

**TESTE DE TOXICIDADE COM O PRODUTO HW 525 (CÓDIGO LET 2630)
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 1071MJA



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: HW 525

Data: 29/05/2003

Código LET 2630

Código de entrada no Labtox: L107103

RESULTADO DEFINITIVO
CL50; 96 horas: 16,88 ppm
Intervalo de confiança (IC: 14,11 – 20,19 ppm)
Sobrevivência no controle: 100 %
Padrão (Zinco): 0,24 mg/L (IC: 0,22 – 0,27 mg/L)

Handwritten signature

1 - OBJETIVO

O objetivo deste teste, realizado de 13 a 17 de junho de 2003, foi avaliar a toxicidade aguda do produto HW 525 (Código do LET 2630) 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 HW 525 foi enviada ao Labtox pelo CENPES/PETROBRAS. Foi preparada uma solução-estoque de 100 ppm (v/v) do produto, utilizando-se 0,2 mL do produto e avolumando para 2.000 mL com água do mar. A partir dessa solução foram retiradas alíquotas para as soluções-teste, sendo testadas as seguintes diluições: 1,56; 3,13; 6,25; 12,5; 25; 50 e 100 ppm (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:	7 + 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:	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 misidáceos mortos 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 HW 525 (Código do LET 2630) foi de 16,88 ppm (IC: 14,11 – 20,19 ppm) 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 produto HW 525 (Código do LET 2630).

Concentração da amostra (ppm)	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	
1,56	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
3,13	10	10	10	10	10	3,3
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	9	
6,25	10	10	10	10	10	3,3
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	9	
12,5	10	10	9	8	6	30
	10	10	10	9	8	
	10	10	10	8	7	
25	10	8	6	3	3	73,3
	10	7	5	3	3	
	10	7	3	2	2	
50	10	0	0	0	0	96,7
	10	1	1	1	1	
	10	0	0	0	0	
100	10	0	0	0	0	100
	10	0	0	0	0	
	10	0	0	0	0	

MLP

EQUIPE TÉCNICA:

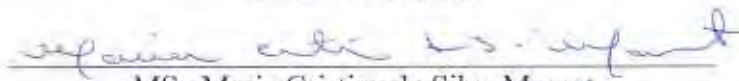
Rio de Janeiro, 17 de junho de 2003.



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



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



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

A N E X O S

Teste 1071MJA

Date: 13/06/03 Test Type: Agudo
Duration: 96 horas
Chemical: Amostra HW 525 - Cod LET 2630
Species: *M. juniae*
Concentration Unit: ppm

Raw Data:

Concentration:	1.56	3.12	6.25	12.50	25.0	50.0	100.0
Number Exposed:	30	30	30	30	30	30	30
Mortalities:	0	1	1	9	22	29	30
SPEARMAN-KARBER TRIM:				.00%			

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES:	LC50:	16.88
	95% Lower Confidence:	14.11
	95% Upper Confidence:	20.19



TESTE N° 1091 MSA

Data: 13 / 06 / 03

Organismo-teste: Y. Yersinia

Operador: Vickiana

Amostra: OPR - LEP 2630 (Hw) 535 7-25

Cód. de entrada no laboratório: L 107103

Data de entrada: 03 / 06 / 03 Data do preparo da amostra: 29 / 05 / 2003

DADOS DO SOBRENADANTE

Salinidade: 35 ‰ pH 8,06

AJUSTE DA SALINIDADE () SIM (x) NÃO

Volume de água destilada	Volume de 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 (x) NÃO

Volume amostra:	da	Adição:	pH final:
<u>—</u> mL		<u>—</u> µL de HCl	<u>—</u>
		<u>—</u> µL de NaOH	<u>—</u>

DADOS DA ÁGUA DE DILUIÇÃO

Local de coleta: Angra dos Reis

Data: 03 / 06 / 03

Salinidade: 35 ‰ pH: 8,02 OD: 4,61 mg/L

ORIGEM DOS ORGANISMOS		
Cultivo (<input 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 ± 1°C	Salinidade: 34 ± 1‰
Idade dos organismos: <u>2 a 4</u> dias	Fotoperíodo: 12:12h	

TESTE			
INÍCIO	Data: <u>12 / 03 / 03</u>	Hora: <u>10 h 00 min</u>	
TÉRMINO	Data: <u>13 / 03 / 03</u>	Hora: <u>10 h 30 min.</u>	
Preliminar (<input type="checkbox"/>)	Estático: (<input type="checkbox"/>)	Com aeração: (<input type="checkbox"/>)	Sem aeração: (<input type="checkbox"/>)
Definitivo (<input type="checkbox"/>)	Semi-estático (<input type="checkbox"/>)	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 n° ADRI MJA

0.1 mL (mg) da substância (amostra bruta) + 2000 mL de água de diluição.

Unidade: µg/L Preparo das soluções-teste

Solução 1 00 : - mL da solução-estoque + 1000 mL de água de diluição.

Solução 2 156 : 15.6 mL da solução-estoque + 984.4 mL de água de diluição.

Solução 3 312 : 31.2 mL da solução-estoque + 968.8 mL de água de diluição.

Solução 4 625 : 62.5 mL da solução-estoque + 937.5 mL de água de diluição.

Solução 5 125 : 12.5 mL da solução-estoque + 875 mL de água de diluição.

Solução 6 25 : 2.50 mL da solução-estoque + 750 mL de água de diluição.

Solução 7 50 : 500 mL da solução-estoque + 500 mL de água de diluição.

Solução 8 100 : 1000 mL da solução-estoque + - mL de água de diluição.

Solução 9 - : - 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, %	Bêquer n°	Início			Término		
		S ‰	OD (mg/l)	pH	S ‰	OD (mg/l)	pH
00	90	35	4,61	8,02	35	6,20	8,08
156	93	35	4,48	8,02	35	5,85	8,00
312	86	35	4,66	8,06	35	6,24	8,11
625	89	35	4,55	8,03	35	6,21	8,08
125	92	35	3,90	8,03	35	6,23	8,10
25	95	35	4,57	7,99	35	6,13	8,03
50	99	35	4,58	7,98	35	6,19	8,15
100	101	35	4,44	8,06	35	5,74	7,96

ACOMPANHAMENTO DO TESTE

TESTE Nº 1071 H3A

bêquer nº	Nº de org. mortos				bêquer nº	Nº de org. mortos			
	24h	48h	72h	96h		24h	48h	72h	96h
80	Ø	Ø	Ø	Ø	99	Ø	Ø	Ø	Ø
81	Ø	Ø	Ø	Ø	100	10			
82	Ø	Ø	Ø	Ø	101	10			
83	Ø	Ø	Ø	Ø	102	10			
84	Ø	Ø	Ø	Ø	103	10			
85	Ø	Ø	Ø	Ø					
86	Ø	Ø	Ø	Ø					
87	Ø	Ø	Ø	Ø					
88	Ø	Ø	Ø	1					
89	Ø	Ø	Ø	Ø					
90	Ø	Ø	Ø	Ø					
91	Ø	Ø	Ø	1					
92	Ø	1	1	2					
93	Ø	Ø	1	1					
94	Ø	Ø	2	1					
95	2	2	3	Ø					
96	3	2	2	Ø					
97	3	4	1	Ø					
98	10								

Concentração de alimento: 20 náuplios de *Artêmia* sp. por misidáceo/dia.
 Volume da solução de *Artêmia* sp.: 0h 30 µL 24h 30 µL
 48h 43 µL 72h 38 µL

REGISTRO DE DADOS

TESTE N° 1071113A

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
1,56	0	10	0	10	0	10			0	0
3,12	0	10	0	10	1	9			1	3,3
6,25	0	10	0	10	1	9			1	3,3
12,5	4	6	2	8	3	7			9	30
25	7	3	7	3	8	2			22	73,3
50	10	0	9	1	10	0			29	96,7
100	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 (ppm)	Béquer n°	Concentração (ppm)	Béquer n°
0,0	80-82	25	95-97
1,56	83-85	50	98-100
3,12	86-88	100	101-103
6,25	89-91		
12,5	92-94		

Avenida 24, s/n° - Polo Bio-Rio - Incubadeira 3-4 - Cidade Universitária - Ilha do Fundão

Cep - 21941-590 - Rio de Janeiro - RJ - Tel: (5521) 3867-5501 R: 220 - e-mail: labtox@biorio.org.br