

RELATÓRIO DE ENSAIO: 229512/2023 - 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: Z0 - ÁGUA S - 27°36'28,1 48°27'07,6	
ID do Projeto: -	Referência Oceanus: 2660711
Matriz: Água Salobra	Data da amostragem: 31/10/2023 13:00
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>
Início dos Ensaios: 17/11/2023
Final dos Ensaios: 19/11/2023

RASTREABILIDADE ANALÍTICA

DADOS DA AMOSTRA
Salinidade Integral por NaCl da amostra: 15 ppt
pH da amostra integral: 7,66
OD da amostra integral: 5,07 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: 2023.93.TOX.D10
Temperatura da água: 22,4°C °C
Temperatura mínima/máxima da sala de ensaio: 23,4°C/26,5°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: 0,1299 mg ZnSO ₄ /L (I.C.: 0,1226 a 0,1377 mg ZnSO ₄ /L).
Faixa da carta-controle de sensibilidade: 0,1344 mg ZnSO ₄ /L (I.C.: 0,1288 a 0,1399 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	7,81	7,42	35,0	35,0	5,5	5,8	22,4	25,5	0,042	0,113	0,0	0,0

1,56	8,06	7,9	35,0	35,0	5,7	5,66	-	-	-	-	-	-
100,0	7,66	7,58	15,0	15,0	5,07	5,0	22,0	25,5	0,32	0,0128	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	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	31,0	69,0	31,25	68,75
	2	31,0	69,0		
	3	29,0	71,0		
	4	34,0	66,0		
12,5	1	46,0	54,0	45,75	54,25
	2	40,0	60,0		
	3	48,0	52,0		
	4	49,0	51,0		
6,25	1	63,0	37,0	63,75	36,25
	2	61,0	39,0		
	3	64,0	36,0		
	4	67,0	33,0		
3,12	1	86,0	14,0	86,0	14,0

	2	88,0	12,0		
	3	88,0	12,0		
	4	82,0	18,0		
1,56	1	87,0	13,0	84,0	16,0
	2	86,0	14,0		
	3	84,0	16,0		
	4	79,0	21,0		

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Analysis of Variance (One-Way)

Descriptive Statistics

Groups	Sample size	Sum	Mean	Variance
1,56	4	336,0000	84,0000	12,6667
3,12	4	344,0000	86,0000	8,0000
6,25	4	255,0000	63,7500	6,2500
12,5	4	183,0000	45,7500	16,2500
25	4	125,0000	31,2500	4,2500
50	4	0,0000	0,0000	0,0000
100	4	0,0000	0,0000	0,0000
Controle	4	349,0000	87,2500	2,9167
Total	32		49,7500	1.217,4839

ANOVA

Source of Variation	d.f.	SS	MS	F	p-value	F crit	Omega Sqr.
Between Groups	7	37.591,0000	5.370,1429	853,5326	0,0000	5,2349	0,9947
Within Groups	24	151,0000	6,2917				
Total	31	37.742,0000					

Residual standard error	2,5083
Hartley Fmax (d.f. = 8, 3)	#N/A
Cochran C (d.f. = 8, 3)	0,3228
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	-3,2500	2,5914	0,6058	No
3,12 vs Controle	-1,2500	0,9967	0,9961	No
6,25 vs Controle	-23,5000	18,7376	0,0001	Yes
12,5 vs Controle	-41,5000	33,0899	0,0001	Yes
25 vs Controle	-56,0000	44,6514	0,0001	Yes
50 vs Controle	-87,2500	69,5685	0,0001	Yes
100 vs Controle	-87,2500	69,5685	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	0,1600	0,0739	100	16,0000	7,3894	8,6106	10,0337
0,4942	0,1400	0,1896	100	14,0000	18,9583	-4,9583	1,2968
0,7959	0,3600	0,3782	100	36,0000	37,8217	-1,8217	0,0877
1,0969	0,5400	0,6017	100	54,0000	60,1715	-6,1715	0,6330
1,3979	0,6900	0,7955	100	69,0000	79,5526	-10,5526	1,3998
1,6990	0,9975	0,9183	100	99,7500	91,8296	7,9204	0,6831
2,0000	0,9975	0,9751	100	99,7500	97,5099	2,2401	0,0515

Chi-square

Chi-square	14,1856
Degrees of Freedom	5
p-value	0,0145

Dose (Stimulus) Percentile #1

Percentile	Probit (Y)	Log10[Dose (Stimulus)]	Standard Error	Dose (Stimulus)	Standard Error	LCL	UCL
1	2,6732	-0,2730	0,2619	0,5334	0,3416	0,0618	1,3739
5	3,3548	0,0883	0,1973	1,2254	0,5760	0,2471	2,5539
10	3,7183	0,2809	0,1646	1,9095	0,7410	0,5119	3,5922
16	4,0056	0,4332	0,1403	2,7115	0,8914	0,9018	4,7496
20	4,1585	0,5143	0,1283	3,2680	0,9798	1,2125	5,5406
25	4,3258	0,6029	0,1162	4,0081	1,0855	1,6661	6,5966
30	4,4760	0,6825	0,1065	4,8144	1,1930	2,2007	7,7698
40	4,7471	0,8262	0,0931	6,7022	1,4474	3,5513	10,6906
50	5,0000	0,9603	0,0869	9,1259	1,8383	5,3444	14,9535
60	5,2529	1,0943	0,0882	12,4261	2,5424	7,6924	21,8692
70	5,5240	1,2380	0,0977	17,2985	3,9227	10,8412	34,4541
75	5,6742	1,3176	0,1057	20,7784	5,1073	12,8934	45,0705
80	5,8415	1,4063	0,1164	25,4840	6,9137	15,4771	61,4241
84	5,9944	1,4873	0,1275	30,7145	9,1449	18,1568	82,1259
90	6,2817	1,6396	0,1505	43,6136	15,4146	24,1824	143,6150
95	6,6452	1,8323	0,1823	67,9636	29,3671	34,1997	295,9450
99	7,3268	2,1935	0,2461	156,1446	93,2897	63,8921	1.177,1784

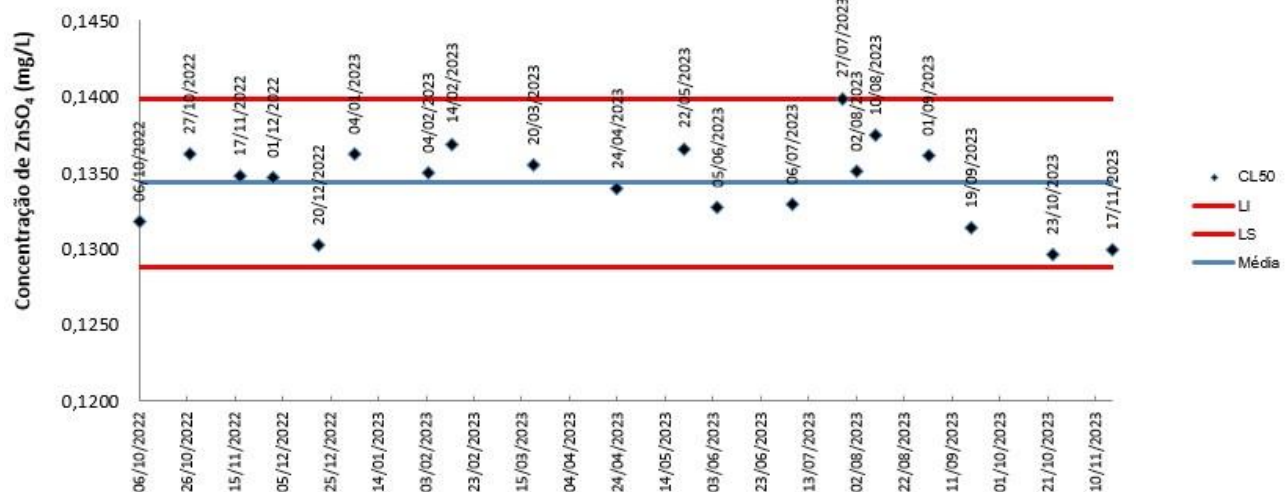
Regression Statistics

LD50	9,1259	LD50 Standard Error	1,8383
LD50 LCL	5,3444	LD50 UCL	14,9535
Log10[LD50]	0,9603	Standard Error	0,0869
Beta	1,8867	Intercept	3,1882
Beta Standard Error	0,3031		

CONTROLE DE QUALIDADE ANALÍTICO

Carta Controle de Sensibilidade ao ZnSO₄
Echinometra lucunter

CV = 2,05%



RESULTADOS ANALÍTICOS DA AMOSTRA

Parâmetros	Unidade	Resultados
CENO(I)	%	3,12
CEO(I)	%	6,25
VC	%	4,42
CL ₅₀ (I)	%	9,1259 (5,3444 - 14,9535)

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 nº 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: 0e0f02948f796c2fa2d0c3843bb55d5c

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 52601/2023. 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: 229512/2023-3.0

Cliente: COMPANHIA CATARINENSE DE AGUAS E SANEAMENTO CASAN	
Data de recebimento: 01/11/2023	
Código: 2660711	Identificação da Amostra: Z0 - ÁGUA S - 27°36'28,1 48°27'07,6

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-004
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: Luana Nascimento
--

