

## Ensaio Ecotoxicológico com *Lytechinus variegatus*

### DADOS DO CONTRATANTE

Empresa:	Bioagri Ambiental LTDA.
Endereço:	Av. Dom Hélder Câmara, nº 4849, Pílares, Rio de Janeiro – RJ, CEP: 20771-001
Identificação do Laudo:	621/2015

### MÉTODOS UTILIZADOS

Ensaio de ecotoxicidade	<b>NORMA ABNT – NBR 15350</b> Método de ensaio com ouriço-do-mar (Echinodermata: Echinoidea), 2012.
Preservação e preparo de amostras	<b>NORMA ABNT NBR 15469</b> – Ecotoxicologia Aquática preservação e preparo de amostras, 2007.
Análise Estatística	<b>USEPA</b> – Short Term methods for estimating the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms. 5Th Edition. EPA-821-R02-012, 2002. <b>USEPA</b> – Short term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms. 5Th Edition. EPA-821-R02-013, 2002.
Programa Estatístico	TOXSTAT 3.5
Método Estatístico	Bonferroni t-Test

### RESPONSABILIDADE TÉCNICA

	Nome	CRBio	Assinatura
Responsável pela Emissão do laudo	MSc. Vinícius Dadalto Baroni	102.267/02-D	<i>Vinícius Dadalto Baroni</i>
Responsável pela Revisão do laudo	MSc. Kátia Regina Chagas	65.888/02-D	<i>KRChagas</i>
<b>Responsável Técnico:</b> Dr <sup>a</sup> Tatiana Heid Furley CRBio: 15.386/02-D			



## INFORMAÇÕES

- Os ensaios foram realizados no Laboratório de Ecotoxicologia Aquática da APLYSIA, localizado à Rua Júlia Lacourt Penna, 335, Jardim Camburi – Vitória – ES.
- As análises foram realizadas em conformidade com a NBR ISO 17025, de acordo com o sistema de gestão da qualidade da APLYSIA Tecnologia para o Meio Ambiente;
- Os resultados referem-se única e exclusivamente a amostra testada e este documento só deve ser reproduzido por completo;
- A incerteza de medição dos ensaios ecotoxicológicos não é calculada, pois os métodos para execução dos ensaios não fazem menção de expressão da incerteza e dos possíveis componentes desta. Em substituição, o controle do coeficiente de variação dos valores de sensibilidade para cada carta controle de organismo teste é realizado. Foi estabelecido um coeficiente de variação máximo da carta controle de 30%;
- Na realização de ensaios ecotoxicológicos, os termos Limites de Quantificação Praticáveis pelo laboratório, Valores Máximos Permitidos e Limite de Detecção do Método, não são aplicáveis.

## IDENTIFICAÇÃO DA AMOSTRA

CLIENTE	APLYSIA
Água de produção – OSX1 – (Overboard)	00771/2015

## DADOS REFERENTES À AMOSTRA

Identificação	Data de coleta	Hora da Coleta	Data de entrada no Lab	Matriz	Volume amostrado
00771/2015	23/06/2015	07h00min	03/07/2015	OT	3L

Responsável pela coleta da amostra: CONTRATANTE  
Determinação dos pontos de coleta por: CONTRATANTE

**Obs.:** OT – outros, matriz OT para água bruta.



## RESULTADOS DO ENSAIO COM *Lytechinus variegatus*

Amostra	CENO(I)%	CEO(I)%	VC%	Data do início do ensaio	Hora do início do ensaio	Data do final do ensaio
00771/2015	1,56	3,13	2,20	16/07/2015	11h30min	17/07/2015

**CENO(I):** Maior concentração real da amostra que não causa efeito deletério estatisticamente significativo no desenvolvimento embrionário dos organismos, nas condições de ensaio;

**CEO(I):** Menor concentração real da amostra que causa efeito deletério estatisticamente significativo no desenvolvimento embrionário dos organismos, nas condições de ensaio;

**VC:** Média geométrica da CENO(I) e CEO(I).

## SENSIBILIDADE DOS ORGANISMOS-TESTE AO Zn<sup>2+</sup>

Data final do ensaio – 17/07/2015

**Resultado – Clp(I)50%(24h) e Intervalo de Confiança** 0,1831 mg/L (0,1821 mg/L – 0,1841 mg/L)

**Intervalo de sensibilidade esperado Clp(I)50%** 0,172 mg/L – 0,190 mg/L

**Clp(I)50% (24h):** concentração da amostra que causa efeito a 50% dos organismos em 24 horas de exposição, nas condições de ensaio.

## CONCLUSÃO

A amostra apresentou ecotoxicidade crônica para o ouriço *L. variegatus* nas condições de ensaio, em relação aos resultados de CENO e CEO encontrados.

## DADOS BRUTOS DO ENSAIO

**Tabela 1 - Número de larvas normais, obtido no controle e no ensaio com amostra**

CONTROLE												
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10	Média	D. Padrão
Controle	85	86	87	84	83	86	87	85	88	87	85,80	1,55
00771/2015												
Conc.(%)	R1	R2	R3	R4	Média	D. Padrão						
0,19	92	93	91	92	92,00	0,82						
0,39	90	88	91	90	89,75	1,26						
0,78	88	89	90	87	88,50	1,29						
1,56	88	86	89	90	88,25	1,71						
3,13	15	9	6	11	10,25	3,77						



**Tabela 2 - Variáveis físicas e químicas obtidas no ensaio com amostra**

<b>CONTROLE</b>						
	<b>Salinidade</b>		<b>OD (mg/L)</b>		<b>pH</b>	
	<b>Inicial</b>	<b>Final</b>	<b>Inicial</b>	<b>Final</b>	<b>Inicial</b>	<b>Final</b>
<b>Controle</b>	37	38	6,1	5,5	7,82	7,89
<b>00771/2015</b>						
<b>Conc. (%)</b>	<b>Salinidade</b>		<b>OD (mg/L)</b>		<b>pH</b>	
	<b>Inicial</b>	<b>Final</b>	<b>Inicial</b>	<b>Final</b>	<b>Inicial</b>	<b>Final</b>
<b>0,19</b>	39	41	6,3	5,5	7,75	7,58
<b>0,39</b>	39	41	5,9	5,4	7,74	7,62
<b>0,78</b>	39	41	6,1	5,3	7,74	7,58
<b>1,56</b>	39	41	5,9	5,2	7,72	7,55
<b>3,13</b>	41	43	5,8	4,9	7,68	7,42

**Medição das variáveis:** salinidade, OD (oxigênio dissolvido) e pH devem ser registrados no início e ao final do ensaio no controle e em todas as concentrações da amostra testada.

**Memória de cálculos**

*Lytechinus variegatus*

**Amostra 00771/2015**

Title: 771  
File: 771 Transform: NO TRANSFORMATION

Shapiro - Wilk's Test for Normality

D = 84.8500  
W = 0.9723

Critical W = 0.9000 (alpha = 0.01 , N = 30)  
W = 0.9270 (alpha = 0.05 , N = 30)

Data PASS normality test (alpha = 0.01). Continue analysis.



Title: 771  
File: 771 Transform: NO TRANSFORMATION

Bartlett's Test for Homogeneity of Variance

Calculated B1 statistic = 8.5615 (p-value = 0.1279)

Data PASS B1 homogeneity test at 0.01 level. Continue analysis.

Critical B = 15.0863 (alpha = 0.01, df = 5)  
= 11.0705 (alpha = 0.05, df = 5)

Using Average Degrees of Freedom  
(Based on average replicate size of 5.00)

Calculated B2 statistic = 11.0083 (p-value = 0.0512)

Data PASS B2 homogeneity test at 0.01 level. Continue analysis.

Title: 771  
File: 771 Transform: NO TRANSFORMATION

ANOVA Table

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	5	21164.5167	4232.9033	1197.2856
Within (Error)	24	84.8500	3.5354	
Total	29	21249.3667		

(p-value = 0.0000)

Critical F = 3.8951 (alpha = 0.01, df = 5,24)  
= 2.6207 (alpha = 0.05, df = 5,24)

Since F > Critical F REJECT Ho: All equal (alpha = 0.05)

Title: 771  
File: 771 Transform: NO TRANSFORMATION

Bonferroni t-Test - TABLE 1 OF 2 Ho: Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	t STAT	SIG 0.05
1	Controle	85.8000	85.8000		
2	0.19	92.0000	92.0000	-5.5736	
3	0.39	89.7500	89.7500	-3.5509	
4	0.78	88.5000	88.5000	-2.4272	
5	1.56	88.2500	88.2500	-2.2025	
6	3.13	10.2500	10.2500	67.9173	*



-----  
Bonferroni t critical value = 2.4922 (1 Tailed, alpha = 0.05, df = 5,24)  
-----

Title: 771  
File: 771 Transform: NO TRANSFORMATION

Bonferroni t-Test - TABLE 2 OF 2 Ho: Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	NUM OF REPS	MIN SIG DIFF (IN ORIG. UNITS)	% OF CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1	Controle	10			
2	0.19	4	2.7722	3.2	-6.2000
3	0.39	4	2.7722	3.2	-3.9500
4	0.78	4	2.7722	3.2	-2.7000
5	1.56	4	2.7722	3.2	-2.4500
6	3.13	4	2.7722	3.2	75.5500



# Cadeia de Custódia

Cliente: Bioagri Projeto: BGR-TOX-09-15  
 Contato: Thais Pinheiro - thais.pinheiro@cmzents.com Fone: (21) 2569.8216  
 Responsável pela coleta: Cliente da Bioagri

Legenda para preenchimento do Campo Matriz

AS - Água Subterrânea
A - Água Superficial
E - Efluente
Sd - Sedimento
S - Solo
AM - Água do Mar
PQ - Produto Químico
BI - Biológico
AI - Água Intersticial
OT - Outros

Identificação da Amostra APL YSIA	Nome da amostra/ Nome do Ponto	Data Coleta	Hora	Matriz	Vol. de Amostra	Nº Frascos	T °C Receb.	Análises Requeridas:	Par. medidos in Situ
007712015	Água de Produção - OSX1 - (Overhead)	23/06/15	09:00	OT	3L	1	9°	Atividade microbiana	
/									

Recebimento FISPQ para PQ:  Sim  Não  
 Recebido por: Hellyne Hora: 12:20 Data: 03/07/15  
 Condições dos frascos na recepção:  Intactos  Danificados Armazenamento:  Geladeira: APLY  Freezer: APLY 060 Ambiente  
 Condições climáticas da coleta:  Chuva nas últimas 24h  Chuva no momento da coleta Céu Aberto  Céu nublado

**Obs.:** matriz: água bruta.  
 Cadeia enviada a pedido do cliente.

Despachado por: \_\_\_\_\_ Hora: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_ Resp pela retirada: \_\_\_\_\_  
 Local de despacho: \_\_\_\_\_ Meio de Transporte: \_\_\_\_\_  
 Número das Amostras Despachadas: \_\_\_\_\_

CADEIA Nº 05512015