

RELATÓRIO DE ENSAIO: 166942/2023 - A - 3.0 - E L
Proposta Comercial 4230/2022-31

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: Não Informado	Referência Oceanus: 2522530
Matriz: Água Salobra	Data da amostragem: 15/08/2023 15:58
Data de emissão do R.E.: 27/09/2023	Data de recebimento: 16/08/2023
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: 19/09/2023
Final dos Ensaios: 21/09/2023

RASTREABILIDADE ANALÍTICA

DADOS DA AMOSTRA
Salinidade Integral por NaCl da amostra: 24 ppt
pH da amostra integral: 7,16
OD da amostra integral: 6,35 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: 2023-77-TOX-D10
Temperatura da água: 24,2°C °C
Temperatura mínima/máxima da sala de ensaio: 23,7°C/ 26,1°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: 0,1314 mg ZnSO ₄ /L (I.C.: 0,1238 a 0,1395 mg ZnSO ₄ /L).
Faixa da carta-controle de sensibilidade: 0,1344 mg ZnSO ₄ /L (I.C.: 0,1289 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	8,4	7,5	35,0	36,0	6,8	5,7	24,2	25,0	0,032	0,098	0,0	0,0

1,56	7,31	7,6	35,0	36,0	6,1	6,0	-	-	-	-	-	-
100,0	7,16	7,58	24,0	25,0	6,35	5,7	24,1	25,0	0,352	0,45	0,0	0,01

Nota: Valores de amônia não-ionizada acima do limite de 0,11mg/L podem causar efeitos tóxicos sobre o desenvolvimento embriolarval 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	84,0	16,0
	2	81,0	19,0		
	3	83,0	17,0		
	4	84,0	16,0		
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	5,0	95,0	11,0	89,0
	2	6,0	94,0		
	3	7,0	93,0		
	4	26,0	74,0		
25	1	38,0	62,0	35,5	64,5
	2	39,0	61,0		
	3	36,0	64,0		
	4	29,0	71,0		
12,5	1	48,0	52,0	45,25	54,75
	2	49,0	51,0		
	3	39,0	61,0		
	4	45,0	55,0		
6,25	1	66,0	34,0	66,5	33,5
	2	67,0	33,0		
	3	65,0	35,0		
	4	68,0	32,0		
3,125	1	80,0	20,0	80,25	19,75

	2	79,0	21,0		
	3	79,0	21,0		
	4	83,0	17,0		
1,56	1	81,0	19,0	82,25	17,75
	2	79,0	21,0		
	3	80,0	20,0		
	4	89,0	11,0		

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Analysis of Variance (One-Way)

Descriptive Statistics

Groups	Sample size	Sum	Mean	Variance
1,56	4	329,0000	82,2500	20,9167
3,125	4	321,0000	80,2500	3,5833
6,25	4	266,0000	66,5000	1,6667
12,5	4	181,0000	45,2500	20,2500
25	4	142,0000	35,5000	20,3333
50	4	44,0000	11,0000	100,6667
100	4	0,0000	0,0000	0,0000
Controle	4	336,0000	84,0000	8,6667
Total	32		50,5938	1.002,1200

ANOVA

Source of Variation	d.f.	SS	MS	F	p-value	F crit	Omega Sqr.
Between Groups	7	30.537,4688	4.362,4955	198,2014	0,0000	5,2349	0,9773
Within Groups	24	528,2500	22,0104				
Total	31	31.065,7188					

Residual standard error	4,6915
Hartley Fmax (d.f. = 8, 3)	#N/A
Cochran C (d.f. = 8, 3)	0,5717
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	-1,7500	0,7460	0,9994	No
3,125 vs Controle	-3,7500	1,5986	0,9434	No
6,25 vs Controle	-17,5000	7,4603	0,0005	Yes
12,5 vs Controle	-38,7500	16,5191	0,0001	Yes
25 vs Controle	-48,5000	20,6756	0,0001	Yes
50 vs Controle	-73,0000	31,1199	0,0001	Yes
100 vs Controle	-84,0000	35,8092	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	0,1073	100	18,0000	10,7279	7,2721	4,9294	
0,4949	0,2000	0,2214	100	20,0000	22,1427	-2,1427	0,2073	
0,7959	0,3400	0,3841	100	34,0000	38,4100	-4,4100	0,5063	
1,0969	0,5500	0,5706	100	55,0000	57,0608	-2,0608	0,0744	
1,3979	0,6500	0,7423	100	65,0000	74,2339	-9,2339	1,1486	
1,6990	0,8900	0,8693	100	89,0000	86,9329	2,0671	0,0492	
2,0000	0,9975	0,9447	100	99,7500	94,4742	5,2758	0,2946	
Chi-square								
Chi-square	7,2099							
Degrees of Freedom	5							
p-value	0,2055							

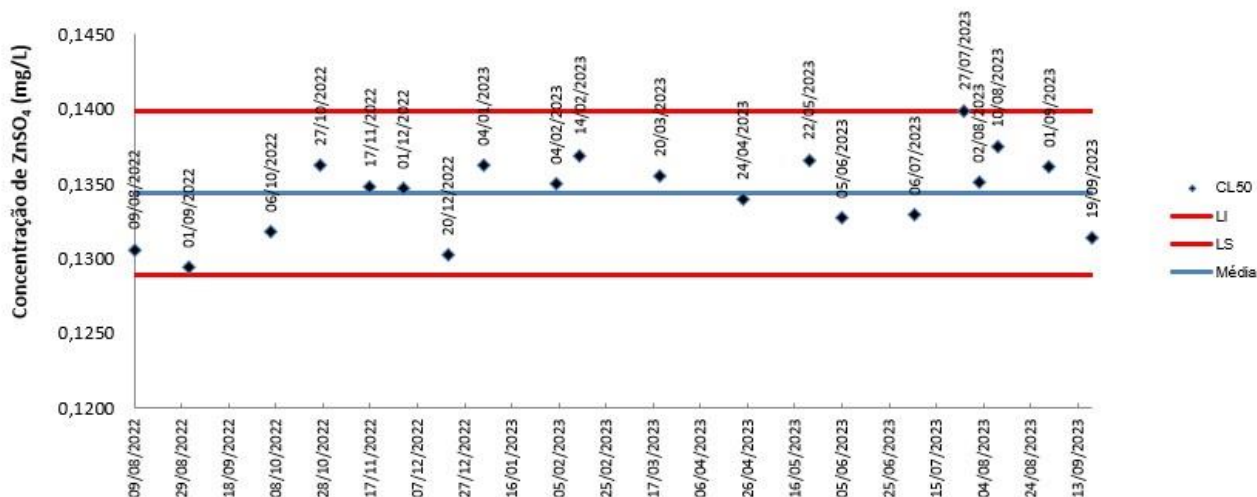
Dose (Stimulus) Percentile #1							
Percentile	Probit (Y)	Log10[Dose (Stimulus)]	Standard Error	Dose (Stimulus)	Standard Error	LCL	UCL
1	2,6732	-0,4983	0,2247	0,3174	0,1716	0,0559	0,7996
5	3,3548	-0,0642	0,1682	0,8625	0,3425	0,2381	1,7446
10	3,7183	0,1673	0,1395	1,4698	0,4802	0,5114	2,6663
16	4,0056	0,3503	0,1180	2,2400	0,6163	0,9287	3,7568
20	4,1585	0,4477	0,1073	2,8033	0,7000	1,2705	4,5285
25	4,3258	0,5542	0,0965	3,5827	0,8025	1,7810	5,5822
30	4,4760	0,6499	0,0877	4,4654	0,9082	2,3978	6,7756
40	4,7471	0,8225	0,0754	6,6451	1,1594	4,0180	9,8107
50	5,0000	0,9836	0,0696	9,6293	1,5504	6,2869	14,3373
60	5,2529	1,1447	0,0708	13,9535	2,2859	9,4393	21,8354
70	5,5240	1,3173	0,0795	20,7648	3,8207	13,9707	35,7959
75	5,6742	1,4130	0,0868	25,8810	5,2061	17,1021	47,7842
80	5,8415	1,5195	0,0965	33,0759	7,4064	21,2304	66,5145
84	5,9944	1,6169	0,1063	41,3938	10,2372	25,7128	90,5638
90	6,2817	1,7999	0,1268	63,0840	18,6759	36,4457	163,4813
95	6,6452	2,0314	0,1548	107,5028	39,1249	55,9446	349,5793
99	7,3268	2,4655	0,2105	292,0861	147,2158	122,5453	1.482.2600

Regression Statistics			
LD50	9,6293	LD50 Standard Error	1,5504
LD50 LCL	6,2869	LD50 UCL	14,3373
Log10[LD50]	0,9836	Standard Error	0,0696
Beta	1,5701	Intercept	3,4556
Beta Standard Error	0,1960		

CONTROLE DE QUALIDADE ANALÍTICO

Carta Controle de Sensibilidade ao ZnSO₄

Echinometra lucunter



RESULTADOS ANALÍTICOS DA AMOSTRA

Parâmetros	Unidade	Resultados
CENO(I)	%	3,125
CEO(I)	%	6,25
VC	%	4,419
CL ₅₀ (I)	%	9,6293 (6,2869 - 14,3373)

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: 7724063bbd73da988e7919b5ed10e2ad

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: 166942/2023-3.0

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 38159/2023. 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

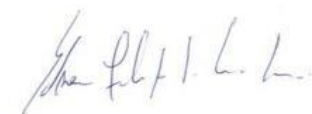
Toxicidade Crônica - *Echinometra lucunter*: ABNT NBR 15469 / ABNT NBR 15350

RESPONSÁVEIS

Relatório emitido por: Rayza Magalhães

Relatório revisado por: Fabiana Vasconcelos Kirsten

Responsável técnico:



Edson Felipe Souza Ladeira, B.Sc.
Gerente Técnico
CRQ n°03155685 – 3ª Região



Ronaldo Leão Guimarães
Gerente Técnico
CRBio n°02339/85

LISTA DE VERIFICAÇÃO DE RECEBIMENTO DE AMOSTRAS

N° da Amostra: 166942/2023-3.0

Cliente: COMPANHIA CATARINENSE DE AGUAS E SANEAMENTO CASAN	
Data de recebimento: 16/08/2023	
Código: 2522530	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: Thalles Barreto

Oceanus Centro de Biologia Experimental										PRAZO					GRUPO:			PROPOSTA Nº		DATA DA AMOSTRAGEM					
Rua Aristides Lobo, 48 - Rio Comprido - RJ CEP: 20.250-450 Tel: (21) 3293-7000 - 2947-9819 - 2942-3811 - www.oceanus.bio.br - www.laboratorio.br										<input type="checkbox"/> RUSH <input checked="" type="checkbox"/> NORMAL					38157/2023			4230/2022		15/08/23					
DADOS DO PROJETO					RESPONSÁVEIS PELA AMOSTRAGEM					PARÂMETROS															
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: Gisela Kmiecki Coletores: Everaldo Taube Transportador: Oceanus Placa Veículo:					CAMPO Constatividade Unidade Origem Dissolvido (mg/L) pH Salinidade (PSU) Temperatura água Fluxometro Letura Inicial Letura Final Materia orgânica P e N Bactérias Cianobactérias Fitoplâncton E.coli e Enterococos Ocorrência de fitoplâncton nocivo (FON) - Col. de Cianobactérias Esporocistídeos															
INFORMAÇÕES DA AMOSTRA										INFORMAÇÕES DE CAMPO															
Código	PONTO DE AMOSTRAGEM / IDENTIFICAÇÃO DA	Item	Nº de Frascos	Tipo da Amostra	Tipo de Coleta	HORA	Coordenadas			Constatividade	Unidade	Origem Dissolvido (mg/L)	pH	Salinidade (PSU)	Temperatura água	Letura Inicial	Letura Final	Materia orgânica P e N	Bactérias	Cianobactérias	Fitoplâncton	E.coli e Enterococos	Ocorrência de fitoplâncton nocivo (FON) - Col. de Cianobactérias	Esporocistídeos	
2522612	D5 - Sedimento	16	3	8	s	16:01	27°36'29,5	48°26'35,4	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	x	x	x					
2522613	D5 - Sedimento	16	1	8	s	16:03			Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	x	x					
2522614	D5 - Sedimento	16	1	8	s	16:03			Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	x	x					
2522528	D5 - Água S	6	11	2	s	15:58	27°36'29,5	48°26'35,4	59,32	1,00	6,73	8,31	32,0	18,9	49,9	37,3	50,0				x	x	x		
2522529	D5 - Água S	6	1	2	s	15:58			Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	x	x					
2522530	D5 - Água S	6	3	2	s	15:58			Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	x	x					
2522615	E1 - Sedimento	16	2	8	s	12:31	27°36'20,5	48°27'45,7	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	x	x	x					
2522616	E1 - Sedimento	16	1	8	s	12:31			Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	x	x					
2522617	E1 - Sedimento	16	1	8	s	12:31			Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	x	x					
2522508	E1 - Água S	2	11	2	s	12:28	27°36'20,5	48°27'45,7	50,15	1,00	6,32	8,31	32,9	18,8	49,18	49,28	68				x	x	x		
2522618	E2 - Sedimento	16	3	8	s	11:26			Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	x	x	x				
2522619	E2 - Sedimento	16	1	8	s	11:26			Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	x	x					
2522620	E2 - Sedimento	16	1	8	s	11:26	27°36'02,8	48°27'33,7	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	x	x						
2522517	E2 - Água S	4	12	2	s	11:20			52,39	1,00	7,50	8,55	34,6	18,4	48,88	48,92	26				x	x	x		
2522518	E2 - Água F	4	9	3	s	11:23			52,39	1,00	7,35	8,57	34,5	18,2									x	x	
2522621	E3 - Sedimento	16	3	8	s	07:05	27°35'50,7	48°27'04,5	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	x	x	x					
2522622	E3 - Sedimento	16	1	8	s	07:05			Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	x	x					
2522623	E3 - Sedimento	16	1	8	s	07:05			Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	x	x					
2522540	E3 - Água S	10	3	2	s	07:02	27°35'50,7	48°27'04,5	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	x	x						
									Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	x	x					
									Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	x	x					

CENTRO DE BIOLOGIA
EXPERIMENTAL OCEANUS LTDA
CNPJ: 28.383.198/0001-59
TEL.: 3293-7000
Recebido dia: 16/08/23
KCP