

RELATÓRIO DE ENSAIO: 147036/2023 - A - 3.0 - E L
Proposta Comercial 4230/2022-29

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: D5 - ÁGUA S	
ID do Projeto: -	Referência Oceanus: 2452179
Matriz: Água Salobra	Data da amostragem: 25/07/2023 08:00
Data de emissão do R.E.: 31/08/2023	Data de recebimento: 26/07/2023
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 Ensaios: 02/08/2023
Final dos Ensaios: 04/08/2023

RASTREABILIDADE ANALÍTICA

DADOS DA AMOSTRA
Salinidade Integral por NaCl da amostra: 20 ppt
pH da amostra integral: 7,5
OD da amostra integral: 5,84 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:
Temperatura da água: 25,2 °C
Temperatura mínima/máxima da sala de ensaio: 24,2°C / 25,4°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: 0,1351 mg ZnSO ₄ /L (I.C.: 0,1111 a 0,1635 mg ZnSO ₄ /L).
Faixa da carta-controle de sensibilidade: 0,1335 mg ZnSO ₄ /L (I.C.: 0,127 a 0,14 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	7,45	7,43	35,0	38,0	5,5	5,45	25,2	25,2	0,81	0,087	0,01	0,0

1,56	7,65	7,37	39,0	40,0	5,4	5,65	-	-	-	-	-	-
100,0	7,5	7,37	20,0	20,0	5,84	5,94	25,2	25,2	0,35	0,48	0,01	0,01

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

Foi realizado um ensaio com as seguintes concentrações: 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,12; 1,56. 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 (2012). 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 (ABNT, 2012). 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. 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.

Concentração (%)	Réplica	Número final de organismos por réplica		Pluteus Normais (%)	Efeito (%)
		Pluteus Normais	Pluteus Anormais		
Controle	1	79,0	21,0	82,5	17,5
	2	87,0	13,0		
	3	81,0	19,0		
	4	83,0	17,0		
100	1	25,0	75,0	29,5	70,5
	2	29,0	71,0		
	3	19,0	81,0		
	4	45,0	55,0		
50	1	67,0	33,0	57,0	43,0
	2	54,0	46,0		
	3	49,0	51,0		
	4	58,0	42,0		
25	1	70,0	30,0	72,0	28,0
	2	78,0	22,0		
	3	73,0	27,0		
	4	67,0	33,0		
12,5	1	80,0	20,0	81,5	18,5
	2	81,0	19,0		
	3	78,0	22,0		
	4	87,0	13,0		
6,25	1	80,0	20,0	80,25	19,75
	2	81,0	19,0		
	3	83,0	17,0		
	4	77,0	23,0		

3,125	1	80,0	20,0	82,0	18,0
	2	88,0	12,0		
	3	81,0	19,0		
	4	79,0	21,0		
1,56	1	85,0	15,0	84,5	15,5
	2	89,0	11,0		
	3	78,0	22,0		
	4	86,0	14,0		

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Analysis of Variance (One-Way)

Descriptive Statistics

Groups	Sample size	Sum	Mean	Variance
1,56	4	338,0000	84,5000	21,6667
3,125	4	328,0000	82,0000	16,6667
6,25	4	321,0000	80,2500	6,2500
12,5	4	326,0000	81,5000	15,0000
25	4	288,0000	72,0000	22,0000
50	4	228,0000	57,0000	58,0000
100	4	118,0000	29,5000	123,6667
Controle	4	330,0000	82,5000	11,6667
Total	32		71,1563	355,6845

ANOVA

Source of Variation	d.f.	SS	MS	F	p-value	F crit	Omega Squ.
Between Groups	7	10,201,4688	1,457,3527	42,4086	0,0000	5,2349	0,9006
Within Groups	24	824,7500	34,3646				
Total	31	11,026,2188					

Residual standard error	5,8621
Hartley Fmax (d.f. = 8, 3)	19,7867
Cochran C (d.f. = 8, 3)	0,4498
Bartlett Chi-square (d.f. = 7)	9,1785 p-value 0,2402

Comparisons among groups (Factor 1 - Factor #1)

Tukey HSD

Groups	Difference	Test Statistic	p-value	Significant
1,56 vs Controle	2,0000	0,6823	0,9997	No
3,125 vs Controle	-0,5000	0,1706	1,0000	No
6,25 vs Controle	-2,2500	0,7678	0,9993	No
12,5 vs Controle	-1,0000	0,3412	1,0000	No
25 vs Controle	-10,5000	3,5823	0,2293	No
50 vs Controle	-25,5000	8,6999	0,0001	Yes
100 vs Controle	-53,0000	18,0822	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-squares
0,1931	0,1600	0,1014	100	18,0000	10,1396	5,8604	3,3872
0,4949	0,1800	0,1505	100	18,0000	15,0496	2,9504	0,5784
0,7959	0,2000	0,2132	100	20,0000	21,3153	-1,3153	0,0812
1,0969	0,1900	0,2888	100	19,0000	28,8849	-9,8849	3,3828
1,3979	0,2800	0,3753	100	28,0000	37,5253	-9,5253	2,4179
1,6990	0,4300	0,4684	100	43,0000	46,8440	-3,8440	0,3154
2,0000	0,7100	0,5634	100	71,0000	56,3397	14,6603	3,8148

Chi-square

Chi-square	13,9777
Degrees of Freedom	5
p-value	0,0158

Dose (stimulus) Percentile #1

Percentile	Probit (Y)	Log10[Dose (stimulus)]	Standard Error	Dose (stimulus)	Standard Error	LCL	UCL
1	2,6732	-1,1348	0,9302	0,0734	0,3080	0,0000	0,6374
5	3,3548	-0,2753	0,6047	0,5305	1,0016	0,0018	2,2881
10	3,7183	0,1829	0,4370	1,5238	1,8054	0,0265	4,6837
18	4,0056	0,5451	0,3131	3,5088	2,7541	0,2133	8,6839
20	4,1585	0,7380	0,2545	5,4899	3,3925	0,6192	12,6064
25	4,3258	0,9489	0,2034	8,8890	4,3176	1,8399	20,4555
30	4,4760	1,1382	0,1788	13,7466	5,8124	4,3196	35,7753
40	4,7471	1,4799	0,2057	30,1949	14,8414	13,1605	150,2874
50	5,0000	1,7988	0,2899	62,9228	45,1903	26,2622	812,7518
60	5,2529	2,1177	0,3958	131,1242	136,7478	46,0867	4,998,1317
70	5,5240	2,4594	0,5184	288,0188	431,5153	79,7702	36,958,1205
75	5,6742	2,6488	0,5884	445,4130	805,7484	106,8475	113,297,0913
80	5,8415	2,8598	0,6672	723,8328	1,604,2423	147,0956	396,807,9250
84	5,9944	3,0525	0,7400	1,128,4500	2,997,9933	196,3057	1,253,215,5016
90	6,2817	3,4147	0,8778	2,598,3162	9,632,1490	335,3854	10,937,854,6408
95	6,6452	3,8729	1,0533	7,463,4039	41,862,6532	655,2799	170,864,413,0317
99	7,3268	4,7322	1,3846	53,976,1005	653,253,1496	2,272,6578	29,950,292,749,3980

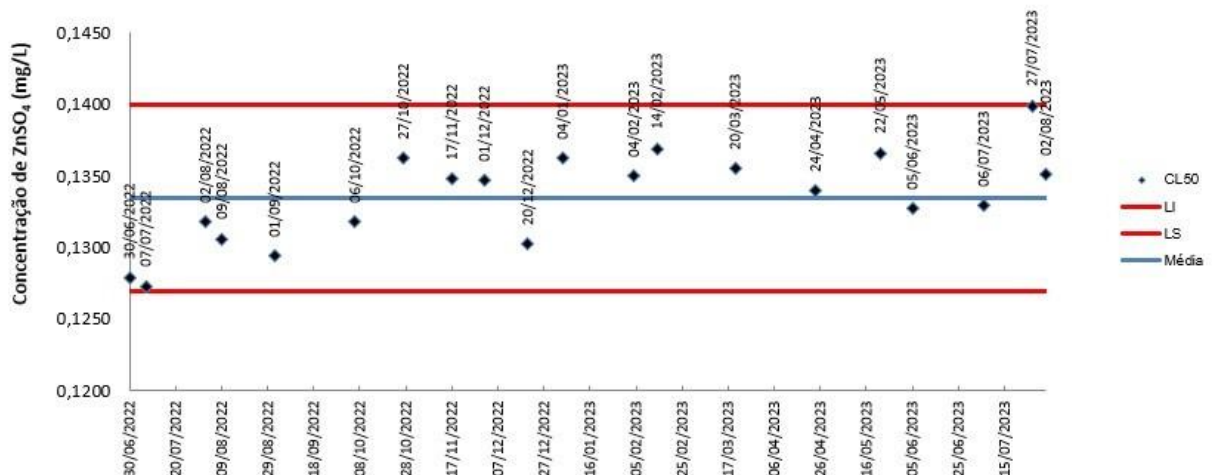
Regression Statistics

LD50	62,9228	LD50 Standard Error	45,1903
LD50 LCL	26,2622	LD50 UCL	812,7518
Log10[LD50]	1,7988	Standard Error	0,2899
Beta	0,7932	Intercept	3,5732
Beta Standard Error	0,1909		

CONTROLE DE QUALIDADE ANALÍTICO

Carta Controle de Sensibilidade ao ZnSO₄

Echinometa lucunter



RESULTADOS ANALÍTICOS DA AMOSTRA

Parâmetros	Unidade	Resultados
CENO(I)	%	25
CEO(I)	%	50
VC	%	35,355
CL ₅₀ (I)	%	62,9228 (26,2622 - 812,7518)

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 embrionário, sobrevivência ou reprodução dos organismos nas condições do ensaio

CEO (I) = Menor concentração nominal da amostra que causa efeito deletério estatisticamente significativo no desenvolvimento embrionário, 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: 42fd50711a8f0850add63c94ef0fb488

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 34351/2023. 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

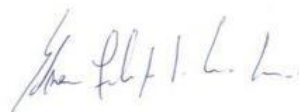
Toxicidade Crônica - *Echinometra lucunter*. ABNT NBR 15469 / ABNT NBR 15350

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: 147036/2023-3.0

Cliente: COMPANHIA CATARINENSE DE AGUAS E SANEAMENTO CASAN	
Data de recebimento: 26/07/2023	
Código: 2452179	Identificação da Amostra: D5 - 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 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: Yago Lima
