

**TESTE DE TOXICIDADE COM A FORMULAÇÃO COMPOSTA PELOS
PRODUTOS NIPACIDE GT, SISBRAX SQO40C E FLUORENE R2
(CÓDIGO LET 2725) 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 1258MJA.

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: Código do LET 2725

Formulação composta pelos produtos: Nipacide GT (Código LET 2624 – 416,7 ppm)
Sisbrax SQO40C (Código LET 2625 – 216,2 ppm)
Fluorene R2 (Código LET 2719 – 25 ppm)
Data: 25/11/2003

Código de entrada no Labtox: L125803

Data de entrada no Labtox: 27/11/2003

RESULTADOS
CL(I)50; 96 horas: 0,04 % da formulação
Intervalo de confiança (IC: 0,03 – 0,05 % da formulação)
Sobrevivência no controle: 100 %
Zinco: CL(I)50: 0,28 mg.L ⁻¹ (IC: 0,25 – 0,31 mg.L ⁻¹)

1 - OBJETIVO

O objetivo deste teste, realizado de 01 a 05 de dezembro de 2003, foi avaliar a toxicidade aguda da Formulação composta pelos produtos Nipacide GT, Sisbrax SQO40C e Fluorene R2 (Código do LET 2725) 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 diluições da formulação, 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 de 0,1%, avolumando-se 2 mL da formulação para 2.000 mL, com água do mar. A partir dessa solução, foram preparadas as soluções-teste, sendo testadas as seguintes diluições: 0,0007; 0,0015; 0,003; 0,006; 0,013; 0,025; 0,05 e 0,1%. (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 <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:	CL(I)50; 96h (concentração inicial 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 0,21 – 0,40 mg/L.

O resultado da CL(I)50; 96h obtido no teste realizado, em novembro de 2003, com o zinco foi 0,28 mg.L⁻¹ (IC: 0,25 – 0,31 mg.L⁻¹).

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 CL(I)50;96h obtida com a Formulação composta pelos produtos Nipacide GT, Sisbrax SQO40C e Fluorene R2 (Código do LET 2725) foi de 0,04% da formulação (IC: 0,03 – 0,05%) e a sobrevivência no controle foi de 100 %.

Os valores de salinidade, pH e oxigênio dissolvido, medidos no início e no final do teste, 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 a Formulação composta pelos produtos Nipacide GT, Sisbrax SQO40C e Fluorene R2 (Código do LET 2725).

Diluição 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	
0,0007	10	10	10	10	10	3,3
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	9	
0,0015	10	10	10	10	10	3,3
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	9	
0,003	10	10	9	9	7	13,3
	10	10	10	10	10	
	10	10	9	9	9	
0,006	10	10	9	9	9	6,7
	10	10	10	9	9	
	10	10	10	10	10	
0,013	10	9	8	8	8	13,3
	10	10	10	10	10	
	10	9	8	8	8	
0,025	10	10	10	10	10	10
	10	8	8	8	7	
	10	10	10	10	10	
0,05	10	8	6	6	6	43,3
	10	7	6	6	6	
	10	10	8	7	5	
0,1	10	4	1	0	0	100
	10	6	1	0	0	
	10	5	0	0	0	

EQUIPE TÉCNICA:

Rio de Janeiro, 08 de dezembro de 2003.

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

ANEXOS


Teste 1258MJA

Date: 01/12/03 Test Type: Agudo
Duration: 96 horas
Chemical: Formulação composta po 3 produtos - COD LET 2725
Species: *M. juniae*
Concentration Unit: %

Raw Data:

Concentration:	0.0007	0.0015	0.003	0.006	0.013	0.025	0.05	0.10
Number Exposed:	30	30	30	30	30	30	30	30
Mortalities:	1	1	4	2	4	3	13	30
SPEARMAN-KARBER TRIM:		3.33%						

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: LC50: 0.04
95% Lower Confidence: 0.03
95% Upper Confidence: 0.05



TESTE 12S8 MJA

Data: 01 / 12 / 03

Organismo-teste: T. finiae

Operador: wilson

Amostra: mistura de produtos (COD LET 2624 + COD LET 2625 + COD LET 2719) COD

Cód. de entrada no laboratório: L12S803

Data de entrada: 27 / 11 / 03 LET

DADOS DA AMOSTRA: Salinidade: 34 ‰ pH 8,10 27

Preparo da Solução-estoque: 2 mL (mg) da substância (amostra bruta)

1998 mL de água de diluição.

Concentração final da solução-estoque: 140 ~~ppm~~ (mg/L, ‰)

AJUSTE DA SALINIDADE () SIM (☒) NÃO

Volume de água destilada	Volume salmoura:	de	Volume amostra:	de	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: 13 / 11 / 03

Salinidade: 34 ‰ pH: 8,14 OD: 5,95 mg/L

ORIGEM DOS ORGANISMOS		
Cultivo (X)	Fonte: LABTOX	Lote: _____
Campo ()	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>2 a 4</u> dias	Fotoperíodo: 12:12h	

TESTE			
INÍCIO	Data: <u>01/12/03</u>	Hora: <u>14 h 30 min</u>	
TÉRMINO	Data: <u>05/12/03</u>	Hora: <u>15 h 00 min.</u>	
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

Solução-estoque: 0,1 ppm (mg/L, (%)) Teste 1258 MSA

Unidade: % Preparo das soluções-teste

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

Solução 2 0,0007 : 7,81 mL da solução-estoque + 992,19 mL de água de diluição.

Solução 3 0,0015 : 15,62 mL da solução-estoque + 984,38 mL de água de diluição.

Solução 4 0,003 : 31,25 mL da solução-estoque + 968,75 mL de água de diluição.

Solução 5 0,006 : 62,5 mL da solução-estoque + 937,5 mL de água de diluição.

Solução 6 0,013 : 125 mL da solução-estoque + 875 mL de água de diluição.

Solução 7 0,025 : 250 mL da solução-estoque + 750 mL de água de diluição.

Solução 8 0,05 : 500 mL da solução-estoque + 500 mL de água de diluição.

Solução 9 0,1 : 1.000 mL da solução-estoque + — 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 n°	Início			Término		
		S ‰	OD (mg/l)	pH	S ‰	OD (mg/l)	pH
<u>0,0</u>	<u>500</u>	<u>34</u>	<u>5,95</u>	<u>8,14</u>	<u>36</u>	<u>4,73</u>	<u>8,22</u>
<u>0,0007</u>	<u>505</u>	<u>34</u>	<u>5,95</u>	<u>8,20</u>	<u>36</u>	<u>5,94</u>	<u>8,35</u>
<u>0,0015</u>	<u>508</u>	<u>34</u>	<u>5,99</u>	<u>8,16</u>	<u>36</u>	<u>4,66</u>	<u>8,35</u>
<u>0,003</u>	<u>509</u>	<u>34</u>	<u>5,94</u>	<u>8,18</u>	<u>36</u>	<u>4,56</u>	<u>8,37</u>
<u>0,006</u>	<u>512</u>	<u>34</u>	<u>6,07</u>	<u>8,16</u>	<u>34</u>	<u>4,56</u>	<u>8,31</u>
<u>0,013</u>	<u>515</u>	<u>34</u>	<u>6,17</u>	<u>8,14</u>	<u>36</u>	<u>5,08</u>	<u>8,34</u>
<u>0,025</u>	<u>519</u>	<u>34</u>	<u>6,30</u>	<u>8,16</u>	<u>36</u>	<u>4,99</u>	<u>8,35</u>
<u>0,05</u>	<u>523</u>	<u>34</u>	<u>6,45</u>	<u>8,16</u>	<u>36</u>	<u>4,84</u>	<u>8,35</u>
<u>0,1</u>	<u>525</u>	<u>34</u>	<u>6,65</u>	<u>8,10</u>	<u>35</u>	<u>4,83</u>	<u>8,27</u>

ACOMPANHAMENTO DO TESTE

TESTE 1258 MJA

béquer nº	Nº de org. mortos				béquer nº	Nº de org. mortos			
	24h	48h	72h	96h		24h	48h	72h	96h
S00	0	0	0	0	S19	2	0	0	1
S01	0	0	0	0	S20	0	0	0	0
S02	0	0	0	0	S21	2	2	0	0
S03	0	0	0	0	S22	3	1	0	0
S04	0	0	0	0	S23	0	2	1	2
S05	0	0	0	1	S24	6	3	1	—
S06	0	0	0	0	S25	4	5	1	—
S07	0	0	0	0	S26	5	5	—	—
S08	0	0	0	1					
S09	0	1	0	2					
S10	0	0	0	0					
S11	0	1	0	0					
S12	0	1	0	0					
S13	0	0	1	0					
S14	0	0	0	0					
S15	1	1	0	0					
S16	0	0	0	0					
S17	1	1	0	0					
S18	0	0	0	0					

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

Volume da solução de *Artêmia* sp.: 0h 55 µL 24h 51 µL

48h 50 µL 72h 32 µL

REGISTRO DE DADOS

TESTE 1258 MJA

Concentração nominal ‰	réplica 1		réplica 2		réplica 3		réplica 4		Total de imóveis	Imobilidade %
	I	M	I	M	I	M	I	M		
0,0	0	10	0	10	0	10			0	0
0,0007	0	10	0	10	1	9			1	3,3
0,0015	0	10	0	10	1	9			1	3,3
0,003	3	7	0	10	1	9			4	13,3
0,006	1	9	1	9	0	10			2	6,7
0,013	2	8	0	10	2	8			4	13,3
0,025	0	10	3	7	0	10			3	10
0,05	4	6	4	6	5	5			13	43,3
0,1	10	0	10	0	10	0			30	100

I = número de organismos imóveis

M = número de organismos móveis

Mobilidade no controle: 100 %

Obs:

RANDOMIZAÇÃO DE BÉQUERES

Concentração (‰)	Béquer nº	Concentração (‰)	Béquer nº
0,0	500-502	0,013	515-517
0,0007	503-505	0,025	518-520
0,0015	506-508	0,05	521-523
0,003	509-511	0,1	524-526
0,006	512-514		