

**RELATÓRIO DE ENSAIO: 229556/2023 - A - 3.0 - E L**  
Proposta Comercial 4230/2022-34

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 - 27°36'06,7 48°27'06,6	
ID do Projeto: Não Informado	Referência Oceanus: 2660717
Matriz: Água Salobra	Data da amostragem: 31/10/2023 12:25
Data de emissão do R.E.: 30/11/2023	Data de recebimento: 01/11/2023
Coletor: Everaldo Taube (Oceanus - RS)	Temperatura de recebimento (°C): <5
Tipo de Coleta: Simples	

Ensaio de Toxicidade crônica com <i>Echinometra lucunter</i>
<b>Início dos Ensaio:</b> 17/11/2023
<b>Final dos Ensaio:</b> 19/11/2023

**RASTREABILIDADE ANALÍTICA**

DADOS DA AMOSTRA
<b>Salinidade Integral por NaCl da amostra:</b> 15 ppt
<b>pH da amostra integral:</b> 7,93
<b>OD da amostra integral:</b> 5,17 mg/L
<b>Características gerais da amostra:</b> Nada a declarar

CONDIÇÕES DE ENSAIO
<b>Organismo-teste:</b> <i>Echinometra lucunter</i> (Echinodermata, Echinoidea), ovos fecundados em laboratório, utilizados 2 horas após a fecundação.
<b>Local de coleta dos organismos adultos:</b> Mangaratiba - RJ
<b>Número de réplicas por concentração:</b> 4,0
<b>Número de ovos por réplica:</b> 300
<b>Renovação do meio:</b> sem renovação (ensaio estático)
<b>Preservação da amostra:</b> Congelada abaixo de -10 °C
<b>Preparo da amostra:</b> A amostra integral foi diluída para o preparo das soluções-teste utilizadas no ensaio ecotoxicológico.
<b>Água de diluição:</b> água marinha natural - Lote: 2023.93.TOX.D10
<b>Temperatura da água:</b> 22,4°C °C
<b>Temperatura mínima/máxima da sala de ensaio:</b> 23,4°C/26,5°C
<b>Fotoperíodo:</b> 16 horas de luz e 8 horas escuro.
<b>Duração do ensaio:</b> 42 horas
<b>Análises estatísticas do ensaio:</b> Análise de variância (ANOVA); post-hoc teste de Tukey (HSD).
<b>Análises estatísticas do ensaio de sensibilidade:</b> Interpolação Linear
<b>Resultado da sensibilidade no período de ensaio:</b> 0,1299 mg ZnSO <sub>4</sub> /L (I.C.: 0,1226 a 0,1377 mg ZnSO <sub>4</sub> /L).
<b>Faixa da carta-controle de sensibilidade:</b> 0,1344 mg ZnSO <sub>4</sub> /L (I.C.: 0,1288 a 0,1399 mg ZnSO <sub>4</sub> /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	7,81	7,42	35,0	35,0	5,5	5,8	22,4	25,5	0,042	0,113	0,0	0,0

1,56	8,13	8,1	35,0	36,0	5,7	5,0	-	-	-	-	-	-
100,0	7,93	7,66	15,0	15,0	5,17	5,1	22,0	25,5	0,41	0,107	0,01	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	88,0	12,0	87,25	12,75
	2	87,0	13,0		
	3	89,0	11,0		
	4	85,0	15,0		
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	4,0	96,0	5,5	94,5
	2	5,0	95,0		
	3	6,0	94,0		
	4	7,0	93,0		
25	1	42,0	58,0	43,5	56,5
	2	41,0	59,0		
	3	45,0	55,0		
	4	46,0	54,0		
12,5	1	65,0	35,0	63,0	37,0
	2	61,0	39,0		
	3	67,0	33,0		
	4	59,0	41,0		
6,25	1	81,0	19,0	83,75	16,25
	2	82,0	18,0		
	3	84,0	16,0		
	4	88,0	12,0		
3,12	1	86,0	14,0	84,25	15,75

	2	80,0	20,0		
	3	88,0	12,0		
	4	83,0	17,0		
1,56	1	79,0	21,0	82,5	17,5
	2	80,0	20,0		
	3	89,0	11,0		
	4	82,0	18,0		

## ANÁLISE ESTATÍSTICA

### Analysis of Variance (One-Way)

#### Descriptive Statistics

Groups	Sample size	Sum	Mean	Variance
1,56	4	330,0000	82,5000	20,3333
3,12	4	337,0000	84,2500	12,2500
6,25	4	335,0000	83,7500	9,5833
12,5	4	252,0000	63,0000	13,3333
25	4	174,0000	43,5000	5,6667
50	4	22,0000	5,5000	1,6667
100	4	0,0000	0,0000	0,0000
Controle	4	349,0000	87,2500	2,9167
<b>Total</b>	<b>32</b>		<b>56,2188</b>	<b>1.185,4667</b>

#### ANOVA

Source of Variation	d.f.	SS	MS	F	p-value	F crit	Omega Sqr.
Between Groups	7	36.552,2188	5.221,7455	635,3455	0,0000	5,2349	0,9928
Within Groups	24	197,2500	8,2188				
<b>Total</b>	<b>31</b>	<b>36.749,4688</b>					

Residual standard error	2,8668
Hartley Fmax (d.f. = 8, 3)	#N/A
Cochran C (d.f. = 8, 3)	0,3093
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	-4,7500	3,3138	0,3123	No
3,12 vs Controle	-3,0000	2,0929	0,8103	No
6,25 vs Controle	-3,5000	2,4417	0,6712	No
12,5 vs Controle	-24,2500	16,9176	0,0001	Yes
25 vs Controle	-43,7500	30,5215	0,0001	Yes
50 vs Controle	-81,7500	57,0315	0,0001	Yes
100 vs Controle	-87,2500	60,8685	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	0,0586	100	18,0000	5,8574	12,1426	25,1717
0,4942	0,1600	0,1462	100	16,0000	14,6232	1,3768	0,1296
0,7959	0,1600	0,2955	100	16,0000	29,5487	-13,5487	6,2124
1,0969	0,3700	0,4907	100	37,0000	49,0704	-12,0704	2,9691
1,3979	0,5700	0,6882	100	57,0000	68,8222	-11,8222	2,0308
1,6990	0,9500	0,8425	100	95,0000	84,2536	10,7464	1,3707
2,0000	0,9975	0,9356	100	99,7500	93,5626	6,1874	0,4092

**Chi-square**

Chi-square	38,2934
Degrees of Freedom	5
p-value	0,0000

**Dose (Stimulus) Percentile #1**

Percentile	Probit (Y)	Log10[Dose (Stimulus)]	Standard Error	Dose (Stimulus)	Standard Error	LCL	UCL
1	2,6732	-0,2518	0,4969	0,5600	0,7900	0,0056	2,0266
5	3,3548	0,1472	0,3656	1,4036	1,3261	0,0501	3,7982
10	3,7183	0,3601	0,2987	2,2913	1,7029	0,1575	5,4093
16	4,0056	0,5283	0,2489	3,3752	2,0416	0,3827	7,2851
20	4,1585	0,6179	0,2241	4,1482	2,2373	0,6073	8,6283
25	4,3258	0,7158	0,1993	5,1976	2,4695	0,9935	10,5154
30	4,4760	0,8037	0,1796	6,3641	2,7077	1,5214	12,7589
40	4,7471	0,9625	0,1537	9,1719	3,3136	3,1028	19,1404
50	5,0000	1,1106	0,1453	12,8990	4,3977	5,4924	30,6966
60	5,2529	1,2587	0,1550	18,1407	6,6106	8,7423	54,7500
70	5,5240	1,4174	0,1819	26,1440	11,2711	13,0389	112,3082
75	5,6742	1,5053	0,2019	32,0118	15,4232	15,7871	172,3554
80	5,8415	1,6032	0,2270	40,1096	21,9374	19,2072	282,4474
84	5,9944	1,6928	0,2519	49,2962	30,2295	22,7232	448,7275
90	6,2817	1,8610	0,3020	72,6170	54,6638	30,5616	1.091,4751
95	6,6452	2,0739	0,3691	118,5404	113,3099	43,4820	3.436,3121
99	7,3268	2,4729	0,5006	297,1285	423,5115	81,4257	30.531,1142

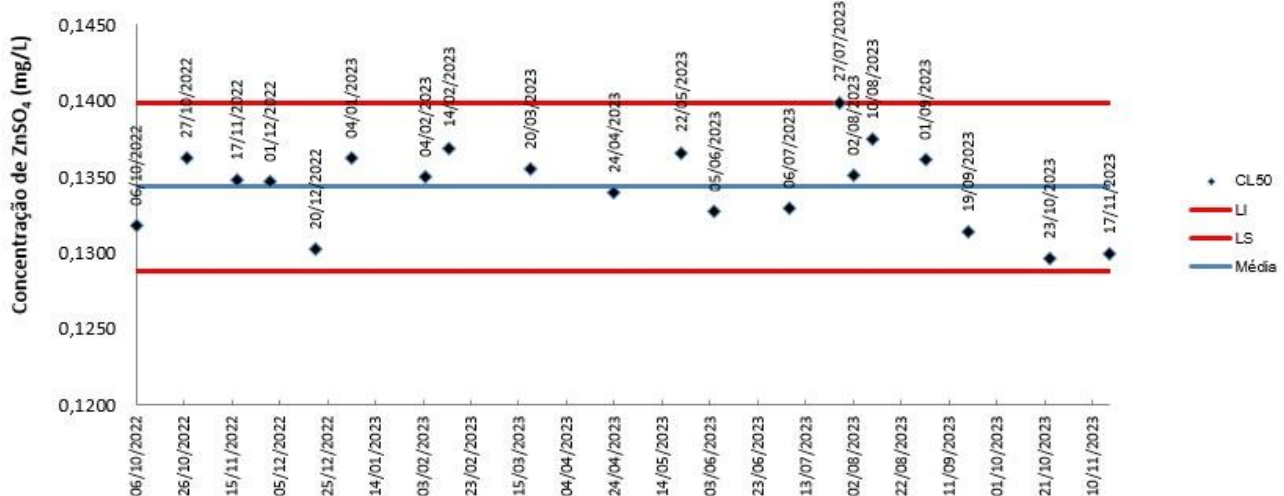
**Regression Statistics**

LD50	12,8990	LD50 Standard Error	4,3977
LD50 LCL	5,4924	LD50 UCL	30,6966
Log10[LD50]	1,1106	Standard Error	0,1453
Beta	1,7079	Intercept	3,1033
Beta Standard Error	0,3909		

**CONTROLE DE QUALIDADE ANALÍTICO**

**Carta Controle de Sensibilidade ao ZnSO<sub>4</sub>**  
*Echinometra lucunter*

CV = 2,05%



**RESULTADOS ANALÍTICOS DA AMOSTRA**

Parâmetros	Unidade	Resultados
CENO(I)	%	6,25
CEO(I)	%	12,5
VC	%	8,84
CL <sub>50</sub> (I)	%	12,89 ( 5,4924 - 30,6966 )

**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: 0497a0623278c76a4adb2bb0334cf944

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.



#### 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 52608/2023. 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: 229556/2023-3.0

Cliente: COMPANHIA CATARINENSE DE AGUAS E SANEAMENTO CASAN	
Data de recebimento: 01/11/2023	
Código: 2660717	Identificação da Amostra: C3 - ÁGUA S - 27°36'06,7 48°27'06,6

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 se aplica
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: Romulo Saldanha
---



Oceanus Centro de Biologia Experimental										PRAZO										GRUPO:										PROPOSTA N°										DATA DA AMOSTRAGEM									
Rua Aristides Lobo, 48 - Rio Comprido - RJ CEP: 20.250-450 Tel: (21) 3293-7000 / 2567-0819 / 2567-3871. Site: www.oceanus.bio.br / www.hidroquimica.com.br										<input type="checkbox"/> RUSH <input checked="" type="checkbox"/> NORMAL										52608										4230/2022										31/10/23									
DADOS DO PROJETO										RESPONSÁVEIS PELA AMOSTRAGEM										CAMPO										LABORATÓRIO																			
Cliente: CASAN										Supervisor: Gisele Kimecki										Condutividade										Unidade																			
Endereço: Lagoa da Conceição - Florianópolis, SC										Coletores: Everaldo Taube										Oxigênio Dissolvido (mg/L)										pH																			
Cidade: Porto Alegre										Transportador: Oceanus										Salinidade (PSU)										Temperatura água																			
Responsável pela Solicitação: Priscila										Placa Veículo:										Fluxmetro										Leitura Inicial																			
Objetivo/Legislação: Monitoramento e Avaliação do PRAD da Lagoa da Conceição																				Leitura Final										Materiais orgânicos, Fe																			
INFORMAÇÕES DA AMOSTRA										INFORMAÇÕES DE CAMPO										Fluxmetro										Materiais orgânicos, Fe																			
Código	PONTO DE AMOSTRAGEM / IDENTIFICAÇÃO DA	Item	N° de Frascos	Tempo de Amostragem	Tempo de Coleta	HORA	Coordenadas		Condutividade	Unidade	Oxigênio Dissolvido (mg/L)	pH	Salinidade (PSU)	Temperatura água	Leitura Inicial	Leitura Final	Materiais orgânicos, Fe	Bioss	Overhaul	Fluó. ZOOPLANKTON	E.coli e Enterococos	NT (Nº) NOD (Nº) P (Nº) P (Nº) COT (Nº) Plankton (Nº) MANS	Ecotoxicidade																										
2660745	C2 - Sedimento	14	2	8	S		27°36'13.7	48°27'22.0	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não																																	
2660746	C2 - Sedimento	14	1	8	S				Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não																																
2660747	C2 - Sedimento	14	1	8	S				Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não																																
2660682	C2 - Água S	1	3	2	S																																												
2660791	C3 - Sedimento	16	3	8	S	12:32	27°36'06.7	48°27'06.6	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não																																	
2660792	C3 - Sedimento	16	1	8	S	12:32			Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não																																
2660793	C3 - Sedimento	16	1	8	S	12:32			Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não																																
2660715	C3 - Água S	8	11	2	S	12:25			34.9	13.0	6.30	8.12	22.0	23.1	619234	621642																																	
2660716	C3 - Água S	8	1	2	S	12:25																																											
2660717	C3 - Água S	8	3	2	S	12:25																																											
2660718	C3 - Água F	8	9	3	S	12:28																																											
2660785	C3 - Sedimento	16	3	8	S	14:03	27°36'13.1	48°26'23.8	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não																																	
2660786	C4 - Sedimento	16	1	8	S	14:03			Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não																																
2660787	C4 - Sedimento	16	1	8	S	14:03			Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não																																
2660725	C4 - Água S	10	3	2	S	14:04			Não	Não	Não	Não	Não	Não	23.1	635403	637605																																
2660788	D1 - Sedimento	16	3	8	S	12:45	27°36'23.8	48°27'33.0	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não																																	
2660789	D1 - Sedimento	16	1	8	S	12:45			Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não																																
2660790	D1 - Sedimento	16	1	8	S	12:45			Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não																																
2660724	D1 - Água S	10	3	2	S	12:42			Não	Não	Não	Não	Não	Não	23.4	621642	624732																																
CONTROLE DE QUALIDADE EM CAMPO																																																	
Código	PONTO DE AMOSTRAGEM / IDENTIFICAÇÃO DA	Item	N° de Frascos	Tempo de Amostragem	Tempo de Coleta	HORA	Coordenadas		CAMPO														LABORATÓRIO																										
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;"> <b>CENTRO DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL OCEANUS LTDA.</b>                  CNPJ: 28.383.198/0001-59                  TEL.: 3293-7000                  Recebido dia: 01/11/23                  OBSERVAÇÕES: Rômulo             </div>																																																	
INFORMAÇÕES DE GARANTIA DE QUALIDADE										TIPO DE AMOSTRA:																																							
Água reagente: Proposta 10902017										1-Água Tratada 6-Resíduo																																							
Qualidade dos reagentes utilizados: HQ-ANE-171-Registro de Preparo de Soluções - Diversas										2-Água Bruta Superficial 7-Efluente																																							
Métodos analíticos utilizados para os brancos: HQ-ANE-006-Proposta comercial										3-Água Bruta Profundidade 8-Sedimento																																							
Métodos analíticos utilizados para as amostras: HQ-ANE-006-Proposta comercial										4-Água Subterrânea 9-Solo																																							
Armazenamento e preservação das amostras: HQ-POP-061-Recebimento cadastro										5-Água de Reuso 10-Reagente																																							
Armazenamento e descarte das amostras:										11-Outros:																																							
PREENCHIMENTO OBRIGATORIO																																																	
Coleta Composta? Total de Horas: Intervalo:										Temperatura Ambiente: 26.6													Chuva nas últimas 24 horas? ( ) ( ) ( ) ( )																										
USO EXCLUSIVO DO CLIENTE										USO EXCLUSIVO DO GRUPO OCEANUS																																							
Nome (Legível):										Recebido por:													TAG: MPM-044																										
Ass:										Ass: Data: Hora:													TAG: PI-017																										
Data: Hora: Tel:										Temperatura de Recebimento: °C													TAG:																										