

RELATÓRIO DE ENSAIO: 252432/2023 - A - 3.0 - E L
Proposta Comercial 4230/2022-38

DADOS REFERENTES AO CLIENTE	
Empresa Solicitante:	COMPANHIA CATARINENSE DE AGUAS E SANEAMENTO CASAN
Endereço:	Rua Emilio Blum, 83, Centro - Florianópolis/SC - CEP: 88.020-010
Nome do Solicitante:	Envio de Relatórios CASAN
Dados para contato:	lagoadaconceicao@casan.com.br

DADOS REFERENTES À AMOSTRA	
Identificação do ponto: C3 - ÁGUA S	
ID do Projeto: -	Referência Oceanus: 2684118
Matriz: Água Salobra	Data da amostragem: 30/11/2023 07:33
Data de emissão do R.E.: 26/12/2023	Data de recebimento: 01/12/2023
Coletor: Everaldo Taube (Oceanus - RS)	Temperatura de recebimento (°C): <5
Tipo de Coleta: Simples	

Ensaio de Toxicidade crônica com <i>Echinometra lucunter</i>
Início dos Ensaio: 06/12/2023
Final dos Ensaio: 08/12/2023

RASTREABILIDADE ANALÍTICA

DADOS DA AMOSTRA
Salinidade Integral por NaCl da amostra: 15 ppt
pH da amostra integral: 7,2
OD da amostra integral: 5,4 mg/L
Características gerais da amostra: Nada a declarar

CONDIÇÕES DE ENSAIO
Organismo-teste: <i>Echinometra lucunter</i> (Echinodermata, Echinoidea), ovos fecundados em laboratório, utilizados 2 horas após a fecundação.
Local de coleta dos organismos adultos: Mangaratiba - RJ
Número de réplicas por concentração: 4,0
Número de ovos por réplica: 300
Renovação do meio: sem renovação (ensaio estático)
Preservação da amostra: Congelada abaixo de -10 °C
Preparo da amostra: A amostra integral foi diluída para o preparo das soluções-teste utilizadas no ensaio ecotoxicológico.
Água de diluição: água marinha natural - Lote: 2023
Temperatura da água: 22,4°C
Temperatura mínima/máxima da sala de ensaio: 23,1°C/26,4°C
Fotoperíodo: 16 horas de luz e 8 horas escuro.
Duração do ensaio: 42 horas
Análises estatísticas do ensaio: Análise de variância (ANOVA); post-hoc teste de Tukey (HSD).
Análises estatísticas do ensaio de sensibilidade: Interpolação Linear
Resultado da sensibilidade no período de ensaio: 0,1334 mg ZnSO ₄ /L (I.C.: 0,126 a 0,1412 mg ZnSO ₄ /L).
Faixa da carta-controle de sensibilidade: 0,1344 mg ZnSO ₄ /L (I.C.: 0,129 a 0,1398 mg ZnSO ₄ /L).

DADOS FÍSICO-QUÍMICOS DO ENSAIO												
Concentração (%)	pH		Salinidade (ppt)		O.D. (mg/L)		Temperatura (°C)		Nitrogênio Amoniacal (mg/L)		Amônia não Ionizada (mg/L)	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	7,8	7,26	34,0	35,0	5,6	5,2	24,4	25,0	0,018	0,04	0,0	0,0

1,56	7,22	7,2	35,0	35,0	5,44	5,4	-	-	-	-	-	-
100,0	7,2	7,16	15,0	15,0	5,4	5,2	25,5	25,5	0,009	0,028	0,0	0,0

Nota: Valores de amônia não-ionizada acima do limite de 0,11mg/L podem causar efeitos tóxicos sobre o desenvolvimento embrionário do organismo, segundo a metodologia de referência (ABNT, 2012).

EFEITO TÓXICO

Este ensaio tem como objetivo determinar a toxicidade crônica da amostra para embriões de ouriço do mar (*Echinometra lucunter*), com base no grau de desenvolvimento embrio-larval e/ou anomalias em ovos e larvas. Após o período de 36 a 42 horas, os ovos recém-fecundados devem se desenvolver até o estágio de pluteus, a menos que a amostra exerça efeitos tóxicos durante este período de exposição. Os gametas masculinos e femininos foram obtidos através de injeção de solução de cloreto de potássio 0,5 M na região perioral dos organismos adultos, conforme metodologia descrita em ABNT NBR 15350. A fecundação foi feita in vitro e os embriões obtidos foram utilizados 2 horas após a fecundação. As soluções-teste foram transferidas para os frascos teste em alíquotas de 10 mL, sendo preparadas quatro réplicas para cada concentração e nove para o controle com água de diluição. Réplicas extra de algumas concentrações, com 20 mL de solução, foram preparadas para realização das análises físico-químicas no final do ensaio. Com um micropipetador, um volume equivalente a 300 ovos foi transferido para cada tubo de ensaio. Após 36 horas de incubação, um dos tubos do controle foi retirado e o estágio de desenvolvimento de 100 embriões foi avaliado. Se após esse período, o controle não apresentar no máximo 80% de organismos no estágio de pluteus normal, analisar nova réplica do controle após 1 h, e assim por diante, no prazo máximo de 42 h. O ensaio foi encerrado após o período em que foi obtido o limite recomendado de mais de 80% dos embriões em estágio de pluteus bem desenvolvidos. O conteúdo de cada réplica foi preservado com 1 gota de lugol. Uma sub-amostra de cada réplica foi analisada ao microscópio em câmara de Sedgewick-Rafter, verificando o estágio de desenvolvimento e a ocorrência de anomalias nos 100 primeiros organismos encontrados. Foi calculada a porcentagem de pluteus normais e anormais em cada réplica e concentração.

Concentração (%)	Réplica	Número final de organismos por réplica		Pluteus Normais (%)	Efeito (%)
		Pluteus Normais	Pluteus Anormais		
Controle	1	85,0	15,0	82,75	17,25
	2	81,0	19,0		
	3	88,0	12,0		
	4	77,0	23,0		
100	1	0,0	100,0	0,0	100,0
	2	0,0	100,0		
	3	0,0	100,0		
	4	0,0	100,0		
50	1	0,0	100,0	0,0	100,0
	2	0,0	100,0		
	3	0,0	100,0		
	4	0,0	100,0		
25	1	29,0	71,0	29,25	70,75
	2	32,0	68,0		
	3	30,0	70,0		
	4	26,0	74,0		
12,5	1	53,0	47,0	48,75	51,25
	2	47,0	53,0		
	3	49,0	51,0		
	4	46,0	54,0		
6,25	1	68,0	32,0	62,25	37,75
	2	60,0	40,0		
	3	62,0	38,0		
	4	59,0	41,0		
3,12	1	86,0	14,0	81,5	18,5

	2	82,0	18,0		
	3	78,0	22,0		
	4	80,0	20,0		
1,56	1	81,0	19,0	81,75	18,25
	2	82,0	18,0		
	3	79,0	21,0		
	4	85,0	15,0		

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Analysis of Variance (One-Way)

Descriptive Statistics

Groups	Sample size	Sum	Mean	Variance
1,56	4	327,0000	81,7500	6,2500
3,12	4	326,0000	81,5000	11,6667
6,25	4	249,0000	62,2500	16,2500
12,5	4	195,0000	48,7500	9,5833
25	4	117,0000	29,2500	6,2500
50	4	0,0000	0,0000	0,0000
100	4	0,0000	0,0000	0,0000
Controle	4	331,0000	82,7500	22,9167
Total	32		48,2813	1.120,7893

ANOVA

Source of Variation	d.f.	SS	MS	F	p-value	F crit	Omega Sqr.
Between Groups	7	34.525,7188	4.932,2455	541,1378	0,0000	5,2349	0,9916
Within Groups	24	218,7500	9,1146				
Total	31	34.744,4688					
Residual standard error	3,0190						
Hartley Fmax (d.f. = 8, 3)	#N/A						
Cochran C (d.f. = 8, 3)	0,3143						
Bartlett Chi-square (d.f. = 7)	#N/A p-value		#N/A				

Comparisons among groups (Factor 1 - Factor #1)

Tukey HSD

Groups	Difference	Test Statistic	p-value	Significant
1,56 vs Controle	-1,0000	0,6625	0,9997	No
3,12 vs Controle	-1,2500	0,8281	0,9988	No
6,25 vs Controle	-20,5000	13,5805	0,0001	Yes
12,5 vs Controle	-34,0000	22,5237	0,0001	Yes
25 vs Controle	-53,5000	35,4418	0,0001	Yes
50 vs Controle	-82,7500	54,8188	0,0001	Yes
100 vs Controle	-82,7500	54,8188	0,0001	Yes

Alpha (significance level) 0,0010

Probit Analysis - Finney Method [Lognormal Distribution]

Log10[Dose (Stimulus)]	Actual Percent (%)	Probit Percent (%)	N	R	E(R)	Difference	Chi-square
0,1931	0,1800	0,0930	100	18,0000	9,2978	8,7022	8,1448
0,4942	0,1900	0,2165	100	19,0000	21,6531	-2,6531	0,3251
0,7959	0,3800	0,4036	100	38,0000	40,3600	-2,3600	0,1380
1,0969	0,5100	0,6159	100	51,0000	61,5864	-10,5864	1,8198
1,3979	0,7100	0,7977	100	71,0000	79,7666	-8,7666	0,9635
1,6990	0,9975	0,9150	100	99,7500	91,4967	8,2533	0,7445
2,0000	0,9975	0,9720	100	99,7500	97,1977	2,5523	0,0670

Chi-square

Chi-square 12,2027
Degrees of Freedom 5
p-value 0,0321

Dose (Stimulus) Percentile #1

Percentile	Probit (Y)	Log10[Dose (Stimulus)]	Standard Error	Dose (Stimulus)	Standard Error	LCL	UCL
1	2,6732	-0,3680	0,2779	0,4285	0,2934	0,0434	1,1657
5	3,3548	0,0129	0,2093	1,0301	0,5158	0,1876	2,2351
10	3,7183	0,2160	0,1744	1,6443	0,6780	0,4055	3,1952
16	4,0056	0,3765	0,1484	2,3798	0,8289	0,7386	4,2781
20	4,1585	0,4620	0,1354	2,8975	0,9180	1,0111	5,0234
25	4,3258	0,5555	0,1222	3,5933	1,0247	1,4170	6,0234
30	4,4760	0,6394	0,1116	4,3594	1,1324	1,9051	7,1398
40	4,7471	0,7909	0,0964	6,1789	1,3832	3,1735	9,9400
50	5,0000	0,9323	0,0889	8,5557	1,7645	4,9116	14,0794
60	5,2529	1,0736	0,0896	11,8469	2,4609	7,2449	20,9241
70	5,5240	1,2251	0,0990	16,7914	3,8629	10,4314	33,7017
75	5,6742	1,3090	0,1074	20,3712	5,0909	12,5310	44,7110
80	5,8415	1,4025	0,1187	25,2633	6,9921	15,1948	61,9623
84	5,9944	1,4880	0,1304	30,7590	9,3739	17,9789	84,1796
90	6,2817	1,6485	0,1547	44,5172	16,1991	24,3082	151,8508
95	6,6452	1,8517	0,1884	71,0647	31,8079	35,0017	325,7924
99	7,3268	2,2325	0,2560	170,8200	106,6155	67,5563	1.399,3009

Regression Statistics

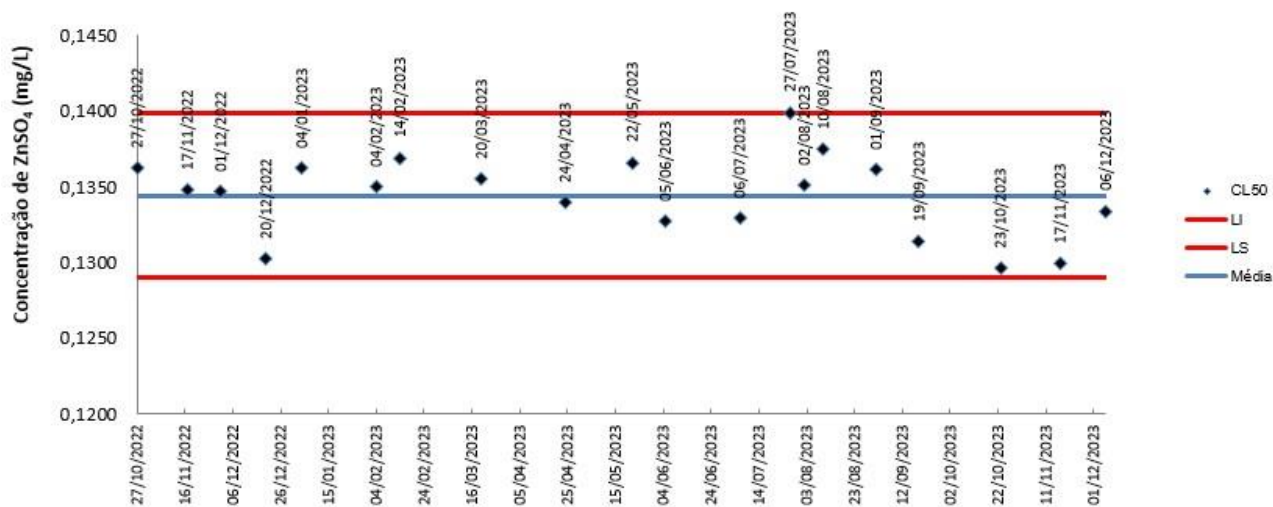
LD50 8,5557 LD50 Standard Error 1,7645
LD50 LCL 4,9116 LD50 UCL 14,0794
Log10[LD50] 0,9323 Standard Error 0,0889
Beta 1,7894 Intercept 3,3318
Beta Standard Error 0,2875

CONTROLE DE QUALIDADE ANALÍTICO

Carta Controle de Sensibilidade ao ZnSO₄

Echinometra lucunter

CV = 2,01%



RESULTADOS ANALÍTICOS DA AMOSTRA

Parâmetros	Unidade	Resultados
CENO(I)	%	3,12
CEO(I)	%	6,25
VC	%	4,42
CL ₅₀ (I)	%	8,5557 (4,9116 - 14,0794)

Legenda:

*Provedor Externo

USEPA = United States Environment Protection Agency

ID = Identificação

LCS = Laboratory Control Sample

LD = Limite de Detecção

LQ = Limite de Quantificação do método

NA = Não Aplicável

NA(50) = Não aplicável, pois a maior concentração testada não causou efeito à 50% dos organismos nas condições de ensaio

ND = Não Detectável

NC = Não Calculável

NMP = Número Mais Provável

NO = Não Objetável

PAH = Polycyclic Aromatic Hydrocarbon

PCB = Polychlorinated Biphenyls

POC = Pesticidas Organoclorados

POF = Pesticidas Organofosforados

SMWW = Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater - 23rd Edition - 2017

TPH = Total Petroleum Hydrocarbons

UFC = Unidades Formadoras de Colônia

VMP = Valor Máximo Permitido

VOC = Volatile Organic Compound

SVOC = Semi-volatile Organic Compound

NIOSH = National Institute for Occupational Safety and Health

OSHA = Occupational Safety and Health Administration

ACGIH = American Conference of Governmental Industrial Hygienists

NR 15 = Norma Regulamentadora n° 15, aprovada pela Portaria 3214, de 08 de junho de 1978 – Ministério do Trabalho e Emprego

CE(I)50 = Concentração nominal ou real da amostra que causa efeito agudo a 50% dos organismos no tempo de exposição, nas condições do ensaio

Clp(I)50% = Concentração que causa efeito a 50% dos organismos em 36h de exposição nas condições de ensaio

CL50 = Concentração da amostra nominal que causa efeito na sobrevivência de 50% dos organismos teste, nas condições de ensaio

FT (Fator de Toxicidade) = Maior concentração da amostra na qual não se observa efeito ao organismo-teste, nas condições estabelecidas pelo método de ensaio utilizado

OD = Oxigênio dissolvido

CENO (I) = Maior concentração nominal da amostra que não causa efeito deletério estatisticamente significativo no desenvolvimento embriolarval, sobrevivência ou reprodução dos organismos nas condições do ensaio

CEO (I) = Menor concentração nominal da amostra que causa efeito deletério estatisticamente significativo no desenvolvimento embriolarval, sobrevivência ou reprodução dos organismos nas condições de ensaio

VC = Média geométrica da CENO (I) e CEO (I)

*J = Resultados estimados que estão expressos entre LD e LQ

Observações gerais

Os parâmetros vide legislação ou norma não são contemplados na interpretação dos resultados.

As análises foram realizadas na unidade Rio de Janeiro de CNPJ 28.383.198/0001-59.

As opiniões e interpretações, quando expressas no relatório, não fazem parte do escopo de acreditação deste laboratório.

Código de Autenticidade

Chave para validação da autenticidade deste documento: 38b42e6d026f87f1c630cb1dee47df88

Para verificar a autenticidade deste relatório acesse o portal: <https://portal.mylimsweb.com/>

Abrangência

O(s) resultado(s) apresentados possui(em) significação restrita e se aplica tão somente à(s) amostra(s) analisada(s).

Este Relatório de Ensaio só pode ser reproduzido por inteiro e sem nenhuma alteração. Reprodução parcial somente com prévia autorização.

Quando a amostragem é de responsabilidade do Cliente, qualquer desvio identificado na etapa de conferência é previamente informado ao cliente para a aprovação e continuidade do processo. Neste caso, a validade dos resultados dos ensaios pode ser afetada.

As amostras são processadas conforme entregues pelo cliente.

RELATÓRIO DE ENSAIO: 252432/2023-3.0

PÁGINA 6 de 9

Data de realização das análises

No caso da amostragem ter sido realizada pela Oceanus, todas as análises são executadas dentro do prazo de validade estabelecido pelo Standard Methods e/ou outra norma aplicável em sua última revisão.

Plano de Amostragem

Plano de Amostragem 58294/2023. Procedimento HQ-POP-081 (Coleta, Preservação, Transporte, Armazenamento e Recebimento de Amostras).

Prazo de Retenção da(s) amostra(s)

A(s) amostra(s) tem um prazo de guarda de 10 dias corridos após a emissão do Relatório de Ensaio, exceto para a(s) amostra(s) perecível(is) – descarte imediato.

Parâmetros, Norma e/ou Procedimento

Toxicidade Crônica - *Echinometra lucunter*: ABNT NBR 15469 / ABNT NBR 15350

RESPONSÁVEIS

Relatório emitido por: Milena de Melo Cardoso

Relatório revisado por: Fabiana Vasconcelos Kirsten

Responsável técnico:



Edson Felipe Souza Ladeira, B.Sc.
Gerente Técnico
CRQ nº03155685 – 3ª Região



Ronaldo Leão Guimarães
Gerente Técnico
CRBio nº02339/85

LISTA DE VERIFICAÇÃO DE RECEBIMENTO DE AMOSTRAS

N° da Amostra: 252432/2023-3.0

Cliente: COMPANHIA CATARINENSE DE AGUAS E SANEAMENTO CASAN	
Data de recebimento: 01/12/2023	
Código: 2684118	Identificação da Amostra: C3 - ÁGUA S

Amostra acondicionada adequadamente?	Sim
A caixa térmica e os frascos estão íntegros?	Sim
Os rótulos e cadeia de custódia identificam as amostras?	Sim
Termômetro utilizado	TI-011
Os frascos de VOC/BTEX estavam isentos de bolhas?	Não
Há quantidade de amostra suficiente para todas as análises?	Sim
Todos os parâmetros estão dentro do prazo de validade (holding time)?	Sim

As irregularidades de recebimento foram notificadas? Notificação enviada para: _____ Data: _____

Comentários:

Responsável pelo recebimento: Yuri Garcia

Oceanus Centro de Biologia Experimental										PRAZO		GRUPO		PROPOSTA N°		DATA DA AMOSTRAGEM	
Rua Aristides Lobo nº30 - Rio Comprido - RJ CEP: 20.250-450 Tel: (21) 3293-7000 / 2567-0816 / 2567-3871. Site: www.oceanus.bio.br / www.netbiogeo.com.br										<input type="checkbox"/> RUSH <input checked="" type="checkbox"/> NORMAL		S8294		4230/2022		30/01/23	
DADOS DO PROJETO				RESPONSÁVEIS PELA AMOSTRAGEM				CAMPO				PARAMETROS					
Cliente: CASAN Endereço: Lagoa da Conceição - Florianópolis, SC Cidade: Porto Alegre Responsável pela Solicitação: Priscila Objetivo/Legislação: Monitoramento e Avaliação do PRAD da Lagoa da Conceição				Supervisor: Giselle Kimecki Coletores: Everaldo Taube Transportador: Oceanus Placa Veículo:				Contundidade Umidade Oxigênio Dissolvido (ppm/L) pH Salinidade (PSU) Temperatura água (°C)				Fluxometro Leituras Inicial Leituras Final Matéria orgânica P e N Bactérias Gramonegativas Fito e Zooplâncton E.coli e Enterococos NITRÓGENO (NO ₃ -N, NO ₂ -N, NH ₄ ⁺ -N) FOSFÓRICO (PO ₄ -P, PO ₃ -P) ECOSISTEMA					
INFORMAÇÕES DA AMOSTRA				INFORMAÇÕES DE CAMPO													
Código	POSTO DE AMOSTRAGEM / IDENTIFICAÇÃO DA	Item	N° de Frascos	Tipo da Amostra	Tipo de Coleta	HORA	Coordenadas										
2684143	C2 - Sedimento	14	2	8	S												
2684144	C2 - Sedimento	14	1	8	S												
2684145	C2 - Sedimento	14	1	8	S		27°36'13,7	48°27'22,0									
2684082	C2 - Água S	1	3	2	S												
2684162	C3 - Sedimento	16	3	8	S	07:39											
2684163	C3 - Sedimento	16	1	8	S	07:39											
2684164	C3 - Sedimento	16	1	8	S	07:39											
2684116	C3 - Água S	8	11	2	S	07:33	27°36'08,7	48°27'05,8	24,3	7,05	7,95	14,4	27,6	67,771	67,914		
2684117	C3 - Água S	8	1	2	S	07:33											
2684118	C3 - Água S	8	3	2	S	07:33											
2684119	C3 - Água F	8	9	3	S	07:36			25,7	6,70	7,93	15,2	23,5				
2684159	C4 - Sedimento	16	3	8	S												
2684160	C4 - Sedimento	16	1	8	S												
2684161	C4 - Sedimento	16	1	8	S		27°36'13,1	48°26'23,8									
2684125	C4 - Água S	10	3	2	S												
2684180	D1 - Sedimento	16	3	8	S												
2684181	D1 - Sedimento	16	1	8	S												
2684182	D1 - Sedimento	16	1	8	S		27°36'23,8	48°27'33,0									
2684124	D1 - Água S	10	3	2	S												
CONTROLE DE QUALIDADE EM CAMPO																	
Código: _____ PUNTO DE AMOSTRAGEM / IDENTIFICAÇÃO DA: _____ Item: _____ N° de Frascos: _____ Tipo da Amostra: _____ Tipo de Coleta: _____ HORA: _____ Coordenadas: _____																	
CENTRO DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL OCEANUS LTDA. CNPJ: 28.383.198/0006-63 Recebido Dia/hora: 07/12/23 às 09:30 Por: VMS																	
INFORMAÇÕES DE GARANTIA DE QUALIDADE																	
Água reagente: Proposta 1050/2017 Qualidade dos reagentes utilizados: HQ-ANE-171-Registro de Preparo de Soluções - Diversas Métodos analíticos utilizados para os branços: HQ-ANE-006-Proposta comercial Métodos analíticos utilizados para as amostras: HQ-ANE-006-Proposta comercial Armazenamento e preservação das amostras: HQ-POP-081-Recebimento cadastro; armazenamento e descarte das amostras.																	
TIPO DE AMOSTRA: 1-Água Tratada 6-Resíduo 2-Água Bruta Superficial 7-Efluente 3-Água Bruta Profundidade 8-Sedimento 4-Água Subterrânea 9-Solo 5-Água de Reuso 10-Reagente 11-Corpo																	
PREENCHIMENTO OBRIGATORIO TEL.: 3293-7000 COLETA COMPOSTA? Total de Horas: Intervalo: Temperatura Ambiente: 22°C USO EXCLUSIVO DO GRUPO OCEANUS																	
Nome (Legível): _____ Recebido por: _____ Ass: _____ Ass: _____ Data: _____ Hora: _____ Tel: _____ Temperatura de Recebimento: _____ °C																	
EQUIPAMENTOS UTILIZADOS TAG: N/A - 049																	