

INFORME N°: CREA-80-16

Tipo de Bioensayo:	Toxicidad Aguda Toxicidad Crónica
Especie utilizada:	<i>Tisbe longicornis</i> <i>Isochrysis galbana</i>
Metodología utilizada:	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). ISO 14669. Water quality-Determination of acute lethal toxicity to marine copepods (Copepoda, Crustacea). NCh 2706 Of.2002 Bioensayos de Inhibición de crecimiento de algas en agua dulce con <i>Selenastrum capricornatum</i> (<i>Raphidocelis subcapitata</i>).
Control negativo:	Agua de mar Medio EPA5
Muestra Problema:	SC-1000
Efecto Medido:	Mortalidad de los organismos de <i>Tisbe longicornis</i> Inhibición de tasa de crecimiento de <i>Isochrysis galbana</i> CL₅₀ : Concentración o dilución que provoca un efecto agudo, mortalidad, en un 50% de la población muestreada utilizada en el bioensayo. CE₅₀ : 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 *Tisbe longicornis*.

Variable	Especificación
1. Tipo de prueba	Estático
2. Duración de la Prueba	48 horas
3. Temperatura	20 ± 2°C
4. Fotoperíodo	16/8 (luz- oscuridad)
5. Edad de los organismos	Juveniles menores de 7 días
6. Régimen de Alimentación	Sin alimentación
7. Tamaño de la cámara de prueba	15 ml
8. Número de replicas	4
9. Número de organismos por replica	5
10. Número de organismos por concentración	20
11. Agua de dilución	Agua de mar
12. Criterio de toxicidad	Mortalidad
13. Criterio de aceptabilidad de la prueba	Un 80% o más de sobrevivencia en los controles.

CONDICIONES DE BIOENSAYO CRÓNICO

Tabla 2. Condiciones de prueba para la realización de los ensayos crónicos con *Isochrysis galbana*.

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>Tisbe longicornis</i>
Recepción de la Muestra	:	04/05/16
Realización Bioensayo Definitivo	:	30/05/16
Resultado 24 horas CL ₅₀	:	60,82 ppm (54,08 – 68,40)
Resultado 48 horas CL ₅₀	:	52,12 ppm (46,87 – 58,09)

Control Positivo (3-5 Diclorofenol)*: LC_{50-24h}: 1,27 ppm (1,06 – 1,53).

LC_{50-48h}: 1,10 ppm (0,93 – 1,30)

Control Negativo: 100%

*Según Norma ISO 14669

RESULTADOS BIOENSAYO CRÓNICO

Identificación de Muestra : SC-1000
 Análisis requerido : Toxicidad crónica con *Isochrysis galbana*
 Recepción de la Muestra : 04/05/16
 Realización Bioensayo Definitivo : 03/06/16

Tabla 3: Resumen de las concentraciones y porcentaje de inhibición de la tasa de crecimiento de *Isochrysis galbana*, después de 96 horas de exposición.

Dilución de la muestra problema	$N_{96\text{ h}}$	K	%K	% Inhibición de K
Control	$3,3 * 10^5$	1,26	100	0
9,84 ppm	$2,5 * 10^5$	1,15	91	9
14,76 ppm	$1,6 * 10^4$	0,18	15	85
22,14 ppm	$1,5 * 10^4$	0,13	11	89
33,16 ppm	$1,0 * 10^4$	0,02	2	98
49,2 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: $CE_{50\ 96\text{-h}} = 12,49\text{ ppm}$ (11,96 – 13,05)

Control Positivo $CE_{50\text{-}96\text{ horas}}$: 5,90 (5,60 – 6,31) ppm de Dicromato de Potasio.

COMENTARIOS

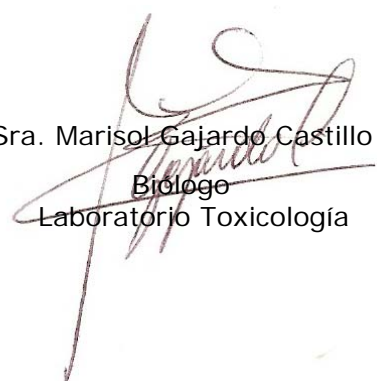
La muestra identificada como SC-1000, presentó un valor de toxicidad aguda (CL₅₀) de 60,82 ppm a las 24 horas y de 52,12 ppm a las 48 horas de exposición. El ensayo crónico realizado con *Isochrysis galbana*, arrojó un valor de CE₅₀ de 12,49 ppm con rangos que fluctuaron entre 11,96 y 13,05 ppm.

Tabla 4: Resumen de resultados bioensayos agudos y crónicos con el compuesto SC-1000, proporcionado por PRORGANIK.

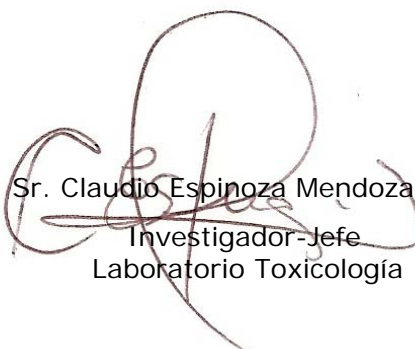
Muestra	Test Toxicidad Aguda <i>Tisbe longicornis</i>		Test Toxicidad Crónica <i>Isochrysis galbana</i>
	CL _{50-24h}	CL _{50-48h}	CE _{50-96 h}
SC-1000	60,82 ppm (54,08 – 68,40)	52,12 ppm (46,87 – 58,09)	12,49 ppm (11,96 – 13,05)

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 2706 Of.2002 Bioensayos de Inhibición de crecimiento de algas en agua dulce con *Selenastrum capricornatum* (*Raphidocelis subcapitata*).
- ISO 14669. Water quality-Determination of acute lethal toxicity to marine copepods (Copepoda, *Crustacea*).



Sra. Marisol Gajardo Castillo
Biólogo
Laboratorio Toxicología



Sr. Claudio Espinoza Mendoza
Investigador-Jefe
Laboratorio Toxicología

Talcahuano, 08 de junio de 2016