

**TESTE DE TOXICIDADE COM O PRODUTO NIPACIDE GT (CÓDIGO LET
2624) UTILIZANDO *Mysidopsis juniae* (CRUSTACEA-MYSIDACEA)**

Solicitante:

CENPES/PDEDS/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 - Incubadeira 3 - 4
Cidade Universitária – Ilha do Fundão
Tel: (21) 3867-5651 / 3867-5501 ramal 220
e-mail: labtox@biorio.org.br
CEP: 21941-590

Teste 1053MJA

Rio de Janeiro



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 6100

Avaliação solicitada: Teste de toxicidade aguda com microcrustáceo misidáceo

Organismo teste: *Mysidopsis juniae*

Tipo de teste: Agudo

Resposta do teste: Efeitos sobre a SOBREVIVÊNCIA

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
CL50; 96 horas: 1,70 ppm*
Intervalo de confiança (IC: 1,47 – 1,96 ppm)
Sobrevivência no controle: 96,7 %
Padrão (Zinco): 0,24 mg/L (IC: 0,22 – 0,27 mg/L)

*Resultado calculado com a correção de Abbott (Rand, 1995).

Lucas

1 - OBJETIVO

O objetivo deste teste, realizado de 17 a 21 de junho de 2003, foi avaliar a toxicidade aguda do produto Nipacide GT (Código do LET 2624) sobre o microcrustáceo *Mysidopsis juniae*.

2 - METODOLOGIA

A determinação da toxicidade aguda em relação à *M. juniae* seguiu a metodologia descrita em Cetesb (1992), adaptada.

Jovens de *M. juniae* com 2 a 4 dias de idade, foram expostos a diferentes concentrações do produto, num sistema estático por um período de 96 horas.

A toxicidade foi medida em termos de efeitos sobre a sobrevivência, em leituras do teste a cada 24 horas.

PREPARO DA AMOSTRA

A amostra de Nipacide GT foi enviada ao Labtox pelo CENPES/PETROBRAS. Foi preparada uma solução-estoque de 1000 ppm (v/v), utilizando-se 1,0 mL do produto e avolumando para 1.000 mL com água do mar. A partir dessa solução foram retiradas alíquotas para as soluções-teste, sendo testadas as seguintes diluições: 0,78; 1,56; 3,13; 6,25; 12,5; 25; 50 e 100 ppm. Nas concentrações de 125, 250, 500 e 1000 ppm, os organismos morreram durante a montagem do teste, minutos após serem introduzidos nas soluções-teste. (Fichas em anexo).

VALIDADE DO TESTE

O teste é considerado válido quando o percentual de sobrevivência no controle é maior ou igual a 90%.



RESUMO DAS CONDIÇÕES DE TESTE

Tipo de teste: ----- estático sem renovação, com aeração
Temperatura de incubação: ----- $25 \pm 0,5$ °C
Luminosidade: ----- 12 horas claro/12 horas escuro
Frasco teste: ----- béquer de 400 mL
Volume de solução teste: ----- 300 mL
Origem dos organismos: ----- Cultivo Labtox
Idade dos organismos: ----- 2 a 4 dias
Nº de organismos / frasco: ----- 10
Nº de réplicas / concentração: ----- 3
Nº de diluições: ----- 8 + 1 controle *
Alimentação: ----- 20 náuplios de *Artemia* sp. Recém eclodidos/
misidáceo/dia
Água de diluição: ----- água do mar natural filtrada
Salinidade da água: ----- 34 ± 1 ‰
Duração do teste: ----- 96 horas
Resposta: ----- mortalidade
Valor medido: ----- CL50; 96h (concentração letal a 50% dos
Organismos em teste em um período de 96h)
Método de cálculo: ----- Trimmed Spearman-Kärber (Hamilton *et al.*,
1977)

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

CONTROLE DOS TESTES DE *Mysidopsis juniae*

Mensalmente é realizado um teste de toxicidade com o padrão, zinco (Zn), na forma de sulfato de zinco heptahidratado, com o objetivo de verificar se os organismos cultivados no Labtox estão respondendo dentro da faixa de toxicidade previamente estabelecida para a espécie pelo laboratório, que é de 0,22 – 0,42 mg/L.

O resultado da CL50; 96h obtido no teste realizado, em maio de 2003, com o zinco foi 0,24 mg/L (IC: 0,22 – 0,27 mg/L).

3 - RESULTADOS

A tabela I apresenta o percentual de mortalidade e o número de misidáceos vivos durante a leitura realizada a cada 24 horas nas diferentes diluições testadas.

A CL50;96h obtida com o produto Nipacide GT (Código do LET 2624) foi de 1,70 ppm (IC: 1,47 – 1,96 ppm) e a sobrevivência no controle foi de 96,7 %.

Os resultados de salinidade, pH e oxigênio dissolvido, medidos no início e no final do teste nas diferentes diluições, encontram-se listados nas fichas em anexo.

4 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

Cetesb – Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. 1992. Água do Mar – Teste de toxicidade aguda com *Mysidopsis juniae* SILVA, 1979 (Crustacea – Mysidacea). Norma Técnica L5.251. São Paulo, Cetesb, p.19.

Hamilton, M.; Russo, R.C. & Thurston, R.V. Trimmed Spearman-Kärber Method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environmental Science & Technology*, 1977, vol. 11, nº 7.

Rand, G.M. 1995. *Fundamentals of Aquatic toxicology. Effects environmental fate, and risk assessment*. 2ª. Ed. 1125 p.



Tabela I - Resultados de sobrevivência e do percentual de mortalidade de misidáceos durante a leitura realizada a cada 24 horas, no teste conduzido com produto Nipacide GT (Código do LET 2624).

Concentração da amostra (ppm)	Número de misidáceos vivos					Mortalidade após 96h (%)
	0 h	24h	48h	72h	96h	
Controle	10	10	10	10	10	3,3
	10	10	10	10	9	
	10	10	10	10	10	
0,78	10	10	10	10	9	10
	10	10	9	9	9	
	10	10	10	9	9	
1,56	10	10	5	5	5	40
	10	9	5	4	4	
	10	10	9	9	9	
3,13	10	4	0	0	0	100
	10	7	0	0	0	
	10	6	0	0	0	
6,25	10	0	0	0	0	100
	10	0	0	0	0	
	10	0	0	0	0	
12,5	10	0	0	0	0	100
	10	0	0	0	0	
	10	0	0	0	0	
25	10	0	0	0	0	100
	10	0	0	0	0	
	10	0	0	0	0	
50	10	0	0	0	0	100
	10	0	0	0	0	
	10	0	0	0	0	
100	10	0	0	0	0	100
	10	0	0	0	0	
	10	0	0	0	0	

EQUIPE TÉCNICA:

Rio de Janeiro, 23 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

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

Maria Cristina da Silva Maurat

MSc 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

Teste 1053MJA

Date: 17/06/03 Test Type: Agudo
Duration: 96 horas
Chemical: Nipacide GT – COD LET 2624
Species: *M. juniae*
Concentration Unit: ppm

Data Set is adjusted for control mortality using Abbott's correction.

Raw Data:

Concentration:	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25.0	50.0	100.0
Number Exposed:	30	30	30	30	30	30	30	30
Mortalities:	3	12	30	30	30	30	30	30
Abbott's Corr. Morts.:	2	11	30	30	30	30	30	30

Control Group Number: 1

Number Exposed-Control: 10

Number Mortalities-Control: 0

Control Group Number: 2

Number Exposed-Control: 10

Number Mortalities-Control: 1

Control Group Number: 3

Number Exposed-Control: 10

Number Mortalities-Control: 0

SPEARMAN-KARBER TRIM: 6.67%

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: LC50: 1.70

95% Lower Confidence: 1.47

95% Upper Confidence: 1.96

Juniae

TESTE N° 1053 MJA

Data: 17/06/03

Organismo-teste: rrr. furiosa

Operador: Feila

Amostra: Nipacide GT - COD. LET 2624

Cód. de entrada no laboratório: L105303

Data de entrada: 23/05/03 Data do preparo da amostra: 28/04/03

DADOS DO SOBRENADANTE

Salinidade: 35 ‰ pH: 8.04

AJUSTE DA SALINIDADE () SIM (x) NÃO

Volume de água destilada	Volume salmoura:	de	Volume amostra:	de	Salinidade final da amostra:	Concentração final da amostra:
— mL	— mL		— mL		— ‰	— ppm

SALMOURA

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

AJUSTE DO pH () SIM (x) NÃO

Volume amostra:	da	Adição:		pH final:
— mL		— µL de HCl		—
		— µL de NaOH		—

DADOS DA ÁGUA DE DILUIÇÃO

Local de coleta: Angra dos Reis

Data: 03/06/03

Salinidade: 35 ‰ pH: 8.11 OD: 4.54 mg/L

ORIGEM DOS ORGANISMOS		
Cultivo (<input checked="" type="checkbox"/>)	Fonte: <u>LABTOX</u>	
Campo (<input type="checkbox"/>)	Local de coleta: _____	Data: _____

MANUTENÇÃO DOS ORGANISMOS:	
Alimento: náuplios de <i>Artemia</i> sp. <i>ad libitum</i>	Temperatura: $25 \pm 1^\circ\text{C}$ Salinidade: $34 \pm 1\text{‰}$
Idade dos organismos: <u>2a4</u> dias	Fotoperíodo: 12:12h

TESTE			
INÍCIO	Data: <u>17/06/03</u>	Hora: <u>14 h 30 min</u>	
TÉRMINO	Data: <u>21/06/03</u>	Hora: <u>15 h 00 min.</u>	
Preliminar (<input type="checkbox"/>)	Estático: (<input checked="" type="checkbox"/>)	Com aeração: (<input checked="" type="checkbox"/>)	Sem aeração: (<input type="checkbox"/>)
Definitivo (<input checked="" type="checkbox"/>)	Semi-estático (<input type="checkbox"/>)	Renovação: _____h.	

Volume da solução-teste por béquer: 300 mL

Nº de organismos por béquer: 10

Nº de réplicas por concentração: 3

Preparo da solução-estoque: 1.000 ppm (mg/L, %)

Teste nº 1053 MJA
1 mL (mg) da substância (amostra bruta) + 1000 mL de água de diluição.

Unidade: ppm

Preparo das soluções-teste

Solução 1 0,0 : — mL da solução-estoque + 1.000 mL de água de diluição.

Solução 2 0,78 : 0,78 mL da solução-estoque + 999,22 mL de água de diluição.

Solução 3 1,56 : 1,56 mL da solução-estoque + 998,44 mL de água de diluição.

Solução 4 3,13 : 3,13 mL da solução-estoque + 996,87 mL de água de diluição.

Solução 5 6,25 : 6,25 mL da solução-estoque + 993,75 mL de água de diluição.

Solução 6 12,5 : 12,5 mL da solução-estoque + 987,5 mL de água de diluição.

Solução 7 25 : 25 mL da solução-estoque + 975 mL de água de diluição.

Solução 8 50 : 50 mL da solução-estoque + 950 mL de água de diluição.

Solução 9 100 : 100 mL da solução-estoque + 900 mL de água de diluição.

Solução 10 — : — mL da solução-estoque + — mL de água de diluição.

PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS DAS SOLUÇÕES-TESTE

Concentração (ppm, mg/L, %)	Béquer nº	Início			Término		
		S %	OD (mg/l)	pH	S %	OD (mg/l)	pH
0,0	74	35	4,54	8,11	35	5,64	8,59
0,78	77	35	5,11	8,05	35	5,28	8,47
1,56	80	35	5,01	8,15	35	5,11	8,40
3,13	83	35	4,82	8,22	35	4,77	7,93
6,25	86	35	4,95	8,16	35	5,99	7,91
12,5	91	35	5,43	8,12	35	6,36	7,88
25	94	35	6,45	8,19	35	6,14	8,04
50	96	35	5,72	8,17	35	6,08	8,03
100	99	35	5,71	8,16	35	6,21	7,90

Avenida 24, s/nº - Polo Bio-Rio - Incubadeira 3-4 - Cidade Universitária - Ilha do Fundão

Cep - 21941-590 - Rio de Janeiro - RJ - Tel: (5521) 3667-5501 R: 220 - e-mail: labtox@biorio.org.br

ACOMPANHAMENTO DO TESTE

TESTE Nº 1053 MJA

béquero nº	Nº de org. mortos				béquero nº	Nº de org. mortos			
	24h	48h	72h	96h		24h	48h	72h	96h
74	Ø	Ø	Ø	Ø	93	10			
75	Ø	Ø	Ø	1	94	10			
76	Ø	Ø	Ø	Ø	95	10			
77	Ø	Ø	Ø	1	96	10			
78	Ø	1	Ø	Ø	97	10			
79	Ø	Ø	1	Ø	98	10			
80	Ø	5	Ø	Ø	99	10			
81	1	4	1	Ø	100	10			
82	Ø	1	Ø	Ø	/				
83	4	6							
84	3	7							
85	4	6							
86	10								
87	10								
88	10								
89	10								
90	10								
91	10								
92	10								

Obs: Nas concentrações de 125, 250, 500 e 1.000 ppm, os organismos morreram durante a montagem do teste

Concentração de alimento: 20 náuplios de *Artêmia* sp. por misidáceo/dia.

Volume da solução de *Artêmia* sp.: 0h 27 µL 24h 32 µL
48h 43 µL 72h 36 µL

REGISTRO DE DADOS

TESTE Nº 1053 MJA

Conc. nominal (ppm % ou mg/L)	réplica 1		réplica 2		réplica 3		réplica 4		Total de mortos	Mortalidade %
	M	V	M	V	M	V	M	V		
0,0	0	10	1	9	0	10			1	3,3
0,78	1	9	1	9	1	9			3	10
1,56	5	5	6	4	1	9			12	40
3,13	10	0	10	0	10	0			30	100
6,25	10	0	10	0	10	0			30	100
12,5	10	0	10	0	10	0			30	100
25	10	0	10	0	10	0			30	100
50	10	0	10	0	10	0			30	100
100	10	0	10	0	10	0			30	100

M = número de organismos mortos

V = número de organismos vivos

Sobrevivência no controle: 96,7 %

Obs:

RANDOMIZAÇÃO DE BÉQUERES

Concentração (ppm)	Béquer nº	Concentração (ppm)	Béquer nº
0,0	74-76	12,5	89-91
0,78	77-79	25	92-94
1,56	80-82	50	95-97
3,13	83-85	100	98-100
6,25	86-88		