

## INFORME N°: CREA-79-16

<b>Tipo de Bioensayo:</b>	Toxicidad Aguda Toxicidad Crónica
<b>Especie utilizada:</b>	<i>Daphnia magna</i> <i>Selenastrum capricornatum</i>
<b>Metodología utilizada:</b>	Los bioensayos fueron realizados en base a normas estandarizadas por US-EPA (1991) Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms EPA- 600/4-90-027F y US EPA (1995). NCh 2706 Of.2002 Bioensayos de Inhibición de crecimiento de algas en agua dulce con <i>Selenastrum capricornatum</i> ( <i>Raphidocelis subcapitata</i> ).
<b>Control negativo:</b>	Agua Reconstituida Medio EPA 5
<b>Muestra Problema:</b>	SC-1000
<b>Efecto Medido:</b>	Mortalidad de los organismos de <i>Daphnia magna</i> Inhibición de tasa de crecimiento de <i>Selenastrum capricornatum</i>

**CL<sub>50</sub>:** Concentración o dilución que provoca un efecto agudo, mortalidad, en un 50% de la población muestreada utilizada en el bioensayo.

**CE<sub>50</sub>:** Concentración efectiva que provoca un efecto sobre la tasa de crecimiento al 50% de la población expuesta, durante el periodo de duración del ensayo.

## CONDICIONES DE BIOENSAYO AGUDO

Tabla 1. Condiciones de prueba para la realización de ensayo agudo con *Daphnia magna*.

Variable	Especificación
1. Tipo de prueba	Estático
2. Duración de la Prueba	24 ó 48 horas
3. Temperatura	20 ± 2°C
4. Fotoperíodo	16 horas luz- 8 oscuridad
5. Tamaño de la cámara de prueba	20 ml
6. Número de replicas	4
7. Número de organismos por replica	5
8. Número de organismos por concentración	20
9. Edad de los organismos	Neonatos < a 24 horas
10. Aireación	80% de saturación
11. Agua de dilución	Reconstituida Dureza: 250 ± 25 mg/L de CaCO <sub>3</sub> pH: 7.8 ± 0.2 OD: sobre 80% de saturación
12. criterio de toxicidad	Mortalidad (por inmovilidad )
13. Criterio de aceptabilidad de la prueba	Sobrevivencia de los controles ≥ 90%

## CONDICIONES DE BIOENSAYO CRÓNICO

Tabla 2. Condiciones de prueba para la realización de los ensayos crónicos con *Selenastrum capricornatum*.

Variable	Especificación
1. Tipo de prueba	Estático
2. Duración de la Prueba	96 horas
3. Temperatura	20 ± 2°C
4. Fotoperíodo	24 horas luz
5. Tamaño de la cámara de prueba	100 ml
6. Número de replicas	3
7. Número de organismos por replica	10000
8. Número de organismos por concentración	30000
11. Agua de dilución	Medio de Cultivo EPA/5
12. Criterio de toxicidad	Inhibición de crecimiento
13. Criterio de aceptabilidad de la prueba	Control 16 veces mayor que inóculo inicial.



## RESULTADOS BIOENSAYO AGUDO

Empresa solicitante	:	PRORGANIK
Identificación de Muestra	:	SC-1000
Análisis requerido	:	Toxicidad aguda con <i>Daphnia magna</i>
Recepción de la Muestra	:	04/05/16
Realización Bioensayo Definitivo	:	25/05/16
Resultado 24 horas CL <sub>50</sub>	:	30,21 ppm (25,48 – 35,91)
Resultado 48 horas CL <sub>50</sub>	:	20,36 ppm (17,71 – 23,51)

Control Positivo CL<sub>50</sub> 24 horas: 1,14 (0,98 - 1,34) mg/L de Dicromato de Potasio.

Control Negativo (Agua Reconstituida): 100 % sobrevivencia después de 48 horas de exposición.

### RESULTADOS BIOENSAYO CRÓNICO

Identificación de Muestra : SC-1000  
 Análisis requerido : Toxicidad crónica con *Selenastrum capricornatum*  
 Recepción de la Muestra : 04/05/16  
 Realización Bioensayo Definitivo : 03/07/16

Tabla 3: Resumen de las diluciones y porcentaje de inhibición de la tasa de crecimiento de *Selenastrum capricornatum*, después de 96 horas de exposición.

Dilución de la muestra problema	$N_{96\text{ h}}$	K	%K	% Inhibición de K
Control	$1,9 * 10^6$	1,90	100	0
9,84 ppm	$6,9 * 10^5$	1,52	80	20
19,68 ppm	$1,2 * 10^5$	0,90	48	52
39,36 ppm	$1,5 * 10^4$	0,11	6	94
78,72 ppm	$1,0 * 10^4$	0	0	100
157,44 ppm	$1,0 * 10^4$	0	0	100

$N_{96\text{-h}}$ : Numero de células por ml después de 96 horas de exposición.

K: Tasa de crecimiento al final de las 96 horas.

Determinación de la Dilución (%) que produce un 50% de inhibición de la tasa de crecimiento.

Análisis Probit:  $CE_{50\ 96\text{-h}} = 18,22$  ppm (16,18 – 20,525)

Control Positivo  $CE_{50\ 96\text{ horas}}: 1,74$  (1,61 – 1,87) mg/L de Dicromato de Potasio.

## COMENTARIOS

La muestra identificada como SC-1000, presentó un valor de toxicidad aguda (CL<sub>50</sub>) de 30,21 ppm a las 24 horas y de 20,36 ppm a las 48 horas de exposición.

El ensayo crónico realizado con *Selenastrum capricornatum*, arrojó un valor de CE<sub>50</sub> de 18,22 ppm con rangos que fluctuaron entre 16,18 y 20,52 ppm.

Tabla 4: Resumen de resultados bioensayos agudos y crónicos con la muestra: SC-1000, proveniente de PRORGANIK.

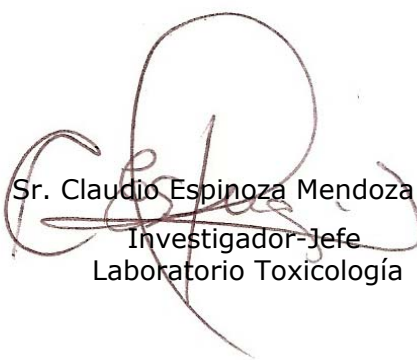
Muestra	Test Toxicidad Aguda <i>Daphnia magna</i>		Test Toxicidad Crónica <i>Selenastrum capricornatum</i>
	CL <sub>50-24h</sub>	CL <sub>50-48h</sub>	CE <sub>50-96 h</sub>
SC-1000	30,21 ppm (25,48 – 35,91)	20,36 ppm (17,71 – 23,51)	18,22 ppm (16,18 – 20,52)

## BIBLIOGRAFÍA

- US-EPA (1991) Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms EPA- 600/4-90-027F y US EPA (1995).
- NCh 2083 Of.1999. Bioensayos de Toxicidad aguda mediante la determinación de la inhibición de la movilidad de *Daphnia magna* o *Daphnia pulex* (Crustacea, Cladocera).
- NCh 2706 Of.2002 Bioensayos de Inhibición de crecimiento de algas en agua dulce con *Selenastrum capricornatum* (*Raphidocelis subcapitata*).



Sra. Marisol Gajardo Castillo  
Biólogo  
Laboratorio Toxicología



Sr. Claudio Espinoza Mendoza  
Investigador-Jefe  
Laboratorio Toxicología

Talcahuano, 08 de junio de 2016