26/06/2003.

Concentração (ppm)	Número de pluteus saudáveis	Número de pluteus afetados
Controle	89	11
	90	10
	88	12
	89	11
0,078	88	12
	87	13
	86	14
	95	05
0,156*	78	22
	83	17
	85	15
	82	18
0,313*	50	50
	36	64
	42	58
	58	42
0,625*	0	100
	0	100
	0	100
	0	100
1,25*	0	100
	0	100
	0	100
	0	100
2,5*	0	100
	0	100
	0	100
	0	100
5,0*	0	100
	0	100
	0	100
	0	100
10,0*	0	100
	0	100
	0	100
	0	100

* Estatisticamente diferente do controle

EQUIPE TÉCNICA

Rio de Janeiro, 30 de junho de 2003.

Leila Aparecida da Silva Kraus

MSc Leila Aparecida da Silva Kraus
Diretora Administrativa e Financeira
CRB-2 - 12156/02

Marcia Vieira Reynier

Dr Marcia Vieira Reynier
Diretora Científica
CRB-2 - 07135/02

Maria Cristina da Silva Maurat

Dr Maria Cristina da Silva Maurat
Diretora Comercial
CRB-2 - 12671/02

BIÓLOGA:

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

Desideria Lima Calleja
CRB-2 - 38219/02 P

AUXILIAR DE ANÁLISE:

Viviane Euzébio Luiz

ANEXOS

Nipacide GT - Cod LET 2624
File: t1053 Transform: LOG BASE 10(Y)

WILLIAMS TEST (Isotonic regression model)			TABLE 1 OF 2		
GROUP	IDENTIFICATION	N	ORIGINAL MEAN	TRANSFORMED MEAN	ISOTONIZED MEAN
1	0.0	4	0.110	-0.960	-0.975
2	0.078	4	0.110	-0.990	-0.975
3	0.156	4	0.180	-0.749	-0.749
4	0.313	4	0.535	-0.277	-0.277

Nipacide GT - Cod LET 2624
File: t1053 Transform: LOG BASE 10(Y)

WILLIAMS TEST (Isotonic regression model)			TABLE 2 OF 2		
IDENTIFICATION	ISOTONIZED MEAN	CALC. WILLIAMS	SIG P=.05	TABLE WILLIAMS	DEGREES OF FREEDOM
0.0	-0.975				
0.078	-0.975	0.185		1.78	k= 1, v=12
0.156	-0.749	2.520	*	1.87	k= 2, v=12
0.313	-0.277	8.169	*	1.90	k= 3, v=12

s = 0.118
Note: df used for table values are approximate when v > 20.

TESTE 1053 h.v.c Data: 26 / 06 / 03 Organismo-teste: L. axiagatus
 Tipo de teste: () fecundação (☒) embriológico Operador: Viviane

Amostra: Nitrato GT 264. LET 2624
 Cód. de entrada no laboratório: L105303 Data de entrada: 23 / 05 / 03

DADOS DA AMOSTRA: Salinidade: 35 ‰ pH: 8,47

Preparo da Solução-estoque: 0,1 mL (mg) da substância (amostra bruta)
200 mL de água de diluição.

Concentração final da solução-estoque: 500 ppm (mg/L, %)

AJUSTE DA SALINIDADE () SIM (☒) NÃO

Volume de água destilada	Volume de salmoura:	Volume de amostra:	Salinidade final da amostra:	Concentração final da amostra:
<u>—</u> mL	<u>—</u> mL	<u>—</u> mL	<u>—</u> ‰	<u>—</u> ppm

SALMOURA

Método de obtenção: — Salinidade: — ‰ pH: —

AJUSTE DO pH () SIM (☒) NÃO

Adição:
— µL de HCl pH final: —
— µL de NaOH pH final: —

DADOS DA ÁGUA DE DILUIÇÃO

Local de coleta: Angra dos Reis Data: 03 / 06 / 03

Salinidade: 35 ‰ pH: 8,34 OD: 4,8 mg/L

TESTE 1053 WC

Solução-estoque: 500 ppm Vol. final a ser preparado: 100 mL

Concentração (ppm)	Vol. Amostra a 100% adicionada (mL)	Vol. água do mar adicionada (mL)	Número dos tubos	
			leitura	F/2
0,0	—	100	1-9	10
0,078	0,016	99,984	341-344	345
0,156	0,031	99,969	346-349	350
0,313	0,063	99,937	351-354	355
0,625	0,125	99,875	356-359	360
1,25	0,25	99,75	361-364	365
2,5	0,5	99,5	366-369	370
5,0	1	99	371-374	375
10,0	2	98	376-379	380

OBS:

