

**RELATÓRIO DE ENSAIO: 189447/2023 - 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 - 27°36'29,5 48°26'35,4	
ID do Projeto: -	Referência Oceanus: 2565863
Matriz: Água Salobra	Data da amostragem: 12/09/2023 16:25
Data de emissão do R.E.: 28/09/2023	Data de recebimento: 13/09/2023
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> 19/09/2023
<b>Final dos Ensaio:</b> 21/09/2023

**RASTREABILIDADE ANALÍTICA**

DADOS DA AMOSTRA
<b>Salinidade Integral por NaCl da amostra:</b> 23 ppt
<b>pH da amostra integral:</b> 7,5
<b>OD da amostra integral:</b> 6,6 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: 2023-77-TOX-D10
<b>Temperatura da água:</b> 24,2°C °C
<b>Temperatura mínima/máxima da sala de ensaio:</b> 23,7°C/ 26,1°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> 0,1314 mg ZnSO <sub>4</sub> /L (I.C.: 0,1238 a 0,1395 mg ZnSO <sub>4</sub> /L).
<b>Faixa da carta-controle de sensibilidade:</b> 0,1344 mg ZnSO <sub>4</sub> /L (I.C.: 0,1289 a 0,1398 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	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	7,7	7,2	35,0	36,0	6,5	6,0	-	-	-	-	-	-
100,0	7,5	7,01	23,0	24,0	6,6	5,5	24,1	25,0	0,4	0,52	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	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	0,25	99,75
	2	1,0	99,0		
	3	0,0	100,0		
	4	0,0	100,0		
50	1	15,0	85,0	17,25	82,75
	2	19,0	81,0		
	3	17,0	83,0		
	4	18,0	82,0		
25	1	43,0	57,0	45,0	55,0
	2	46,0	54,0		
	3	50,0	50,0		
	4	41,0	59,0		
12,5	1	67,0	33,0	65,0	35,0
	2	65,0	35,0		
	3	68,0	32,0		
	4	60,0	40,0		
6,25	1	80,0	20,0	79,25	20,75
	2	79,0	21,0		
	3	75,0	25,0		
	4	83,0	17,0		
3,125	1	81,0	19,0	81,5	18,5

	2	83,0	17,0		
	3	78,0	22,0		
	4	84,0	16,0		
1,56	1	80,0	20,0	82,5	17,5
	2	85,0	15,0		
	3	82,0	18,0		
	4	83,0	17,0		

## ANÁLISE ESTATÍSTICA

### Analysis of Variance (One-Way)

#### Descriptive Statistics

Groups	Sample size	Sum	Mean	Variance
1,56	4	330,0000	82,5000	4,3333
3,125	4	326,0000	81,5000	7,0000
6,25	4	317,0000	79,2500	10,9167
12,5	4	260,0000	65,0000	12,6667
25	4	180,0000	45,0000	15,3333
50	4	69,0000	17,2500	2,9167
100	4	1,0000	0,2500	0,2500
Controle	4	336,0000	84,0000	8,6667
<b>Total</b>	<b>32</b>		<b>56,8438</b>	<b>971,5554</b>

#### ANOVA

Source of Variation	d.f.	SS	MS	F	p-value	F crit	Omega Sqr.
Between Groups	7	29.931,9688	4.275,9955	551,0008	0,0000	5,2349	0,9918
Within Groups	24	186,2500	7,7604				
<b>Total</b>	<b>31</b>	<b>30.118,2188</b>					

Residual standard error	2,7858
Hartley Fmax (d.f. = 8, 3)	61,3333
Cochran C (d.f. = 8, 3)	0,2470
Bartlett Chi-square (d.f. = 7)	9,2740 p-value 0,2336

### Comparisons among groups (Factor 1 - Factor #1)

#### Tukey HSD

Groups	Difference	Test Statistic	p-value	Significant
1,56 vs Controle	-1,5000	1,0769	0,9937	No
3,125 vs Controle	-2,5000	1,7948	0,9014	No
6,25 vs Controle	-4,7500	3,4102	0,2805	No
12,5 vs Controle	-19,0000	13,6408	0,0001	Yes
25 vs Controle	-39,0000	27,9996	0,0001	Yes
50 vs Controle	-66,7500	47,9224	0,0001	Yes
100 vs Controle	-83,7500	60,1274	0,0001	Yes

Alpha (significance level)	0,0010							
<b>Probit Analysis - Finney Method [Lognormal Distribution]</b>								
Log10[Dose (Stimulus)]	Actual Percent (%)	Probit Percent (%)	N	R	E(R)	Difference	Chi-square	
0,1931	0,1800	0,0782	100	18,0000	7,8212	10,1788	13,2472	
0,4949	0,1900	0,1666	100	19,0000	16,6619	2,3381	0,3281	
0,7959	0,2100	0,3019	100	21,0000	30,1861	-9,1861	2,7955	
1,0969	0,3500	0,4719	100	35,0000	47,1898	-12,1898	3,1488	
1,3979	0,5500	0,6473	100	55,0000	64,7306	-9,7306	1,4627	
1,6990	0,8300	0,7958	100	83,0000	79,5772	3,4228	0,1472	
2,0000	0,9975	0,8989	100	99,7500	89,8875	9,8625	1,0821	
<b>Chi-square</b>								
Chi-square	22,2117							
Degrees of Freedom	5							
p-value	0,0005							

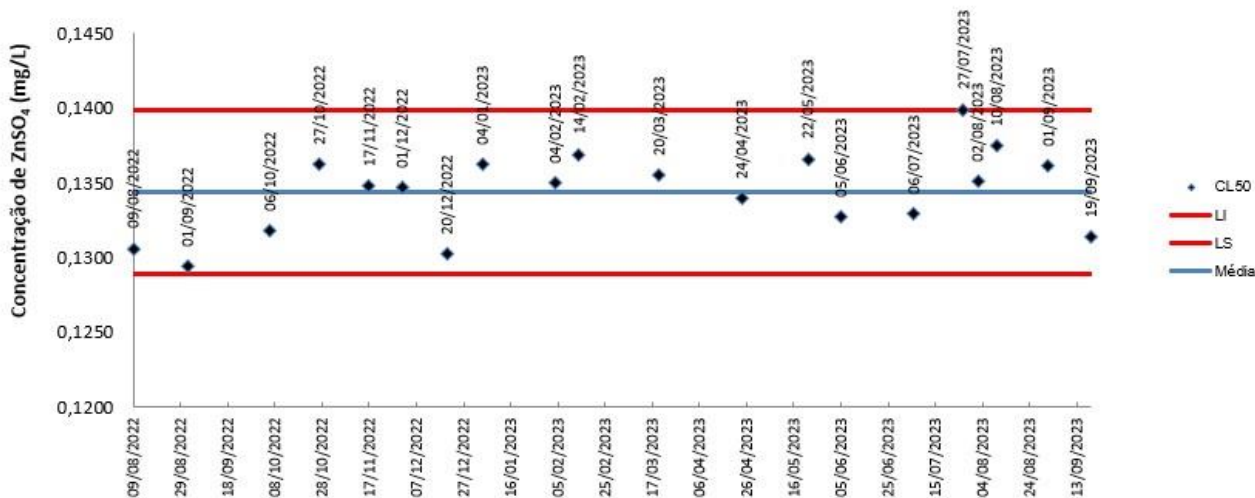
Dose (Stimulus) Percentile #1							
Percentile	Probit (Y)	Log10[Dose (Stimulus)]	Standard Error	Dose (Stimulus)	Standard Error	LCL	UCL
1	2,6732	-0,4173	0,4172	0,3826	0,4267	0,0099	1,3838
5	3,3548	0,0401	0,3053	1,0967	0,8361	0,0783	2,9091
10	3,7183	0,2840	0,2483	1,9233	1,1604	0,2323	4,3924
16	4,0056	0,4769	0,2059	2,9982	1,4750	0,5400	6,1796
20	4,1585	0,5795	0,1849	3,7976	1,6658	0,8383	7,4809
25	4,3258	0,6918	0,1638	4,9178	1,8990	1,3408	9,3238
30	4,4760	0,7926	0,1472	6,2024	2,1435	2,0157	11,5232
40	4,7471	0,9745	0,1260	9,4292	2,7736	3,9985	17,7686
50	5,0000	1,1442	0,1203	13,9387	3,9113	6,9656	28,9506
60	5,2529	1,3140	0,1303	20,6048	6,2751	11,0623	51,7419
70	5,5240	1,4959	0,1549	31,3246	11,4072	16,7301	104,6505
75	5,6742	1,5967	0,1726	39,5073	16,1154	20,5325	158,4250
80	5,8415	1,7089	0,1946	51,1602	23,6962	25,4494	254,8038
84	5,9944	1,8116	0,2162	64,8019	33,6075	30,6980	396,9856
90	6,2817	2,0044	0,2594	101,0188	63,9764	43,0001	926,9487
95	6,6452	2,2483	0,3169	177,1490	141,0434	64,7234	2.757,7531
99	7,3268	2,7057	0,4293	507,8658	587,8237	135,7013	21.872,9733

Regression Statistics			
LD50	13,9387	LD50 Standard Error	3,9113
LD50 LCL	6,9656	LD50 UCL	28,9506
Log10[LD50]	1,1442	Standard Error	0,1203
Beta	1,4901	Intercept	3,2950
Beta Standard Error	0,2902		

**CONTROLE DE QUALIDADE ANALÍTICO**

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

*Echinometra lucunter*



**RESULTADOS ANALÍTICOS DA AMOSTRA**

Parâmetros	Unidade	Resultados
CENO(I)	%	6,25
CEO(I)	%	12,5
VC	%	8,84
CL <sub>50</sub> (I)	%	13,9387 ( 6,9656 - 28,9506 )

**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: e3c6426d963ed60ea3c8782347d3ce72

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 42998/2023. 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 nº03155685 – 3ª Região



Ronaldo Leão Guimarães  
Gerente Técnico  
CRBio nº02339/85

## LISTA DE VERIFICAÇÃO DE RECEBIMENTO DE AMOSTRAS

N° da Amostra: 189447/2023-3.0

Cliente: COMPANHIA CATARINENSE DE AGUAS E SANEAMENTO CASAN	
Data de recebimento: 13/09/2023	
Código: 2565863	Identificação da Amostra: D5 - ÁGUA S - 27°36'29,5 48°26'35,4

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: Yuri Garcia
---



Oceanus Centro de Biologia Experimental										PRAZO		GRUPO:		PROPOSTA Nº		DATA DE AMOSTRAGEM										
Rua Aristides Lobo, 48 - Rio Comprido - RJ - CEP: 20.250-450 Tel: (21) 3293-7000 - 2961-0914 - 2961-3073 - Uol: www.oceanus.bio.br / www.laboratorioabi.com.br										<input type="checkbox"/> RUSH <input checked="" type="checkbox"/> NORMAL		42998		4230/2022		12/09/23										
DADOS DO PROJETO				RESPONSÁVEIS PELA AMOSTRAGEM				CAMPO				PARAMETROS				LABORATÓRIO										
Cliente: CASAN				Supervisor: Giselle Kimecki																						
Endereço: Lagos da Conceição - Florianópolis, SC				Coletores: Everaldo Taube																						
Cidade: Porto Alegre				Transportador: Oceanus																						
Responsável pela Solicitação: Priscila				Placa Veículo:																						
Objetivo/Legislação: Monitoramento e Avaliação do PRAD da Lagoa da Conceição																										
INFORMAÇÕES DA AMOSTRA										INFORMAÇÕES DE CAMPO																
Código	PUNTO DE AMOSTRAGEM / IDENTIFICAÇÃO DA	Item	Nº de Frascos	Tipo da Amostra	Tipo de Coleta	HORA	Coordenadas		Contundidade	Unidade	Oxigênio Dissolvido (mg/L)	pH	Salinidade (PSU)	Temperatura água (°C)	Fluxometro		Materia orgânica, P e N	Biófitos	Comunidade	Fitoplâncton	E.coli e Enterococos	Nº de bactérias em placa	Química, CO2, Parâmetros de água	Ecotoxicidade		
2565939	D5 - Sedimento	16	3	8	s	16:28	27°36'29,5	48°26'35,4	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	x	x	x							
2565940	D5 - Sedimento	16	1	8	s	16:28			Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	x	x						
2565941	D5 - Sedimento	16	1	8	s	16:28			Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	x	x						
2565861	D5 - Água S	6	11	2	s	16:25	27°36'29,5	48°26'35,4	52,80	16,5	6,80	8,47	31,8	22,4	56,878	56,674					x	x	x			
2565862	D5 - Água S	6	1	2	s	16:25			Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	x	x						
2565863	D5 - Água S	6	3	2	s	16:25			Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	x	x						
2565906	E1 - Sedimento	16	2	8	s	12:57	27°36'20,5	48°27'45,7	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	x	x	x						
2565907	E1 - Sedimento	16	1	8	s	12:57			Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	x	x						
2565908	E1 - Sedimento	16	1	8	s	12:57			Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	x	x						
2565842	E1 - Água S	2	11	2	s	12:54	27°36'20,5	48°27'45,7	49,40	16,5	5,95	8,60	32,3	22,7	53,678	53,877					x	x	x			
2565954	E2 - Sedimento	16	3	8	s	07:37			Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	x	x	x					
2565955	E2 - Sedimento	16	1	8	s	07:37			Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	x	x						
2565956	E2 - Sedimento	16	1	8	s	07:37	27°35'02,8	48°27'33,7	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	x	x							
2565858	E2 - Água S	4	12	2	s	07:31			51,86	16,5	6,90	8,12	34,2	20,6	50,606	50,823					x	x	x			
2565858	E2 - Água F	4	9	3	s	07:34			52,20	16,5	6,70	8,14	34,4	20,5					x	x						
2565960	E3 - Sedimento	16	3	8	s	07:27	27°35'50,7	48°27'04,5	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	x	x	x						
2565961	E3 - Sedimento	16	1	8	s	07:27			Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	x	x						
2565962	E3 - Sedimento	16	1	8	s	07:27			Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	x	x						
2565879	E3 - Água S	10	3	2	s	07:18	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	20,5	50,884	50,606					x					
CONTROLE DE QUALIDADE EM CAMPO																										
Código	PUNTO DE AMOSTRAGEM / IDENTIFICAÇÃO DA	Item	Nº de Frascos	Tipo da Amostra	Tipo de Coleta	HORA	Coordenadas		CAMPO				LABORATÓRIO													
INFORMAÇÕES DE GARANTIA DE QUALIDADE										TIPO DE AMOSTRA:																
Água reagente: Proposta 1080/2017										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-081-Recabimento cadastro										5-Água de Reuso		10-Reagente														
Armazenamento e descarte das amostras:										11-Outros																
PREENCHIMENTO OBRIGATORIO																										
Coleta Composta? Total de Horas: Intervalo:										Temperatura Ambiente: 21				USO EXCLUSIVO DO GRUPO OCEANUS				[Chuva nas últimas 24 horas?] ( ) S (X) N								
Nome (Legível):										Recebido por:				EQUIPAMENTOS UTILIZADOS												
Ass:										Ass: [Assinatura]				TAG: M24 - 018												
Data: Hora: Tel:										Data: 13/09 Hora: 09:00				TAG:												
										Temperatura de Recabimento: 45,0 °C																