

**TESTE DE TOXICIDADE COM FLUIDO DE PREENCHIMENTO – NIPACIDE  
GT E SIBRAX SQO-40C (CÓDIGO LET 2632) 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 1083MJA.



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: Fluido de Preenchimento

Código do LET 2632

Composição da amostra: Nipacide GT (Biocida) 416,7 ppm

Sixbrax SQO-40C (Sequestrante de O<sub>2</sub>) 216,2 ppm

Código de entrada no Labtox: L108303

RESULTADO DEFINITIVO
CL50; 96 horas: 0,49 %
Intervalo de confiança (IC: 0,44 – 0,55 %)
Sobrevivência no controle: 100 %
Padrão (Zinco): 0,24 mg/L (IC: 0,22 – 0,27 mg/L)

## 1 - OBJETIVO

O objetivo deste teste, realizado de 16 a 20 de junho de 2003, foi avaliar a toxicidade aguda do Fluido de Preenchimento - Nipacide GT e Sisbrax SQO-40C (Código do LET 2632) 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

Foi preparada uma solução-estoque com a mistura dos produtos Nipacide GT (Biocida) e Sisbrax SQO-40C (Sequestrante de O<sub>2</sub>), utilizando, respectivamente, os volumes de 0,417 mL e 0,216 mL e avolumando para 1.000 mL com água do mar. A partir dessa solução, considerada 100%, foram retiradas alíquotas para as soluções-teste, sendo testadas as seguintes diluições: 0,195; 0,39; 0,78; 1,56; 3,13; 6,25; 12,5 e 25 %. Nas concentrações de 50 e 100 %, 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 ± 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:	30 náuplios de <i>Artemia</i> 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 <i>et al.</i> , 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 Fluido de Preenchimento - Nipacide GT e Sisbrax SQO-40C (Código do LET 2632) foi de 0,49 % (IC: 0,44 – 0,55 %) e a sobrevivência no controle foi de 100 %.

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.



Tabela I - Resultados de sobrevivência e do percentual de mortalidade de misidáceos durante a leitura realizada a cada 24 horas, no teste conduzido com o Fluido de Preenchimento- Nipacide GT e Sisbrax SQO-40C (Código do LET 2632).

Concentração da amostra (%)	Número de misidáceos vivos					Mortalidade após 96h (%)
	0 h	24h	48h	72h	96h	
Controle	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
0,195	10	10	10	10	10	3,3
	10	9	9	9	9	
	10	10	10	10	10	
0,39	10	10	7	7	7	16,7
	10	10	10	10	10	
	10	9	8	8	8	
0,78	10	10	7	0	0	100
	10	8	0	0	0	
	10	9	4	0	0	
1,56	10	10	0	0	0	100
	10	10	0	0	0	
	10	10	0	0	0	
3,13	10	10	0	0	0	100
	10	10	0	0	0	
	10	10	0	0	0	
6,25	10	10	0	0	0	100
	10	10	0	0	0	
	10	10	0	0	0	
12,5	10	10	0	0	0	100
	10	10	0	0	0	
	10	10	0	0	0	
25,0	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 1083 MJA

Date: 16/06/2003

Test Type: Agudo

Duration: 96 horas

Chemical: Fluido de Preenchimento (Nipacide GT e Sisbrax SQO-40C) – CÓD LET 2632

Species: *M. juniae*

Concentration Unit: %

## Raw Data:

Concentration:	0.195	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25.0
Number Exposed:	30	30	30	30	30	30	30	30
Mortalities:	1	5	30	30	30	30	30	30
SPEARMAN-KARBER TRIM:				3.33%				

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: LC50: 0.49

95% Lower Confidence: 0.44

95% Upper Confidence: 0.55

*Lucas*

TESTE N° 1083 MJA

Data: 16/06/03

Organismo-teste: M. funiae

Operador: Viviane

Amostra: FLUIDO DE PREENCHIMENTO (NIPACIDE GT 2 SISBRAY SGO-4pc)

Cód. de entrada no laboratório: L 108303

COD. LET 2632

Data de entrada: 23/05/03 Data do preparo da amostra: 02/05/03

DADOS DO SOBRENADANTE

Salinidade: 35 ‰ pH 8,30

AJUSTE DA SALINIDADE ( ) SIM ( ☒ ) 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 ( ☒ ) 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: 8,03 OD: 7,58 mg/L

ORIGEM DOS ORGANISMOS		
Cultivo (x)	Fonte: LABTOX	
Campo ( )	Local de coleta: _____	Data: _____

MANUTENÇÃO DOS ORGANISMOS:		
Alimento: náuplios de <i>Artemia</i> sp. ad libitum	Temperatura: 25 ± 1°C	Salinidade: 34 ± 1‰
Idade dos organismos: 24 dias	Fotoperíodo: 12:12h	

TESTE			
INÍCIO	Data: 16/06/03	Hora: 10 h 00 min	
TÉRMINO	Data: 20/06/03	Hora: 14 h 00 min.	
Preliminar ( )	Estático: (x)	Com aeração: (x)	Sem aeração: ( )
Definitivo (x)	Semi-estático ( )	Renovação: _____ h.	

Volume da solução-teste por bquer: 300 mL

Nº de organismos por bquer: 10

Nº de réplicas por concentração: 3



Preparo da solução-estoque: 100 ppm (mg/L, (%)) Teste nº 1083 MJA

— mL (mg) da substância (amostra bruta) + — mL de água de diluição.

Unidade: ‰

Preparo das soluções-teste

Solução 1 0,0 : — mL da solução-estoque + 1000 mL de água de diluição.

Solução 2 0,195 : 19,5 mL da solução-estoque + 980,5 mL de água de diluição.

Solução 3 0,39 : 3,9 mL da solução-estoque + 996,1 mL de água de diluição.

Solução 4 0,78 : 7,8 mL da solução-estoque + 992,2 mL de água de diluição.

Solução 5 1,56 : 15,6 mL da solução-estoque + 984,4 mL de água de diluição.

Solução 6 3,13 : 31,3 mL da solução-estoque + 968,7 mL de água de diluição.

Solução 7 6,25 : 62,5 mL da solução-estoque + 937,5 mL de água de diluição.

Solução 8 12,5 : 125 mL da solução-estoque + 875 mL de água de diluição.

Solução 9 25 : 250 mL da solução-estoque + 750 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	1	35	7,58	8,03	35	5,42	8,17
0,195	5	35	7,22	8,16	35	5,42	8,04
0,39	7	35	7,21	8,17	35	3,83	8,01
0,78	10	35	7,21	8,18	35	5,09	7,90
1,56	14	35	7,36	8,23	35	5,76	7,97
3,13	16	35	7,39	8,22	35	6,10	8,29
6,25	20	35	7,48	8,21	35	6,08	8,25
12,5	24	35	7,45	8,22	35	6,21	7,99
25	25	35	7,52	8,24	35	6,26	8,02

ACOMPANHAMENTO DO TESTE

TESTE Nº 1003 MJA

béquer nº	Nº de org. mortos				béquer nº	Nº de org. mortos			
	24h	48h	72h	96h		24h	48h	72h	96h
1	0	0	0	0	20	10			
2	0	0	0	0	21	10			
3	0	0	0	0	22	10			
4	0	0	0	0	23	10			
5	1	0	0	0	24	10			
6	0	0	0	0	25	10			
7	0	3	0	0	26	10			
8	0	0	0	0	27	10			
9	1	1	0	0					
10	0	3	7						
11	2	8							
12	1	5	4						
13	10								
14	10								
15	10								
16	10								
17	10								
18	10								
19	10								

Obs: Nas concentrações de 50 e 100%, 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 38 µL 24h 27 µL  
48h 32 µL 72h 43 µL



REGISTRO DE DADOS

TESTE Nº 108341A

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	0	10	0	10			0	0
0,195	0	10	1	9	0	10			1	3,3
0,39	3	7	0	10	2	8			5	16,7
0,78	10	0	10	0	10	0			30	100
1,56	10	0	10	0	10	0			30	100
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

M = número de organismos mortos

V = número de organismos vivos

Sobrevivência no controle: 100 %

Obs:

RANDOMIZAÇÃO DE BÉQUERES

Concentração (%)	Béquer nº	Concentração (%)	Béquer nº
0,0	1 - 3	3,13	16 - 18
0,195	4 - 6	6,25	19 - 21
0,39	7 - 9	12,5	22 - 24
0,78	10 - 12	25	25 - 27
1,56	13 - 15		