

Study Sponsor:	ELF ATOCHEM
Issue Date:	25-Jan-95
Document Reference No.:	53957

Acute Toxicity to Daphnia
Author(s): H. Thiebaud Coll: P. Brochier

English Translation of Report Summary for
DuPont Chemical Solutions Enterprise
27-Jan-03

Company Sanitized. Does not contain TSCA CBI

ELF ATOCHEM

Levallois Applications Center

1. TECHNICAL SUMMARY

Determination of acute toxicity (inhibition of mobility) of *Daphnia magna* by [REDACTED], over 24 and 48 hours was effected using the operating procedure described in standard ISO 6341 applicable to chemical substances, industrial and urban effluents, to surface and subterranean waters.

The method consists in exposing the daphnias to a range of concentrations of the substance being studied. The toxic effect observed is the immobilization at the end of 24 and 48 hours. From the dose/effect relation established with the initial concentrations, a median effective $CE(I)_{50}$ is calculated, expressed as $CE(I)_{50}$ - 24 h and $CE(I)_{50}$ - 48 h.

Under the study conditions, [REDACTED] presents a $CE(I)_{50}$ - 24 h and $CE(I)_{50}$ - 48 h above 100 mg/l and a $CE(I)_{50}$ - 48 h of 13 mg/l.

2. SIGNATURE

Director of the study : H. THIEBAUD

Date

Signature

25/1/95

ELF ATOCHEM

D.C.R.D.

Centre d'Application de Levallois
Service Analyse Environnement

Levallois le : 25/01/95

Réf. document : 53957

N° de Séquentiel : 814020

TITRE :

[REDACTED]
TOXICITÉ AIGUË VIS-À-VIS DES DAPHNIES

AUTEURS : H. THIÉBAUD
coll : P. BROCHIER

RÉSUMÉ DOCUMENTAIRE :

Détermination de la toxicité aiguë (inhibition de la mobilité) de *Daphnia magna* par le [REDACTED] sur 24 et 48 heures, en suivant le mode opératoire décrit dans la norme ISO 6341 (seconde édition, 1989).

MOTS CLÉS :

[REDACTED], Toxicité aiguë daphnies, ISO 6341.

DESTINATAIRE : M. DEVAUX (DCFS)

Copies : Chef de Service, Responsable des Archives,
Laboratoire d'écotoxicologie
Secrétariat, Fichier TECH
Service Écotoxicité et Sûreté des Produits (DSE-P)

Company Sanitized. Does not contain TSCA CBI

RAPPORT D'ÉTUDE
TOXICITÉ AIGUË VIS-À-VIS DES DAPHNIES.

SOMMAIRE

1. RÉSUMÉ TECHNIQUE	3
2. SIGNATURE	3
3. IDENTIFICATIONS	4
3.1. Substance d'essai	4
3.2. Laboratoire d'essai	4
3.3. Demandeur de l'étude	4
3.4. Calendrier	4
3.5. Archivage	4
4. OBJECTIF DE L'ÉTUDE	5
5. MÉTHODE D'ESSAI	5
5.1. Introduction	5
5.1.1. Principe	6
5.1.2. Références	6
5.2. Matériel et produits	6
5.2.1. Matériel	6
5.2.2. Produits et réactifs	6
5.3. Mode opératoire	6
5.3.1. Préparation des solutions	6
5.3.2. Essai préliminaire	7
5.3.3. Essai définitif	7
5.3.4. Contrôle de sensibilité du réactif biologique	7
6. RÉSULTATS	7
6.1. Essai définitif	8
6.2. Critères de Validité de l'étude	8
6.2.1. Teneur en oxygène	8
6.2.2. Immobilisation des témoins	8
6.2.3. Sensibilité du réactif biologique	8
7. CONCLUSIONS	9
8. ANNEXES	9
8.1. Annexe 1 : Milieu d'essai.	10
8.2. Annexe 2 : Concentrations utilisées et résultats des calculs à 24 heures	10
8.3. Annexe 3 : Concentrations utilisées et résultats des calculs à 48 heures	11

Company Sanitized. Does not contain TSCA CB

1. RÉSUMÉ TECHNIQUE

La détermination de la toxicité aiguë (inhibition de la mobilité) de *Daphnia magna* par le [REDACTED], sur 24 et 48 heures a été réalisée en suivant le mode opératoire décrit dans la norme ISO 6341 applicable aux substances chimiques, aux effluents industriels et urbains, aux eaux de surfaces et souterraines.

La méthode consiste à exposer les daphnies à une gamme de concentrations de la substance étudiée. L'effet toxique observé est l'immobilisation au bout de 24 heures et 48 heures. A partir de la relation dose/effet établie avec les concentrations initiales, on déduit une concentration médiane effective $CE(I)_{50}$, exprimée en en $CE(I)_{50} - 24\text{ h}$ et en $CE(I)_{50} - 48\text{ h}$.

Dans les conditions de l'étude, le [REDACTED] présente une $CE(I)_{50} - 24\text{ h}$ supérieure à 100 mg/l et une $CE(I)_{50} - 48\text{ h}$ de 13 mg/l.

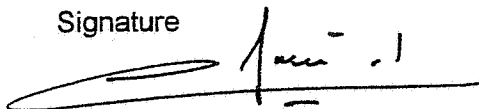
2. SIGNATURE

Le Directeur de l'étude : H. THIÉBAUD

Date

23/1/95

Signature



Company Sanitized. Does not contain TSCA CB

ELF ATOCHEM
Centre d'Application de Levallois

3. IDENTIFICATIONS

3.1. Substance d'essai

[REDACTED]

Caractéristiques principales :

- apparence : liquide ambré
- solubilité dans l'eau : soluble à environ 10% en masse

3.2. Laboratoire d'essai

ELF ATOCHEM
CENTRE D'APPLICATION DE LEVALLOIS
SERVICE ANALYSE ENVIRONNEMENT
95 rue Danton
92300 LEVALLOIS-PERRET

Directeur d'étude

M. THIÉBAUD

Personnel impliqué dans l'étude

Ingénieur : M. THIÉBAUD

Technicienne : Mlle BROCHIER

3.3. Demandeur de l'étude

M. DEVAUX (DCFS)

3.4. Calendrier

Début de l'étude	2/11/94
Fin de l'étude	15/12/94
Rapport d'étude	25/01/95

3.5. Archivage

Les substances étudiées sont conservées dans le Service Analyse Environnement pendant une durée de 5 ans au maximum. L'ensemble des documents d'études est conservé au moins 10 ans.

Company Sanitized. Does not contain TSCA CBI

ELF ATOCHEM

Centre d'Application de Levallois

4. OBJECTIF DE L'ÉTUDE

L'objectif de cette étude est de déterminer la toxicité aiguë (inhibition de la mobilité) vis-à-vis des daphnies du [REDACTED] en suivant le mode opératoire décrit dans la norme ISO 6341 (seconde édition, 1989). Cette norme s'applique aux substances chimiques, aux effluents industriels et urbains, aux eaux de surfaces et souterraines.

5. MÉTHODE D'ESSAI

5.1. Introduction

5.1.1. Principe

Les daphnies sont exposées à la substance d'essai ajoutée à l'eau, dans une série de concentrations donnée, pendant une période de 24 heures et éventuellement 48 heures, sans renouvellement des concentrations d'essai.

Dans des conditions identiques et pour une gamme de concentrations adéquate (définie au moyen d'un essai préliminaire), des concentrations différentes en substance d'essai ont des effets différents sur la capacité de nage des daphnies. En conséquence, en fin d'essai, à chaque concentration correspond un pourcentage différent d'immobilisation des daphnies. Les concentrations initiales provoquant 0 et 100 % d'immobilisation sont déterminées directement par l'observation. La concentration initiale efficace inhibitrice immobilisant en 24 heures 50 % des daphnies mises en expérimentation, désignée $CE(I)_{50}$ - 24 h, est déterminée par calcul. La $CE(I)_{50}$ - 48 h est éventuellement déterminée par la même méthode.

L'étude est conduite en deux étapes :

- un essai préliminaire qui sert à déterminer la gamme des concentrations pour l'essai définitif.
- un essai définitif dont seul le résultat est retenu : $CE(I)_{50}$ - 24 h et éventuellement $CE(I)_{50}$ - 48 h.

Si l'essai préliminaire montre une absence de toxicité sur la gamme de concentration testée, un essai limite à 100 mg/l, ou à la limite de solubilité de la substance si celle-ci est inférieure à 100 mg/l, est réalisé.

Le [REDACTED] étant un mélange de plusieurs substances pouvant évoluer différemment, les résultats sont exprimés par rapport aux concentrations nominales (mg/l) de la préparation, considérées équivalentes aux concentrations initiales.

Les pourcentages d'immobilisation en fonction des concentrations initiales, à 24 et éventuellement 48 heures, sont utilisés pour calculer, à l'aide d'un programme informatique approprié, la $CE(I)_{50}$ (à 24 heures et éventuellement 48 heures). Les intervalles de confiance à 95 % sont, si possible, déterminés par le calcul.

Company Sanitized. Does not contain TSCA CBI

ELF ATOCHEM

Centre d'Application de Levallois

5.1.2. Références

- Norme Internationale ISO 6341, «Qualité des eaux - Détermination de l'inhibition de la mobilité de *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea)», seconde édition du 01/10/89.

5.2. Matériel et produits

5.2.1. Matériel

L'étude a été réalisée dans une salle thermostatée à une température comprise entre 20 et 21 °C.

Les paramètres physico-chimiques ont été mesurés au moyen d'un combiné multifonctions JENWAY 3410 (oxymètre, conductimètre, pHmètre).

Les daphnies (*Daphnia magna* Straus) utilisées proviennent d'un élevage réalisé dans le laboratoire. La sélection d'organismes âgés de moins de 24 heures s'effectue par tamisage (toile à bluter à mailles de 0,56 mm). La composition du milieu d'essai est détaillée en annexe 1.

Les récipients pour essai sont des flacons type pénicilline de capacité nominale 120 ml bouchés par des septa en Teflon sertis par des capsules en aluminium.

5.2.2. Produits et réactifs

- Eau : pour la préparation des solutions mères du milieu d'essai, il est fait usage d'eau ultrapure (ultrafiltration, charbon actif, échange d'ions, filtre 0,22 µm) ; de même, pour la réalisation du milieu d'essai (eau de dilution) les solutions mères sont diluées dans de l'eau ultrapure.

- Les réactifs utilisés pour la préparation de l'eau de dilution (voir annexe 1) sont de qualité "pour analyse".

5.3. Mode opératoire

5.3.1. Préparation des solutions

Une solution de [REDACTED] dans le milieu d'essai à 0,1 g/l est préparée le jour de l'essai.

5.3.2. Essai préliminaire

Des volumes adéquats de la solution mère de [REDACTED] à 0,1 g/l sont versés dans des fioles jaugées de 250 ml et complétés par de l'eau de dilution pour obtenir la gamme de concentrations allant de : 0,1 à 100 mg/l

Company Sanitized. Does not contain TSCA CB

ELF ATOCHEM

Centre d'Application de Levallois

5 daphnies âgées de moins de 24 heures sont ajoutées dans chaque récipient d'essai puis ceux-ci sont placés à l'obscurité dans la salle thermostatée.

Au bout de 24 heures, les daphnies encore mobiles sont dénombrées, les flacons sont replacés à l'obscurité puis un deuxième dénombrement est réalisé 48 heures après le début de l'essai.

Les résultats obtenus servent à définir la gamme de concentration de l'essai définitif.

5.3.3. Essai définitif

On procède à des dilutions de la solution mère dans de l'eau de dilution pour réaliser la gamme de concentrations nécessaire à la réalisation de l'essai définitif. Les différentes concentrations de cette gamme sont données dans les annexes 2 et 3.

4 flacons de 5 daphnies âgées de moins de 24 heures sont préparés pour chaque concentration et pour le témoin.

Au bout de 24 heures, les daphnies encore mobiles sont dénombrées, les récipients sont replacés à l'obscurité puis un deuxième dénombrement est réalisé 48 heures après le début de l'essai.

5.3.4. Contrôle de sensibilité du réactif biologique

Périodiquement, et selon le même mode opératoire, la $CE(I)_{50}$ - 24h du dichromate de potassium est déterminée afin de contrôler la sensibilité des organismes.

6. RÉSULTATS

6.1. Essai définitif

Les résultats obtenus dans l'essai sont rassemblés dans les tableaux en annexe 2 (résultats à 24 heures) et en annexe 3 (résultats à 48 heures). La partie supérieure montre les données brutes obtenues; les concentrations utilisées pour les calculs sont indiquées en dessous. Après linéarisation au moyen de la méthode des Logits, on obtient les résultats suivants :

CE_{50-24h} supérieure à 100 mg/l,

$CE_{50-48h} = 13$ mg/l,

avec un intervalle de confiance à 95 % égal à : 7,3 - 25 mg/l ($r^2 = 0,964$)

Les résultats obtenus sont rassemblés dans les tableaux en annexe 2 (résultats à 24 heures) et en annexe 3 (résultats à 48 heures).

Company Sanitized. Does not contain TSCA CBI

ELF ATOCHEM

Centre d'Application de Levallois

Le pH initial à la concentration la plus élevée était de 7,91. Le tableau ci-dessous donne les résultats des mesures d'O₂ et de pH réalisées aux différentes concentrations :

Concentration nominale (mg/l)	0	0,1	1	5	10	50	100
O ₂ à 48h (mg/l)	7,8	8,0	7,6	7,4	7,6	7,6	7,9
pH à 48 h	8,00	7,99	8,02	8,00	8,01	8,00	7,88

6.2. Critères de Validité de l'étude

6.2.1. Teneur en oxygène

À chaque concentration, la teneur en oxygène dissous, mesurée en fin d'essai, est supérieure ou égale à 2 mg/l.

6.2.2. Immobilisation des témoins

L'immobilisation au bout de 48 heures dans la série témoin est de 5 %. La clause requérant une mortalité inférieure ou égale à 10 % en fin d'essai a donc été respectée.

6.2.3. Sensibilité du réactif biologique

Le dernier contrôle de la sensibilité des daphnies au dichromate de potassium a été réalisé le 8/11/94. La CE(I)₅₀ - 24 h de cette substance de référence, évaluée à 1,1 mg/l, était comprise entre 0,9 mg/l et 2,4 mg/l qui est la gamme acceptable (§ 9.2 de la norme ISO 6341).

7. CONCLUSIONS

L'étude de la toxicité aiguë du [REDACTED] vis-à-vis de la daphnie montre que cette substance présente une CE(I)₅₀ - 24 h supérieure à 100 mg/l et une CE(I)₅₀ - 48 h égale à 14 mg/l.

Company Sanitized. Does not contain TSCA CB

8. ANNEXES

8.1. Annexe 1 : Milieu d'essai.

L'eau de dilution (ou milieu d'essai) est préparée de la façon décrite dans la norme ISO 6341 :

- les solutions mères suivantes sont préparées :

11,76 g de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ par litre d'eau ultrapure,
4,93 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ par litre d'eau ultrapure,
2,59 g de NaHCO_3 par litre d'eau ultrapure,
0,23 g de KCl par litre d'eau ultrapure.

- l'eau de dilution est obtenue à partir de 25 ml de chacune de ces solutions par litre d'eau, puis aération jusqu'à saturation en oxygène.

Company Sanitized. Does not contain TSCA CB

8.2. Annexe 2 : Concentrations utilisées et résultats des calculs à 24 heures

TOXICITÉ AIGUË VIS-À-VIS DES DAPHNIES

Substance d'essai : XXXXXXXXXX

Numéro d'étude :

Essai définitif, 24 heures

Nombre de daphnies par concentration : 20

mg/l subst.	% IMMO	Nombre de daphnies mobiles				total
		Réipient 1	Réipient 2	Réipient 3	Réipient 4	
100	40	3	3	2	4	12
50	30	4	3	3	4	14
10	10	4	4	5	5	18
5	15	4	3	5	5	17
1	5	5	5	5	4	19
0,1	0	5	5	5	5	20
	100					0
	100					0
	100					0
	100					0
	100					0
0 (témoin)	5	5	5	4	5	19
0 (solvant)	100					0

Company Sanitized. Does not contain TSCA CB1

8.3. Annexe 3 : Concentrations utilisées et résultats des calculs à 48 heures

TOXICITÉ AIGUË VIS-À-VIS DES DAPHNIES

Substance d'essai : XXXXXXXXXX

Numéro d'étude : XXXXXXXXXX

Essai définitif, 48 heures

Nombre de daphnies par concentration : 20

mg/l subst.	% IMMO	Nombre de daphnies mobiles				total
		Récipient 1	Récipient 2	Récipient 3	Récipient 4	
100	90	2	0	0	0	2
50	65	2	1	2	2	7
10	45	2	3	4	2	11
5	30	2	3	4	5	14
1	10	4	5	5	4	18
0,1	0	5	5	5	5	20
	100					0
	100					0
	100					0
	100					0
	100					0
0 (témoin)	5	5	5	5	4	19
0 (solvant)	100					0

CE50 =	13	mg/l
CE50 >	7,3	mg/l
CE50 <	25	mg/l
r2 =	0,972	

Données utilisées pour
le calcul

#N/A : valeur non disponible.

#NOMBRE! : valeur indéterminée.

concentration	% IMMO	Proportion immobilisée	LOGIT y	log conc. x
100	90	0,90	2,197	2,000
50	65	0,65	0,619	1,699
10	45	0,45	-0,201	1,000
5	30	0,30	-0,847	0,699
1	10	0,10	-2,197	0,000
0,1	0	0,03	-3,664	-1,000
		#N/A	#N/A	#NOMBRE!
		#N/A	#N/A	#NOMBRE!
		#N/A	#N/A	#NOMBRE!
		#N/A	#N/A	#NOMBRE!
nb valeurs		Somme	-4,092	4,398
6		Moyenne	-0,682	0,733

Company Sanitized. Does not contain TSCA CB

