

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:	490/2015

MÉTODOS UTILIZADOS

Ensaio de ecotoxicidade	NORMA ABNT – NBR 15350 Método de ensaio com ouriço-do-mar (Echinodermata: Echinoidea), 2012.
Preservação e preparo de amostras	NORMA ABNT NBR 15469 – Ecotoxicologia Aquática preservação e preparo de amostras, 2007.
Análise Estatística	USEPA – 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. USEPA – 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	Wilcoxon's Rank Sum 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>
Responsável Técnico: Dr^a 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 DAS AMOSTRAS

CLIENTE	APLYSIA
44445954 – 108450/2015 – Água de produção – OSX 3 (Overboard) – Entrada do Flotador (Hidro)	00484/2015
44445955 – 108446/2015 – Água de Produção – OSX 3 (Overboard) – Saída do Flotador	00485/2015
4445956 – 106903/2015 – Água de Produção – OSX 3 (Overboard)	00486/2015

DADOS REFERENTES ÀS AMOSTRAS

Identificação	Data de coleta	Hora da Coleta	Data de entrada no Lab	Matriz	Volume amostrado
00484/2015	28/04/2015	06h30min	08/05/2015	OT	5L
00485/2015	28/04/2015	06h30min	08/05/2015	OT	5L
00486/2015	28/04/2015	06h30min	08/05/2015	OT	5L

Responsável pela coleta das amostras: CONTRATANTE
Determinação dos pontos de coleta por: CONTRATANTE

Obs.: Ensaio realizado com autorização do cliente, conforme e-mail anexado a cadeia de custódia.

Legenda: OT – água bruta.



RESULTADOS DOS ENSAIOS COM *Lytechinus variegatus*

Amostra	CENO(I)%	CEO(I)%	VC%	Data do início do ensaio	Hora do início do ensaio	Data do final do ensaio
00484/2015	0,78	1,56	1,10	16/06/2015	12h00min	17/06/2015
00485/2015	0,78	1,56	1,10	16/06/2015	12h00min	17/06/2015
00486/2015	0,04	0,09	0,06	16/06/2015	12h00min	17/06/2015

CENO(I): Maior concentração real da amostra que não causa efeito deletério estatisticamente significativo no desenvolvimento embriolarval dos organismos, nas condições de ensaio;
 CEO(I): Menor concentração real da amostra que causa efeito deletério estatisticamente significativo no desenvolvimento embriolarval dos organismos, nas condições de ensaio;
 VC: Média geométrica da CENO(I) e CEO(I).

SENSIBILIDADE DOS ORGANISMOS-TESTE AO Zn²⁺

Data final do ensaio – 17/06/2015

**Resultado – Clp(I)50%(24h)
e Intervalo de Confiança**

0,1837 mg/L (0,1829 mg/L – 0,1847 mg/L)

**Intervalo de sensibilidade
esperado Clp(I)50%**

0,171 mg/L – 0,189 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

As amostras apresentaram ecotoxicidade crônica para o ouriço *L. variegatus* nas condições de ensaio, em relação aos resultados de CENO e CEO encontrados.



DADOS BRUTOS DOS ENSAIOS

Tabela 1 - Número de larvas normais, obtido no controle e nos ensaios com amostras

CONTROLE												
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10	Média	D. Padrão
Controle	88	91	89	92	88	89	92	87	91	86	89,30	2,11
00484/2015												
Conc.(%)	R1	R2	R3	R4	Média	D. Padrão						
0,39	92	93	91	93	92,25	0,96						
0,78	88	85	90	89	88,00	2,16						
1,56	66	71	73	75	71,25	3,86						
3,13	0	0	0	0	0,00	0,00						
6,25	0	0	0	0	0,00	0,00						
00485/2015												
Conc.(%)	R1	R2	R3	R4	Média	D. Padrão						
0,39	93	91	94	92	92,50	1,29						
0,78	92	90	91	89	90,50	1,29						
1,56	72	65	69	75	70,25	4,27						
3,13	0	0	0	0	0,00	0,00						
6,25	0	0	0	0	0,00	0,00						
00486/2015												
Conc.(%)	R1	R2	R3	R4	Média	D. Padrão						
0,04	86	88	90	89	88,25	1,71						
0,09	0	0	0	0	0,00	0,00						
0,19	0	0	0	0	0,00	0,00						
0,39	0	0	0	0	0,00	0,00						
0,78	0	0	0	0	0,00	0,00						



Tabela 2 - Variáveis físicas e químicas obtidas nos ensaios com amostras

CONTROLE						
	Salinidade		OD (mg/L)		pH	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	37	39	5,9	5,5	8,14	7,81
00484/2015						
Conc. (%)	Salinidade		OD (mg/L)		pH	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
0,39	40	40	5,8	5,6	8,13	7,71
0,78	41	41	5,8	3,9	8,11	7,43
1,56	44	44	5,9	3,9	8,08	7,57
3,13	45	46	5,8	3,8	8,02	7,60
6,25	48	48	5,9	4,4	7,91	7,55
00485/2015						
Conc. (%)	Salinidade		OD (mg/L)		pH	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
0,39	40	40	6,0	5,4	8,13	7,49
0,78	40	40	5,7	5,3	8,10	7,63
1,56	43	43	5,8	4,2	8,08	7,56
3,13	44	44	6,1	3,9	8,01	7,77
6,25	49	50	5,9	3,1	7,89	7,11
00486/2015						
Conc. (%)	Salinidade		OD (mg/L)		pH	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
0,04	37	38	6,0	5,3	8,10	7,82
0,09	40	40	6,2	5,1	8,12	7,82
0,19	40	41	6,0	5,1	8,14	7,82
0,39	40	41	5,9	4,9	8,14	7,79
0,78	42	42	5,8	4,7	8,13	7,88

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 00484/2015

Title: 484
File: 484 Transform: NO TRANSFORMATION

Shapiro - Wilk's Test for Normality

D = 101.6000
W = 0.9422

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: 484
File: 484 Transform: NO TRANSFORMATION

Hartley's Test for Homogeneity of Variance
Bartlett's Test for Homogeneity of Variance

Data FAIL to meet homogeneity of variance assumption.
Additional transformations are useless.

Title: 484
File: 484 Transform: NO TRANSFORMATION

Wilcoxon's Rank Sum Test w/ Bonferroni Adjustment Ho: Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	MEAN IN ORIGINAL UNITS	RANK SUM	CRIT. VALUE	REPS	SIG 0.05
1	controle	89.3000				
2	0.39	92.2500	46.00	13	4	
3	0.78	88.0000	24.00	13	4	
4	1.56	71.2500	10.00	13	4	*
5	3.13	0.0000	10.00	13	4	*
6	6.25	0.0000	10.00	13	4	*

Critical values are 1 tailed (k = 5)





Amostra 00485/2015

Title: 485
 File: 485 Transform: NO TRANSFORMATION

Shapiro - Wilk's Test for Normality

D = 104.8500
 W = 0.9552

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: 485
 File: 485 Transform: NO TRANSFORMATION

Hartley's Test for Homogeneity of Variance
 Bartlett's Test for Homogeneity of Variance

Data FAIL to meet homogeneity of variance assumption.
 Additional transformations are useless.

Title: 485
 File: 485 Transform: NO TRANSFORMATION

Wilcoxon's Rank Sum Test w/ Bonferroni Adjustment Ho: Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	MEAN IN ORIGINAL UNITS	RANK SUM	CRIT. VALUE	REPS	SIG 0.05
1	controle	89.3000				
2	0.39	92.5000	46.00	13	4	
3	0.78	90.5000	37.00	13	4	
4	1.56	70.2500	10.00	13	4	*
5	3.13	0.0000	10.00	13	4	*
6	6.25	0.0000	10.00	13	4	*

Critical values are 1 tailed (k = 5)





Amostra 00486/2015

Title: 486
 File: 486 Transform: NO TRANSFORMATION

Shapiro - Wilk's Test for Normality

D = 48.8500
 W = 0.8566

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

Data FAIL normality test (alpha = 0.01). Try another transformation.

Title: 486
 File: 486 Transform: NO TRANSFORMATION

Wilcoxon's Rank Sum Test w/ Bonferroni Adjustment Ho: Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	MEAN IN ORIGINAL UNITS	RANK SUM	CRIT. VALUE	REPS	SIG 0.05
1	controle	89.3000				
2	0.04	88.2500	24.50	13	4	
3	0.09	0.0000	10.00	13	4	*
4	0.19	0.0000	10.00	13	4	*
5	0.39	0.0000	10.00	13	4	*
6	0.78	0.0000	10.00	13	4	*

Critical values are 1 tailed (k = 5)

