



# Influência dos Parâmetros Físico-químicos na Ecotoxicidade de Metais Pesados em Efluentes Industriais

Vinícius Valle Vianna Pinto

## Monografia em Química Industrial

Orientadores

Prof. Juacyara Carbonelli Campos, D.Sc.

Sarah Dario Alves Daflon, D.Sc.

Setembro de 2017

# **INFLUÊNCIA DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS NA ECOTOXICIDADE DE METAIS PESADOS EM EFLUENTES INDUSTRIAIS**

***Vinícius Valle Vianna Pinto***

Monografia em Química Industrial submetida ao Corpo Docente da Escola de Química, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Químico Industrial.

Aprovado por

---

Silvia Gonçalves Egler, M.Sc

---

Alyne Moraes Costa, M.Sc

---

Isabelli do Nascimento Dias, D.Sc

Orientado por

---

Juacyara Carbonelli Campos, D.Sc

---

Sarah Dario Alves Daflon, D.Sc

Rio de Janeiro, RJ – Brasil

Setembro de 2017

Pinto, Vinícius Valle Vianna.

Influência dos parâmetros físico-químicos na ecotoxicidade de metais pesados em efluentes industriais/ Vinícius Valle Vianna Pinto, Rio de Janeiro: UFRJ/EQ, 2017.

xi, 86 p.; il.

(Monografia) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, 2017.

Orientadores: Juacyara Carbonelli Campos e Sarah Dario Alves Daflon

1. Ecotoxicidade. 2. Metais. 3. Efluentes Industriais. 4. Monografia. (Graduação – UFRJ/EQ). 5. Juacyara Carbonelli Campos. 6. Sarah Dario Alves Daflon. I. Título.

*“Lembre-se de que há três coisas que todo sábio teme: o mar na tormenta, uma noite sem luar e a ira de um homem gentil.”*

*Patrick Rothfuss, O Temor do Sábio (The Wise Man’s Fear)*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar à minha família, sem a qual eu não teria o amparo, o exemplo e o apoio para chegar até aqui. À minha mãe, Zilair, pela cobrança e carinho, e por ser minha amiga acima de tudo. Ao meu pai, Roberto, por sempre ter acreditado em mim e investido na minha formação. E ao meu irmão, por me divertir e me distrair quando necessário.

Agradeço aos meus amigos, pois sem eles eu não teria a confiança necessária em mim mesmo para finalizar esse projeto e muitos outros. Em especial, agradeço aos meus irmãos de coração: Rafael, que o tempo inteiro foi um porto seguro na faculdade e que me ajudou infinitamente, não só com esse projeto, mas com toda a minha vida; Rodrigo, que me sedeu não só um teto, mas também atenção de vez em quando; e Gabriel, que disse o tempo todo que eu ia conseguir, mesmo nas noites viradas.

Também gostaria de agradecer muito às minhas orientadoras. À professora Juacyara, por ter se tornado não só minha orientadora deste projeto, mas também de toda a minha vida acadêmica e me ajudado a retomá-la. E à Sarah, por toda a paciência, atenção, disposição e ensinamentos na confecção deste trabalho.

Agradeço aos meus padrinhos, Ricardo e Alvanete, por todo o incentivo desde criança e por serem um exemplo de inteligência e sucesso.

Por fim, gostaria de agradecer a todos os escritores que já passaram pela minha vida. O gosto pela leitura certamente me ajudou a escrever e a buscar eternamente o conhecimento.

Resumo da Monografia apresentada à Escola de Química como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de Químico Industrial.

## **INFLUÊNCIA DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS NA ECOTOXICIDADE DE METAIS PESADOS EM EFLUENTES INDUSTRIAIS**

Vinícius Valle Vianna Pinto

Setembro, 2017

Orientadores: Prof. Juacyara Carbonelli Campos, D.Sc.

Sarah Dario Alves Daflon, D.Sc.

Os efluentes industriais são uma das principais fontes de poluição do ecossistema aquático e em muitos destes efluentes os principais agentes tóxicos presentes são os metais pesados. A legislação ambiental, nacional e de diversos países, estabelece limites máximos da concentração de metais para o descarte de efluentes e para a manutenção da vida nos corpos hídricos. No entanto, a ecotoxicidade dos metais é muito influenciada pelos aspectos físico-químicos do meio no qual eles encontram-se inseridos. O presente trabalho teve como objetivo analisar como estes parâmetros físico-químicos afetam a ecotoxicidade dos metais pesados nos efluentes industriais. Para tanto, foi feito um levantamento de ensaios ecotoxicológicos de alguns metais para organismos de diferentes níveis tróficos como forma de verificar a ação dos mesmos nos organismos-teste. Em seguida, foi analisado como os parâmetros físico-químicos pH, dureza, alcalinidade, salinidade e matéria orgânica dissolvida afetavam a ecotoxicidade destes metais em solução aquosa. Então, os aspectos legais de descarte de efluentes e qualidade das águas foi revisado tanto para o âmbito nacional quanto dos EUA, Canadá e países do continente europeu. Por fim, foi estudada a ecotoxicidade dos metais pesados em efluentes industriais, sendo que a indústria de eletrônicos e galvanoplastia se destacou como a que mais apresentava metais como principal agente tóxico de seus efluentes. Dentre os níveis tróficos, conclui-se no trabalho que, em geral, os microcrustáceos são mais sensíveis aos metais que outros organismos-teste, enquanto que bactérias tendem a apresentar tolerância. Os parâmetros físico-químicos afetam a toxicidade dos metais de forma bastante variada, dependendo da espécie do metal, do organismo e de efeitos sinérgicos ou antagônicos. Esta influência deve ser levada em consideração, pois a ecotoxicidade de um efluente com metais pesados pode ser subestimada, gerando impacto ambiental não previsto, ou mesmo superestimada, gerando custo para as indústrias. Concluiu-se ainda que a legislação nacional se encontra incompleta quando comparada com a dos países citados, apresentando limites elevados que podem ainda ser tóxicos para organismos mais sensíveis.

## ÍNDICE

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVO GERAL</b> .....	<b>3</b>
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	3
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>4</b>
3.1 ECOTOXICOLOGIA AQUÁTICA .....	4
<b>3.1.1 Conceitos</b> .....	<b>4</b>
<b>3.1.2 Organismos-teste utilizados em ensaios de toxicidade</b> .....	<b>7</b>
<b>3.1.3 Tipos de ensaio de toxicidade</b> .....	<b>10</b>
<b>3.1.4 Sistemas de exposição</b> .....	<b>11</b>
<b>3.1.5 Expressão de resultados</b> .....	<b>11</b>
3.2 MODELOS REPRESENTATIVOS DA ECOTOXICIDADE DE METAIS.....	13
<b>3.2.1 FIAM (Free Ion Activity Model)</b> .....	<b>14</b>
<b>3.2.2 GSIM (Gill Surface Interaction Model)</b> .....	<b>16</b>
<b>3.2.3 BLM (Biotic Ligand Model)</b> .....	<b>17</b>
<b>4. ECOTOXICIDADE DE METAIS PESADOS EM SOLUÇÃO AQUOSA PARA DIFERENTES NÍVEIS TRÓFICOS</b> .....	<b>19</b>
4.1 ALGAS .....	19
4.2 CRUSTÁCEOS .....	22
4.3 PEIXES.....	24
4.4 BACTÉRIAS.....	28
4.5 COMPARAÇÃO DA ECOTOXICIDADE DE METAIS EM RELAÇÃO AOS DIFERENTES NÍVEIS TRÓFICOS.....	31
<b>5. PRINCIPAIS FATORES FÍSICO-QUÍMICOS QUE INFLUENCIAM NA ECOTOXICIDADE DE METAIS</b> .....	<b>35</b>
5.1 pH.....	35
5.2 SALINIDADE .....	40
5.3 ALCALINIDADE E DUREZA.....	42
5.4 MATÉRIA ORGÂNICA DISSOLVIDA (MOD).....	49
5.5 ASPECTO GERAL .....	55
<b>6. ECOTOXICIDADE DE METAIS PESADOS EM EFLUENTES INDUSTRIAIS</b> .....	<b>56</b>
<b>7. ASPECTOS LEGAIS RELACIONADOS AO LANÇAMENTO DE EFLUENTES LÍQUIDOS E TOXICIDADE</b> .....	<b>62</b>
7.1 LEGISLAÇÃO NACIONAL.....	62
7.2 LEGISLAÇÃO INTERNACIONAL.....	69
<b>8. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>73</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>75</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Conceituação de ecologia, toxicologia e ecotoxicologia.....	4
Figura 2 - Diferenças entre a toxicologia clássica e a ecotoxicologia.....	5
Figura 3 - Sequência de etapas compreendidas pela ecotoxicologia, denominada cadeia de causalidade.....	6
Figura 4 - Representação de três níveis tróficos de uma cadeia alimentar aquática. ....	8
Figura 5 - Curva dose-resposta modelo. ....	12
Figura 6 - Porcentagem de efeito observado por concentração de $\text{Cu}^{2+}$ (à esquerda) e de Cu total (à direita) com e sem EDTA. ....	15
Figura 7 - Esquema representativo do BLM como uma combinação de efeitos químicos e fisiológicos.....	17
Figura 8 - Efeito no crescimento celular em função da concentração de Cu (A) e Zn (B). Os símbolos representam diferentes valores de pH. ....	20
Figura 9 - Saturação de $\text{Cd}^{2+}$ nos canais de cálcio na membrana.....	23
Figura 10 - CL50 do Zn (a), Cd (b) e Cu (c) em função do tempo de exposição para três valores de pH. ....	26
Figura 11 - Tempo de sobrevivência médio em dias por concentração de cádmio para diferentes espécies de peixes: <i>Tilapia aurea</i> (A), <i>Cyprinus carpio</i> (B), <i>Noemacheilus barbatulatus</i> (C) (SOLBE e FLOOK <i>apud</i> ABEL e PAPOUTSOGLOU, 1986), <i>Gasterosteus aculeatus</i> (D) (PASCOE e CRAM <i>apud</i> ABEL e PAPOUTSOGLOU, 1986) e <i>Salmo gairdneri</i> (BALL <i>apud</i> ABEL e PAPOUTSOGLOU, 1986). ....	27
Figura 12 - Representação dos mecanismos de absorção e transformação de cobre por <i>Escherichia coli</i> . São mostrados os principais mecanismos de homeostase da bactéria. ....	29
Figura 13 - Esquema da competição entre o $\text{Cu}^{2+}$ e o $\text{H}^+$ pelo canal da membrana, provocando redução da toxicidade do metal em pH baixo. ....	37
Figura 14 - Efeito do pH na toxicidade aguda de Cu (círculo) e Zn (quadrado) para <i>C. dubia</i> . ...	37
Figura 15 - Variação da CL50 do zinco pela dureza em diferentes valores de pH para <i>Salmo gairdneri</i> . ....	39
Figura 16 - Principais modelos de variação da toxicidade com o pH propostos por Wang.....	39
Figura 17 - Acumulação do Ni em brânquias de <i>C. variegatus</i> em água doce (acima) e salgada (abaixo).....	41
Figura 18 - Competição entre íons cálcio e zinco pelo canal na membrana celular. ....	43
Figura 19 - Variação da CL50 do Cu para <i>C. dubia</i> (A) e <i>P. promelas</i> (B) com a dureza. ....	45
Figura 20 - Variação da toxicidade do Cu em função da dureza: acréscimo de Ca (quadrado), acréscimo de Mg (losango), acréscimo de uma proporção 2 Ca:1 Mg (círculo) e CE50 da solução original (triângulo).....	46
Figura 21 - Variação da CL50 do Cu com a dureza baseada no cobre total dissolvido. ....	46
Figura 22 - Variação da CE50 do $\text{Ni}^{+2}$ em função da dureza. Em (A) com acréscimo apenas de cálcio e em (B) com acréscimo apenas de magnésio. ....	47
Figura 23 - Unidades tóxicas (TU) por mortalidade em água mole (círculo cheio) e dura (círculo vazio). ....	48
Figura 24 - Variação da CE50 de Cu (círculo cheio) e Zn (círculo vazio) para <i>C. dubia</i> com a concentração de MOD. ....	50
Figura 25 - Variação da CL50 do Cu para <i>P. promelas</i> em função da adição de MOD. Círculos e quadrados representam diferentes grupos de teste. ....	50



Figura 26 - Variação da CE50 do Ni para <i>D. pulex</i> em função da concentração de MOD. Triângulos representam NRNOM e círculos SRNOM. ....	51
Figura 27 - Variação da CL50 do Cu e do Cd para <i>D. magna</i> em função da concentração de MOD. Em cima, base de metal total e em baixo, base de íon livre do metal. ....	52
Figura 28 - Variação da CL50 do Cu para <i>B. plicatilis</i> em função da concentração de MOD para várias salinidades. Letras diferentes significam diferença nos valores de CL50 para cada salinidade. ....	53
Figura 29 - Variação da CE10 crônico do Zn para <i>D. magna</i> calculado via modelo baseado no BLM. Diferentes símbolos indicam diferentes concentrações de MOD. ....	54
Figura 30 - Mortalidade e concentração da amostra em porcentagem, sendo 100% equivalente a 45 µg.L <sup>-1</sup> de Níquel.....	61

## ÍNDICE DE QUADROS

<b>Quadro 1</b> - Normas referentes aos ensaios de toxicidade publicadas pela CETESB e ABNT.....	7
<b>Quadro 2</b> - Exemplos de espécies utilizadas em ensaios ecotoxicológicos pelo mundo.....	9
<b>Quadro 3</b> - Espécies mais utilizadas em ensaios ecotoxicológicos no Brasil. ....	9
<b>Quadro 4</b> - Principais formas de expressão de resultados em ensaios ecotoxicológicos.....	13
<b>Quadro 5</b> - Aspectos físico-químicos e sua influência geral na ecotoxicidade dos metais.....	55

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Classificação da água de acordo com a dureza expressa em mg CaCO <sub>3</sub> .L <sup>-1</sup> . .....	10
<b>Tabela 2</b> - Efeito de diferentes metais em cepas com e sem parede celular da alga <i>C. reinhardtii</i> . .....	20
<b>Tabela 3</b> - CENO, CEO e CE50 (em µg.L-1) de diferentes metais para alga <i>Clorella sp.</i> .....	22
<b>Tabela 4</b> - Comparação entre a CE50;15min para <i>A. fischeri</i> obtida por Mansour et al. e outros estudos da literatura. ....	31
<b>Tabela 5</b> - CL50 de 4 espécies de organismos-teste em três faixas de pH diferentes para zinco, cobre, níquel, chumbo e cádmio. ....	32
<b>Tabela 6</b> - Tabela comparativa de sensibilidades de diferentes níveis tróficos aos metais abordados no trabalho (cobre, zinco, chumbo, níquel e cádmio). ....	34
<b>Tabela 7</b> - Especiação do cobre e do zinco em água mole sintética para três valores de pH à temperatura ambiente. ....	38
<b>Tabela 8</b> - Fatores de inibição na absorção de metais traços por <i>H. depressa</i> e <i>V. ambiguus</i> ajustados pelo fator de aumento na absorção de Ca. ....	44
<b>Tabela 9</b> - Limites máximos de metais para o lançamento de efluentes segundo o CONAMA 430/2011 e limites de metais na qualidade das águas segundo CONAMA 357/2005. ....	62
<b>Tabela 10</b> - Limites de metais na legislação estadual para lançamento de efluentes no Rio de Janeiro. ....	64
<b>Tabela 11</b> - Limites máximos de toxicidade aguda por atividade industrial em Santa Catarina. 66	
<b>Tabela 12</b> - Prazos para redução da toxicidade de efluentes líquidos industriais de acordo com a Resolução CONSEMA Nº 129/2006. ....	68
<b>Tabela 13</b> – Comparação entre limites máximos de metais para lançamento de efluentes industriais em Minas Gerais e na legislação federal. ....	69
<b>Tabela 14</b> - Limites de efluentes para indústria de fundição de metais para Best Practicable Control Technology (BPT). ....	70
<b>Tabela 15</b> - Limites de toxicidade de alguns metais segundo o WQC. ....	71
<b>Tabela 16</b> - Limites da concentração de metais segundo os WQG's canadenses e segundo a legislação brasileira. ....	72
<b>Tabela 17</b> - Características físico-químicas e ecotoxicológicas dos efluentes de indústria de fabricação de chapas metálicas. ....	57
<b>Tabela 18</b> - Concentração de alguns metais em diferentes efluentes de várias atividades industriais. ....	58

## 1. INTRODUÇÃO

Gadd e Griffiths (1978) definem metais pesados como um grupo de aproximadamente 40 elementos que possuem massa específica superior a 5. Uma característica importante dos metais pesados é que muitos são essenciais para o crescimento dos organismos em pequenas quantidades, porém se tornam tóxicos quando se acumulam nas células, principalmente por sua capacidade de desnaturação de proteínas (GADD e GRIFFITHS, 1978).

A toxicidade dos metais é, em geral, resultante da combinação de fatores como sua solubilidade, biodisponibilidade e ação tóxica em nível celular (SCHUBAUER-BERINGAN et al., 1993b). Schubauer-Beringan et al. (1993b) ainda destacam que, dentre estes três fatores, a biodisponibilidade é o mais variável, afetada por diferentes aspectos da água em questão e que uma maneira de determinar a biodisponibilidade de metais em amostras aquosas é a determinação de sua especiação, baseando-se na teoria de que apenas íons livres de metais são biodisponíveis. Esta estratégia pode gerar equações determinadas empiricamente que correlacionam fatores físico-químicos, como dureza e alcalinidade, com a toxicidade dos metais (SCHUBAUER-BERINGAN et al., 1993b).

Wang (2013) afirma que a interface entre a biologia e a química dos metais é uma das mais importantes e desafiadoras áreas de estudo da ciência ambiental atualmente. O autor sugere que, nos últimos anos, as pesquisas e o entendimento da ecotoxicidade de metais levou a três conclusões muito importantes:

- a especiação dos metais pode afetar significativamente sua toxicidade e modelos físico-químicos que descrevem esta interação vem sendo desenvolvidos, desde alguns mais simples de contribuição majoritariamente teórica, até alguns atuais mais robustos que apresentam grande potencial prático;
- os metais podem interagir com diferentes sítios nos organismos, sendo metabolizados de diferentes maneiras. Esta interação complexa entre metal e organismo torna difícil ligar diretamente a concentração do metal nos tecidos e sua efetiva toxicidade, além de prejudicar a generalização dos mecanismos de ação dos metais para organismos distintos;
- critérios de qualidade das águas atuais podem não ser suficientes para proteger muitos organismos do ecossistema aquático, por não levarem em consideração estes aspectos na determinação da toxicidade dos metais;

A Austrália e a Nova Zelândia, em 2005, haviam incorporado a especiação de metais a seus critérios de qualidade das águas, mediante equações de correção pela dureza, enquanto países como Estados Unidos e Canadá possuem critérios de qualidade das águas baseados em dureza há mais tempo e hoje caminham para a incorporação de modelos mais robustos que levam em consideração outros aspectos físico-químicos, como o *Biotic Ligand Model* (HYNE et al., 2005).

Apesar de metais pesados ocorrerem naturalmente, em pequenas concentrações, no ambiente aquático de uma forma geral, a maior parte do problema ecotoxicológico gerado por eles é decorrente de atividades humanas como a mineração, siderurgia e diversos outros setores industriais, com destaque para a indústria de eletrônicos, processamento de metais em

refinarias, queima de combustíveis em termoelétricas, produção de plástico e a indústria de papel e celulose (TCHOUNWOU et al., 2012).

Dentre as maiores fontes de poluição do ambiente aquático encontram-se os lançamentos de efluentes líquidos domésticos e industriais sem o devido tratamento (SCHUBAUER-BERINGAN et al., 1993b). Segundo Zagatto e Bertoletti (2008), efluentes são extremamente complexos em sua composição físico-química, e são fontes de grande diversidade de poluentes para o ambiente aquático. Métodos de análise química convencionais podem não ser suficientes para garantir que efluentes contendo metais e alguns compostos orgânicos não vão produzir efeito tóxico nos organismos dos corpos receptores (SOUPILAS, 2008).

Tendo em vista a complexidade causada pela interação dos agentes químicos, os efeitos biológicos desses efluentes não podem ser caracterizados simplesmente por análises químicas tradicionais sendo necessário para o controle do descarte destes efluentes analisar não só seus componentes e sua ação tóxica individual, mas também os aspectos gerados por estas interações (ZAGATTO e BERTOLETTI, 2008). Seria analítica e economicamente inviável detectar, identificar e quantificar todas as substâncias presentes em efluentes industriais, mesmo que legalmente exista padrões de emissão individuais para cada uma delas (COSTA et al., 2008).

Países como Estados Unidos e Canadá já utilizam ensaios ecotoxicológicos e padrões de toxicidade dos efluentes para regular o descarte dos mesmos (CANADÁ, 2012; ESTADOS UNIDOS DA AMÉRICA, 2017). Nos Estados Unidos e União Europeia, a legislação para o descarte de efluentes também leva em conta o setor da atividade industrial e a melhor tecnologia de remoção da toxicidade no momento, de modo a promover um balanço entre a proteção ambiental e o fator econômico (UNIÃO EUROPEIA, 2010; ESTADOS UNIDOS DA AMÉRICA, 2017). Esforços para caracterização da toxicidade e redução da emissão de metais em efluentes podem ser observados em países como China e Coreia do Sul (KIM et al., 2008; WANG et al., 2013).

A literatura mostra que o entendimento da toxicidade dos metais influenciada por fatores físico-químicos e as diferentes interações que podem ser observadas, por exemplo, em efluentes industriais, é um tópico que vem recebendo bastante atenção. Os resultados destes estudos podem ser importantes para a evolução do controle da qualidade das águas, do descarte de efluentes e para a elaboração de leis ambientais que sejam mais protetivas ao ecossistema aquático.

## 2. OBJETIVO GERAL

Avaliar de que forma certos parâmetros físico-químicos afetam a ecotoxicidade de metais pesados em efluentes industriais.

### 2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Levantar dados de ecotoxicidade aguda e crônica de diversos organismos-teste em soluções aquosas contendo diferentes metais;
- Levantar os principais fatores físico-químicos que influenciam a ecotoxicidade de metais em soluções aquosas e seus mecanismos de ação;
- Levantar os aspectos legais relacionados ao lançamento de efluentes líquidos e ecotoxicidade, comparando a legislação nacional e internacional;
- Avaliar a presença da ecotoxicidade relacionada aos metais em efluentes industriais e os métodos de medição desta toxicidade baseados em aspectos físico-químicos.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 ECOTOXICOLOGIA AQUÁTICA

##### 3.1.1 Conceitos

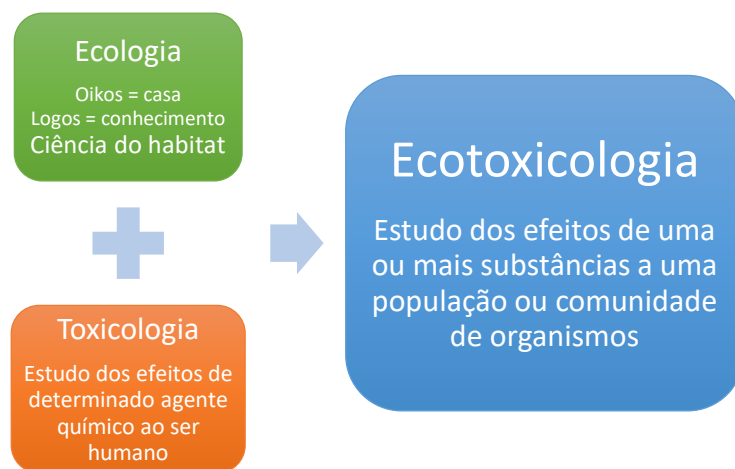
Toxicologia é a ciência que estuda os efeitos nocivos causados por substâncias químicas aos organismos vivos assim como o mecanismo de ação tóxica aos mesmos, enquanto a ecologia é a disciplina que se ocupa das relações entre os seres vivos e o ambiente (ZAGATTO e BERTOLETTI, Cap. 1, 2008). A toxicologia pode ser dividida em diversas áreas como: forense, farmacológica, ocupacional, ambiental, entre outras. A ecotoxicologia é, então, uma área especializada da toxicologia ambiental que estuda o efeito de agentes químicos e físicos nocivos sobre a dinâmica de populações e comunidades integrantes de ecossistemas definidos (COSTA et al., 2008).

A ecotoxicologia surgiu da associação de conhecimentos da área de toxicologia e ecologia e sua definição formal foi publicada em 1976 como sendo:

a ciência que estuda os efeitos das substâncias naturais ou sintéticas sobre os organismos vivos, populações e comunidades, animais ou vegetais, terrestres ou aquáticos, que constituem a biosfera, incluindo assim a interação das substâncias com o meio nos quais os organismos vivem num contexto integrado (ZAGATTO e BERTOLETTI, Cap. 1, 2008).

O termo ecotoxicologia muitas vezes é utilizado como sinônimo de toxicologia ambiental, no entanto esta segunda também se refere ao efeito de substâncias tóxicas do ambiente sobre os seres humanos (COSTA et al., 2008).

A Figura 1 apresenta o conceito de ecotoxicologia como uma junção dos conceitos de ecologia e toxicologia e a Figura 2 traz as principais diferenças entre a toxicologia clássica e a ecotoxicologia.



**Figura 1** - Conceituação de ecologia, toxicologia e ecotoxicologia.

Fonte: Adaptado de ZAGATTO E BERTOLETTI (Cap.1, 2008)

Toxicologia Clássica (mamíferos)	Ecotoxicologia
<ul style="list-style-type: none"> <li>•Objetivo: proteger a espécie de interesse (o homem).</li> <li>•Animais utilizados para proteção do homem: rato, camundongo, coelho, cobaia, etc.</li> <li>•Como a espécie de interesse é o homem, há menor grau de incerteza na extrapolação dos dados.</li> <li>•Os organismos-teste são homeotérmicos (temperatura do corpo uniforme), portanto a toxicidade é facilmente previsível.</li> <li>•A dose do agente químico é calculada e injetada diretamente no indivíduo.</li> <li>•Há muita pesquisa básica nessa área, sendo a ênfase maior dada à compreensão do mecanismo de ação.</li> <li>•Metodologia bem desenvolvida, sendo suas limitações e utilização bem conhecidas.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Objetivo: proteger as populações e comunidades (organismos aquáticos e terrestres).</li> <li>•Pode-se utilizar as próprias espécies que se pretende proteger.</li> <li>•Não é possível utilizar nos testes todas as espécies existentes, o que leva a um grau de incerteza maior.</li> <li>•A extrapolação dos dados de ecotoxicidade é mais difícil devido às variações dos fatores ambientais (pH, dureza da água, etc).</li> <li>•A concentração do agente químico no meio é variável.</li> <li>•Menor quantidade de pesquisas na área e a maior ênfase é dada à medida da concentração do agente químico no meio.</li> <li>•Métodos mais novos, alguns padronizados, outros ainda em desenvolvimento.</li> </ul>

**Figura 2** - Diferenças entre a toxicologia clássica e a ecotoxicologia.

Fonte: Adaptado de ZAGATTO e BERTOLETTI (Cap.1, 2008).

A Figura 3 ilustra as etapas compreendidas pela ecotoxicologia no estudo de contaminantes. Esta sequência de eventos é conhecida como cadeia de causalidade (COSTA et al., 2008).





**Figura 3** - Sequência de etapas compreendidas pela ecotoxicologia, denominada cadeia de causalidade.

Fonte: COSTA et al. (2008).

Segundo Slooff *apud* Costa et al (2008), a ecotoxicologia aquática é a área da ecotoxicologia que envolve o transporte, a distribuição, a transformação e o destino final dos contaminantes no ambiente aquático. Ensaios de toxicidade aquática são bastante utilizados porque os corpos d'água representam os principais receptáculos de contaminantes, sejam eles lançados diretamente por meio de descargas de efluentes, ou indiretamente por meio da emissão no ar e deposição no solo e nos sedimentos (GHERARDI-GOLDSTEIN et al. *apud* COSTA et al., 2008).

Ensaios ou ensaios de toxicidade são a principal ferramenta para avaliar a toxicidade de efluentes, que possuem como objetivo simular em laboratório os efeitos que poderiam ser causados no corpo receptor após o lançamento do agente tóxico que está sendo avaliado (ARENZON et al., 2011). É recomendável que o efeito tóxico de uma amostra seja avaliado para mais de uma espécie representante da cadeia trófica, de preferência de mais de um nível trófico, pois diferentes espécies podem apresentar diferentes sensibilidades a um mesmo agente tóxico. Além disso, não é possível extrapolar o efeito tóxico de uma espécie para outra, porque os mecanismos de toxicidade são diferentes (REGINATTO *apud* COSTA et al., 2008).

O desenvolvimento de protocolos de ensaios padronizados que permitam definir limiares de toxicidade permissíveis com níveis de incerteza adequados é um dos desafios e objetivos da ecotoxicidade. Estes ensaios são utilizados por entidades reguladoras para tomada de decisões sobre o descarte de efluentes industriais, agrícolas e outros (COSTA et al., 2008). No Brasil, o órgão responsável por desenvolver protocolos de ensaios de toxicidade é a ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas), ainda que os primeiros protocolos tenham sido desenvolvidos pela CETESB (Companhia Ambiental do Estado de São Paulo) em 1975 e as

primeiras normas publicadas pela ABNT para ensaios de toxicidade com organismos aquáticos só tenham sido publicadas em 1987 (ZAGATTO e BERTOLETTI, 2008).

No Quadro 1 são apresentadas as principais normas brasileiras para ensaios de toxicidade aquática para organismos de diferentes níveis tróficos.

**Quadro 1** - Normas referentes aos ensaios de toxicidade publicadas pela CETESB e ABNT.

Métodos	Nº Norma	Referência
Toxicidade aguda – Método de ensaio com <i>Daphnia</i> spp. (Crustacea, Cladocera)	ABNT-NBR-12713	ABNT (2016a)
Toxicidade crônica – Método de ensaio com algas (Chlorophyceae)	ABNT-NBR-12648	ABNT (2011)
Toxicidade crônica – Método de ensaio com <i>Ceriodaphnia</i> spp. (Crustacea, Cladocera)	ABNT-NBR-13373	ABNT (2017a)
Toxicidade aguda – Método de ensaio com peixes (Cyprinidae)	ABNT-NBR-15088	ABNT (2016b)
Toxicidade crônica – Método de ensaio com peixes	ABNT-NBR-15499	ABNT (2015a)
Toxicidade aguda – Método de ensaio com misídeos (Crustacea)	ABNT-NBR-15308	ABNT (2017b)
Água do mar – Teste de toxicidade crônica de curta duração com ouriço do mar (Echinodermata: Echinoidea)	ABNT-NBR-15350	ABNT (2012a)
Toxicidade com a bactéria luminescente <i>Vibrio fischeri</i>	ABNT-NBR-15411 (Partes 1, 2 e 3)	ABNT (2012b, 2012c, 2012d)
Toxicidade em sedimento de água doce	ABNT-NBR-15470	ABNT (2013)
Controle e preservação de amostras para ensaios ecotoxicológicos	ABNT-NBR-15469	ABNT (2015b)

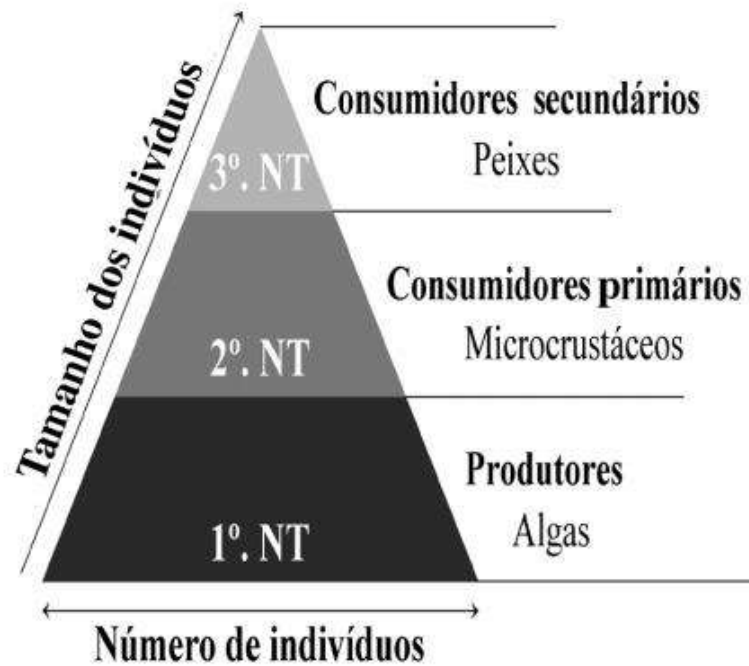
Fonte: Adaptado de ZAGATTO e BERTOLETTI (Cap. 6, 2008).

### 3.1.2 Organismos-teste utilizados em ensaios de toxicidade

Os organismos utilizados em ensaios padrão de toxicidade são chamados organismos-teste. São espécies mantidas em laboratório, cuja biologia é conhecida o suficiente para que possam ser utilizadas como indicadores da toxicidade da amostra (ARENZON et al., 2011).

É importante conduzir ensaios com organismos representantes de grupos taxonômicos diferentes, de modo a obter uma indicação da variabilidade natural da sensibilidade dos organismos. Idealmente, busca-se a utilização de uma espécie de organismo de cada um dos níveis tróficos: produtores (algas), consumidores primários e/ou secundários (crustáceos) e consumidores secundários e/ou terciários (peixes) (ZAGATTO e BERTOLETTI, Cap. 7, 2008). Os decompositores também desempenham importante papel na cadeia alimentar aquática e, portanto, podem ser considerados em alguns ensaios (ARENZON et al., 2011). Não é necessária a utilização de mais de uma espécie do mesmo gênero de organismos, pois geralmente espécies de um mesmo gênero têm sensibilidade semelhante (ZAGATTO e BERTOLETTI, Cap. 7, 2008).

A Figura 4 mostra os três principais níveis tróficos dos organismos aquáticos.



**Figura 4** - Representação de três níveis tróficos de uma cadeia alimentar aquática.

Fonte: COSTA et al. (2008).

Segundo Zagatto e Bertolotti (Cap. 7, 2008), para a seleção de um organismo-teste, alguns critérios devem ser observados:

1) sua sensibilidade a agentes tóxicos deve ser alta e relativamente constante, de maneira que possibilite a obtenção de resultados precisos, garantindo a reprodutibilidade dos resultados. Para isso é necessário um bom conhecimento da biologia da espécie e, se possível, que estas sejam de pequeno porte, com ciclos de vida não muito longos, de modo a facilitar o cultivo em laboratório;

2) sua disponibilidade, favorecendo espécies abundantes no ambiente e disponíveis ao longo de todo o ano, em detrimento daquelas que se apresentam baixo número de organismos ou são encontradas apenas em épocas restritas. Também é preferível que a espécie possua abundância geográfica;

3) sua estabilidade genética, de modo a obter lotes uniformes de organismos.

Difícilmente existe uma espécie que atenda a todos estes requisitos em todos os ecossistemas, no entanto, para cada teste, é recomendado o uso de organismos presentes no próprio corpo receptor, sempre que possível (ZAGATTO e BERTOLETTI, Cap. 7, 2008).

No Quadro 2 são apresentadas as espécies mais utilizadas em ensaios de toxicidade para diferentes níveis tróficos, enquanto que o Quadro 3 mostra as espécies mais utilizadas no Brasil.

**Quadro 2** - Exemplos de espécies utilizadas em ensaios ecotoxicológicos pelo mundo.

Grupo Taxonômico	Espécies
Algas de água doce	<i>Chlorella variegatus</i> , <i>Scenedesmus quadricauda</i> , <i>Scenedesmus subspicatus</i> , <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>
Algas de água marinha	<i>Phaeodactylum tricornutum</i> , <i>Asterionella japonica</i> , <i>Dunaliella tertiolecta</i> , <i>Champia parvula</i>
Microcrustáceos de água doce	<i>Daphnia magna</i> , <i>Daphnia similis</i> , <i>Ceriodaphnia dubia</i> , <i>Hyalella azteca</i> , <i>Hyalella meinerti</i>
Microcrustáceos de água marinha	<i>Mysidopsis bahia</i> , <i>Mysidopsis juniae</i> , <i>Leptocheirus plumulosus</i> , <i>Tiburonella viscana</i> , <i>Artemia salina</i>
Moluscos de água marinha	<i>Mytillus edulis</i> , <i>Crassostrea rhizophorae</i>
Equinodermos	<i>Arbacia lixula</i> , <i>Lytechinus variegatus</i> , <i>Arbacia punctulata</i>
Peixes de água doce	<i>Pimephales promelas</i> , <i>Danio rerio</i> , <i>Poecillia reticulata</i> , <i>Oncorhynchus mykiss</i> , <i>Lepomis macrochirus</i>
Peixes de água marinha	<i>Menidia beryllina</i> , <i>Menidia menidia</i> , <i>Cyprinodon variegatus</i>
Insetos de água doce	<i>Chironomus</i> sp., <i>Hexagenia</i> sp.
Bactérias de água doce	<i>Spirillum volutans</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i>
Bactérias de água marinha	<i>Vibrio fischeri</i> ( <i>Photobacterium phosphoreum</i> )

Fonte: Adaptado de ZAGATTO e BERTOLETTI (Cap. 7, 2008).

**Quadro 3** - Espécies mais utilizadas em ensaios ecotoxicológicos no Brasil.

Tipos de ensaios	Organismos-teste	Tipo de organismo	Nível trófico
Agudo	<i>Daphnia similis</i>	Microcrustáceo	Consumidor primário
Agudo	<i>Daphnia magna</i>	Microcrustáceo	Consumidor primário
Agudo e crônico	<i>Pimephales promelas</i>	Peixes	Consumidor secundário
Agudo e crônico	<i>Danio rerio</i>	Peixes	Consumidor secundário
Agudo e crônico	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	Algas	Produtor
Agudo e crônico	<i>Desmodesmus subspicatus</i>	Algas	Produtor
Crônico	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	Microcrustáceo	Consumidor primário
Agudo	<i>Vibrio fischeri</i>	Bactéria	Decompositor

Fonte: Adaptado de ARENZON et al. (2011).

Uma característica importante do meio a ser observada é a dureza total da água. Agências de regulação ambiental de vários lugares como Austrália, Nova Zelândia e Estados Unidos possuem critérios de qualidade da água (WQC) baseados em modelos de dureza (HYNE et al., 2005). Segundo Hyne et al. (2005), a variação deste parâmetro foi identificada como uma grande influência na toxicidade de agentes químicos, principalmente metais, para várias espécies de organismos-teste comuns. No Tabela 1 encontra-se a classificação usual da água baseada na dureza.

**Tabela 1** - Classificação da água de acordo com a dureza expressa em mg CaCO<sub>3</sub>.L<sup>-1</sup>.

Tipo de água	Dureza (mg CaCO <sub>3</sub> .L <sup>-1</sup> )
Muito mole	10 a 13
Mole	40 a 48
Moderadamente dura	80 a 100
Dura	160 a 180
Muito dura	280 a 320

Fonte: Adaptado de ZAGATTO e BERTOLETTI (Cap 7., 2008).

### 3.1.3 Tipos de ensaio de toxicidade

Os ensaios de toxicidade podem ser classificados em agudos ou crônicos. Os ensaios de toxicidade agudos são usados para medir os efeitos de agentes tóxicos durante um curto período de tempo em relação ao período de vida do organismo-teste e têm como objetivo estimar a dose ou concentração de um agente tóxico que seria capaz de produzir uma resposta específica mensurável em um organismo-teste ou população em um período de tempo geralmente variando de 24 a 96 h (GHERARDI-GOLDSTEIN *apud* COSTA et al., 2008).

Já os ensaios de toxicidade crônica são realizados ao longo da maior parte ou de todo o ciclo de vida do organismo-teste, de modo a medir a ação tóxica mediante a exposição prolongada a concentrações subletais, ou seja, concentrações que permitem a sobrevivência dos organismos, mas afetam funções biológicas como a reprodução, o desenvolvimento de ovos, crescimento, maturação e outras (COSTA et al., 2008). No caso da análise de toxicidade de efluentes, quando a amostra apresenta toxicidade aguda, normalmente a morte dos organismos impossibilita a observação de efeitos crônicos, sendo então estes ensaios apenas realizados quando nenhum efeito agudo é observado (ARENZON et al., 2011).

Os efeitos toxicológicos de determinada amostra-teste são avaliados por meio de variáveis biológicas como: letalidade, imobilidade, alterações no desenvolvimento, crescimento, reprodução, metabolismo, fisiologia e comportamento (COSTA et al., 2008). Para ensaios de toxicidade aguda com *Daphnia* avalia-se a imobilidade dos organismos, por exemplo, enquanto que o ensaio com peixes leva em consideração a letalidade (ZAGATTO e BERTOLETTI, Cap. 6, 2008). Nos ensaios crônicos, os efeitos observados são em geral sobrevivência e reprodução para invertebrados e sobrevivência e redução no crescimento para peixes, além da porcentagem de eclosão de ovos para ensaios embriolarvais (ZAGATTO e BERTOLETTI, Cap. 6, 2008).

### 3.1.4 Sistemas de exposição

Levando em consideração o método de adição de soluções-teste, os ensaios toxicológicos podem ser classificados em três sistemas de exposição: estáticos, quando não há renovação das soluções-teste; semi-estáticos, quando as soluções-teste são renovadas periodicamente; e dinâmicos, quando as soluções-teste são continuamente renovadas (COSTA et al., 2008).

Segundo Aragão e Araújo (2008) o sistema estático é muito simples e de baixo custo, mas não é indicado no caso de volatilização da amostra-teste, degradação microbiana ou transformação do agente tóxico, adsorção nos recipientes-teste, absorção pelos organismos ou diminuição na concentração de oxigênio dissolvido devido a uma elevada DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio) ou DQO (Demanda Química de Oxigênio). Ainda segundo Aragão e Araújo (2008), o sistema semi-estático evita estes problemas, porém é mais trabalhoso e aumenta o manuseio dos organismos, o que pode causar estresse ou debilitá-los, influenciando no resultado do ensaio. É um sistema mais usado em ensaios de longa duração (crônicos) ou quando a amostra-teste não é muito estável e, principalmente, com organismos pequenos, que podem ser arrastados no sistema dinâmico (*Ceriodaphnia* e *Daphnia*, por exemplo) (ARAGÃO e ARAÚJO, 2008).

O sistema dinâmico ou de fluxo contínuo opera fluindo a solução-teste continuamente através dos recipientes onde estão os organismos. Zagatto e Bertolletti (2008) afirmam que ele é especialmente recomendado para amostras-teste voláteis e/ou biodegradáveis em curtos períodos de exposição, ou ainda estudos de longa duração, visto que ele resolve o problema de depleção do oxigênio dissolvido e mantém a concentração da substância-teste na água constante. Segundo os autores, seus maiores problemas são a complexidade de operação e os altos custos de manutenção.

### 3.1.5 Expressão de resultados

Em ensaios de toxicidade aguda, os resultados obtidos são geralmente expressos como a concentração mediana que causa efeito adverso em 50% dos organismos testados durante um período de tempo determinado (COSTA et al., 2008). Assim, para o caso do efeito de imobilização dos invertebrados, é determinada a CE50, como sendo a concentração do agente tóxico que causa imobilização de 50% dos organismos-teste, enquanto para a mortalidade de peixes, é determinada a CL50, como sendo a concentração que causa a morte de 50% dos organismos testados (ZAGATTO e BERTOLETTI, Cap. 6, 2008).

Para ensaios crônicos, estimam-se os efeitos da substância-teste na reprodução, no crescimento ou na sobrevivência de uma espécie e os resultados são geralmente expressos em função da maior concentração que não causa efeito estatisticamente significativo aos organismos (CENO) ou da menor concentração que causa efeito estatisticamente significativo nos organismos (CEO) (COSTA et al., 2008). Além disso, pode-se definir um valor crônico (VC) com sendo a média geométrica entre CEO e CENO (ZAGATTO e BERTOLETTI, Cap. 6, 2008).

Os parâmetros CE50, CL50, CEO e CENO são normalizados em função da amostra ao qual os organismos são expostos e, portanto, são expressos comumente em  $\text{mg.L}^{-1}$  para ensaios de

toxicidade de substâncias específicas. No entanto, para análise de toxicidade de efluentes ou de águas contaminadas, usualmente são apresentados em porcentagem.

Os valores numéricos de CE50, CL50, CEO e CENO têm relação inversa com a toxicidade, isto é, menores valores representam maior toxicidade. Para facilitar a comparação e o estudo de efeitos sinérgicos e antagônicos, costuma-se transformar estes resultados em unidades tóxicas aguda e crônica ( $UT_a$  e  $UT_c$ ), que têm relação direta com a toxicidade. As unidades tóxicas podem ser calculadas pelas Equações 1 e 2:

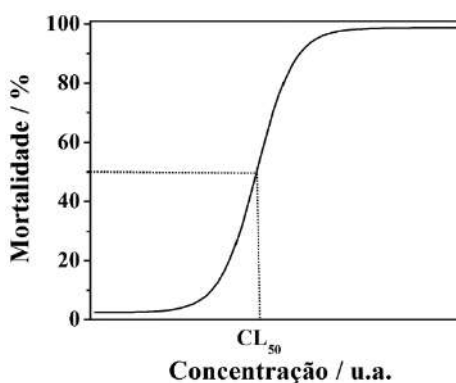
$$UT_a = \frac{100}{CE50} \text{ ou } UT_a = \frac{100}{CL50} \quad (1)$$

$$UT_c = \frac{100}{CENO} \text{ ou } UT_c = \frac{100}{CEO} \quad (2)$$

Dessa forma, quanto maior o valor numérico em unidades tóxicas, maior a toxicidade da amostra (COSTA et al., 2008).

Para o órgão ambiental do Estado do Rio Grande do Sul, a toxicidade de efluentes é medida em um fator de toxicidade (FT), definido como “quantas vezes o corpo receptor precisaria diluir o efluente para que ele deixe de ser tóxico para os organismos” (ARENZON et al., 2011). Dessa forma, um efluente com  $FT = 1$  não apresenta toxicidade aguda, mesmo que não seja diluído pelo corpo receptor, enquanto um efluente com  $FT = 16$  precisaria ser diluído 16 vezes no corpo receptor para não causar efeito tóxico nos organismos.

Outra forma de exprimir resultados de um ensaio de ecotoxicidade é a construção de curvas dose-resposta. Estas curvas podem levar ao cálculo de dois parâmetros importantes: a concentração que resulta em 50% do efeito observado (CE50 ou CL50) e o coeficiente angular da porção linear da curva que passa pelo ponto correspondente a CE50/CL50 (COSTA et al., 2008). Segundo Costa et al. (2008) valores similares de coeficiente angulares podem indicar que o modo de ação das substâncias analisadas é semelhante. A Figura 5 apresenta o esquema de uma curva dose-resposta modelo de um ensaio ecotoxicológico genérico.



**Figura 5** - Curva dose-resposta modelo.

Fonte: COSTA et al. (2008).

Há ainda outras formas de exprimir resultados de toxicidade menos utilizadas em ecotoxicologia aquática, como: CI50, concentração de inibição de certa atividade a 50% dos organismos testados; TL50, tempo para a letalidade de 50% dos organismos testados; e CE30, concentração de efeito observado em 30% dos organismos testados (MACFIE et al., 1994;

SCHWARTZ et al., 2004; ARENZON et al., 2011). O Quadro 4 resume as informações sobre as principais formas de expressão de resultados de ensaios ecotoxicológicos.

**Quadro 4** - Principais formas de expressão de resultados em ensaios ecotoxicológicos.

Parâmetro	Significado	Definição	Tempo de exposição (usual)
<b>CE50</b>	Concentração Efetiva Média	Concentração da amostra que causa um efeito deletério a 50% dos indivíduos testados	24 a 48 h
<b>CL50</b>	Concentração Letal Média	Concentração da amostra que causa mortalidade a 50% dos indivíduos testados	24 a 96 h
<b>DL50</b>	Dose Letal Média	Dose da amostra que causa mortalidade a 50% dos indivíduos testados	24 a 96 h
<b>TL50</b>	Tempo Letal Médio	Tempo de exposição que leva à mortalidade de 50% dos indivíduos testados	--
<b>CEO</b>	Concentração de Efeito Observado	Mínima concentração da amostra que causa efeito deletério nos indivíduos testados no tempo de exposição do teste	7 d
<b>CENO</b>	Concentração de Efeito Não Observado	Máxima concentração da amostra que não causa efeito deletério nos indivíduos testados no tempo de exposição do teste	7 d

Fontes: MACFIE et al. (1994), SCHWARTZ et al. (2004), COSTA et al. (2008), ARENZON et al. (2011)

### 3.2 MODELOS REPRESENTATIVOS DA ECOTOXICIDADE DE METAIS

A especiação de metais pesados nos ecossistemas aquáticos é complexa e apresenta uma variedade de formas físico-químicas diferentes. Segundo Zagatto e Bertolotti (Cap 2, 2008), os metais podem estar presentes nos corpos d'água na forma:

- 1) livre e dissolvida, normalmente polivalentes e hidratados;
- 2) complexada, fraca ou fortemente, pela matéria orgânica presente;
- 3) de complexos solúveis, na fração de lipídios presentes na água;
- 4) adsorvida nas partículas coloidais e nos particulados orgânicos e inorgânicos suspensos na água, especialmente nas argilas;
- 5) insolúvel, usualmente como sulfetos e carbonatos.



A existência de todas essas espécies torna, em termos práticos, impossível a discriminação de espécies individuais pelas várias metodologias físico-químicas normalmente empregadas. No entanto, é possível a identificação de grupos de espécies com propriedades físicas, químicas e biológicas similares. O conhecimento da especiação dos metais então se mostra muito importante para a avaliação ecotoxicológica dos sistemas aquáticos. (ZAGATTO e BERTOLETTI, Cap. 2, 2008).

Em um meio conhecido, é possível prever as principais formas físico-químicas que os metais assumem por meio de programas de computador que resolvem simultaneamente várias equações de equilíbrio (MINTEQ, MINTEQA2, CHESS) (HEIJERICK et al., 2003). Aliando-se este conhecimento aos resultados de ensaios padronizados de toxicidade é possível traçar correlações entre a forma predominante do metal e o efeito tóxico provocado no organismo. Dessa forma, assim como a especiação do metal, a biodisponibilidade do mesmo, seja como nutriente ou agente tóxico, está relacionada com parâmetros físico-químicos do meio (ALLEN et al., 1980; DI TORO et al., 2001).

Ao longo do tempo, percebeu-se que os resultados obtidos nas águas de referência de laboratórios nem sempre eram indicativos do real efeito observado na natureza. Isto, aliado ao crescente conhecimento e tecnologia desenvolvidos na área da físico-química, permitiu o desenvolvimento de modelos (PAQUIN et al., 2002).

Modelos, seja um modelo conceitual fisiológico, um modelo termodinâmico de equilíbrio ou um modelo cinético de resposta toxicológica são úteis neste caso pois, não só ajudam a ter um conhecimento mais profundo dos mecanismos envolvidos na ação do agente tóxico, como também fornecem uma base quantitativa para avaliar simultaneamente os diferentes efeitos das interações complexas geradas nos ecossistemas naturais (PAQUIN et al., 2002).

A seguir, há uma introdução e elucidação dos principais modelos utilizados hoje para prever e descrever a ação de metais tóxicos a organismos aquáticos encontrados na literatura.

### 3.2.1 FIAM (Free Ion Activity Model)

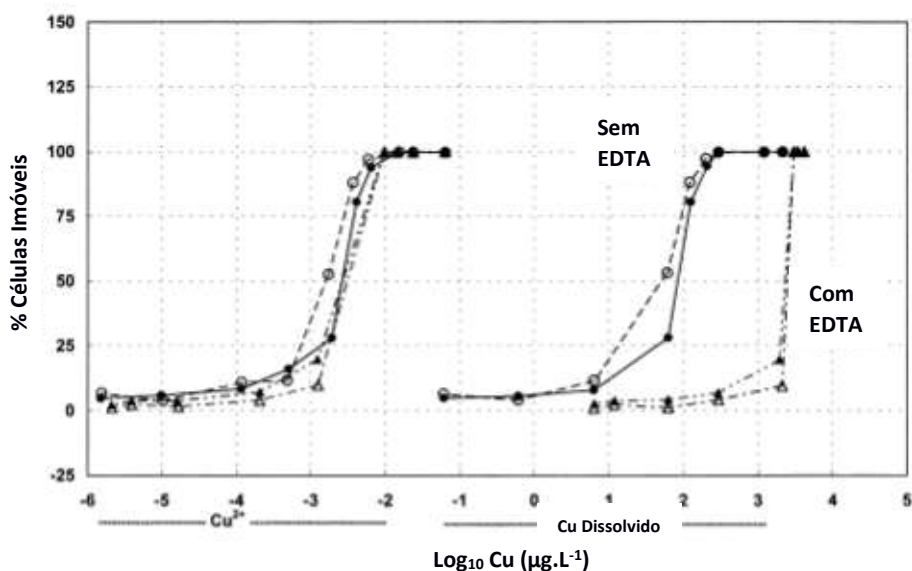
O FIAM foi um modelo inicialmente desenvolvido para explicar observações experimentais de que, em geral, a atividade das espécies de íons livres era de maior importância na absorção e toxicidade dos metais do que a concentração total do metal em solução (BROWN e MARKICH, 2000).

Sunda e Guillard (1976) reportaram que, em águas salinas, a inibição do crescimento e a quantidade de cobre dentro das células de algas estão intimamente relacionadas à atividade do íon livre de cobre e não à concentração do cobre total.

Assim, o modelo de íon livre, segundo Campbell (1995) se baseia no fato de que a interação entre os metais e os organismos ocorre em três etapas:

- 1) difusão do metal da solução para a interface com a membrana celular do organismo;
- 2) adsorção do metal na superfície da membrana, por meio de sítios ligantes;
- 3) absorção (transporte) do metal para dentro da membrana.

Ainda segundo Campbell (1995), espécies não lábeis (pouco móveis) do metal são consideradas não-biodisponíveis, visto que o processo de difusão destas é prejudicado. Além disso, espécies que não estejam livres para interagir com a membrana também não apresentam efeito tóxico, já que não serão adsorvidas. Considera-se que o íon livre do metal (representado por M) entra em rápido equilíbrio com a superfície da membrana celular enquanto espécies de metais complexadas por matéria orgânica ou em fase coloidal, por exemplo, não reagiriam diretamente com a membrana, sendo assim biologicamente inativas, como ilustrado na Figura 6.



**Figura 6** - Porcentagem de efeito observado por concentração de Cu<sup>2+</sup> (à esquerda) e de Cu total (à direita) com e sem EDTA.

Fonte: Adaptado de PAQUIN et al. (2002)

Os resultados apresentados na Figura 6 corroboram com o FIAM: a toxicidade do cobre é exercida pelo íon livre, portanto quando o efeito é plotado em função da concentração do íon não há variação pela presença do EDTA. Mas quando o parâmetro é a concentração total de cobre, maior quantidade de EDTA significa menos cobre livre disponível e, portanto, uma maior concentração de cobre é necessária para atingir o efeito tóxico. (PAQUIN et al., 2002)

É comum que a importância dada pelo FIAM ao íon livre metálico seja confundida com a contribuição do cátion metálico hidratado (M<sup>+2</sup>. nH<sub>2</sub>O), no entanto esta interpretação é tecnicamente equivocada, visto que o modelo leva em consideração a atividade do íon metálico como uma medida da sua reatividade com a membrana. Ou seja, como o equilíbrio é atingido rapidamente na superfície da célula, a atividade dos íons que participam deste equilíbrio não está diretamente relacionada com a concentração de íons metálicos hidratados presentes na solução (BROWN e MARKICH, 2000).

O modelo pode apresentar certas falhas em alguns casos. O complexo ML, formado entre o íon livre do metal e o ligante L, pode ser capaz de reagir com a membrana formando um complexo ternário. Pode ocorrer troca de ligantes entre o complexo ML e a superfície da membrana, ou ainda, em mais complicados, o complexo ML é lipossolúvel e pode então ele próprio interagir e ser absorvido pela membrana (BROWN e MARKICH, 2000; CAMPBELL, 1995).

### 3.2.2 GSIM (Gill Surface Interaction Model)

O modelo de interação com a superfície das brânquias dos peixes (*Gill Surface Interaction Model*) foi desenvolvido por Pagenkopf (1983) para relacionar quantitativamente aspectos que pareciam afetar a toxicidade de metais para peixes e prever qual seria essa variação. O modelo tem como base os seguintes princípios:

- 1) a toxicidade aguda dos metais em peixes ocorre por conta de uma alteração no funcionamento das brânquias e o organismo morre por uma inibição da respiração;
- 2) dentre as várias espécies de metais presentes na água, algumas são muito mais tóxicas que outras;
- 3) a superfície das brânquias é capaz de formar complexos com algumas espécies de metais e com o hidrogênio presente na água;
- 4) a taxa de troca de íons metálicos entre a superfície das brânquias e a solução é rápida comparada com o tempo de duração do teste toxicológico;
- 5) a superfície das brânquias tem uma capacidade de interação finita por unidade de massa, isto é, ela está suscetível à saturação;
- 6) existe competitividade entre os cátions de dureza ( $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$ ), o hidrogênio e os metais pela superfície das brânquias.

O modelo utiliza então a noção de equilíbrios competitivos na superfície das brânquias, de modo a descrever a interação com o metal e outros cátions em solução por meio de equações de equilíbrio. Segundo Pagenkopf (1983), o princípio é que membranas celulares fosfolipídicas podem ser consideradas superfícies negativamente carregadas que vão então complexar com os cátions metálicos e com o hidrogênio por meio de reações ácido-base de Lewis. Pode-se então definir a força desta interação por constantes de equilíbrio termodinâmicas e por meio de manipulações matemáticas chegar a um modelo de previsão que depende basicamente de constantes termodinâmicas de estabilidade conhecidas ou calculáveis (PAGENKOPF, 1983).

Pagenkopf (1983) afirma que o GSIM provou ser satisfatoriamente acurado ao prever a variação da toxicidade de metais em função de mudanças de pH, dureza, alcalinidade e concentração total do metal para mais de um tipo de metal, facilitando assim a regulamentação de águas contaminadas, análise de risco e da toxicidade de efluentes, pois viabilizaria a extrapolação de resultados de ensaios-padrão para condições de meio diferentes, desde que se conheçam estas condições. Ainda é necessária, no entanto, para cada caso, a comparação com resultados obtidos em laboratório, de modo a validar o modelo e certificar-se que foram consideradas as espécies corretas do metal como biodisponíveis (DI TORO et al., 2001). Complexos com matéria orgânica e coloidais são normalmente considerados não-biodisponíveis, no entanto alguns hidróxidos como o  $\text{Cu}(\text{OH})^+$ , que não são levados em conta no FIAM, podem apresentar efeito tóxico (BUI et al., 2016).

Apesar da contribuição destes dois primeiros modelos, até meados dos anos 90, estas abordagens químicas e fisiológicas da toxicologia não receberam muita atenção dos órgãos reguladores. Paquin et al. (2002) sugerem que isto provavelmente ocorria porque o entendimento destes conceitos não estava avançado o suficiente para que eles fossem incluídos nos critérios de qualidade da água. O único parâmetro levado em consideração pelas principais agências reguladoras era a dureza, com a adoção de equações lineares de correção de dureza

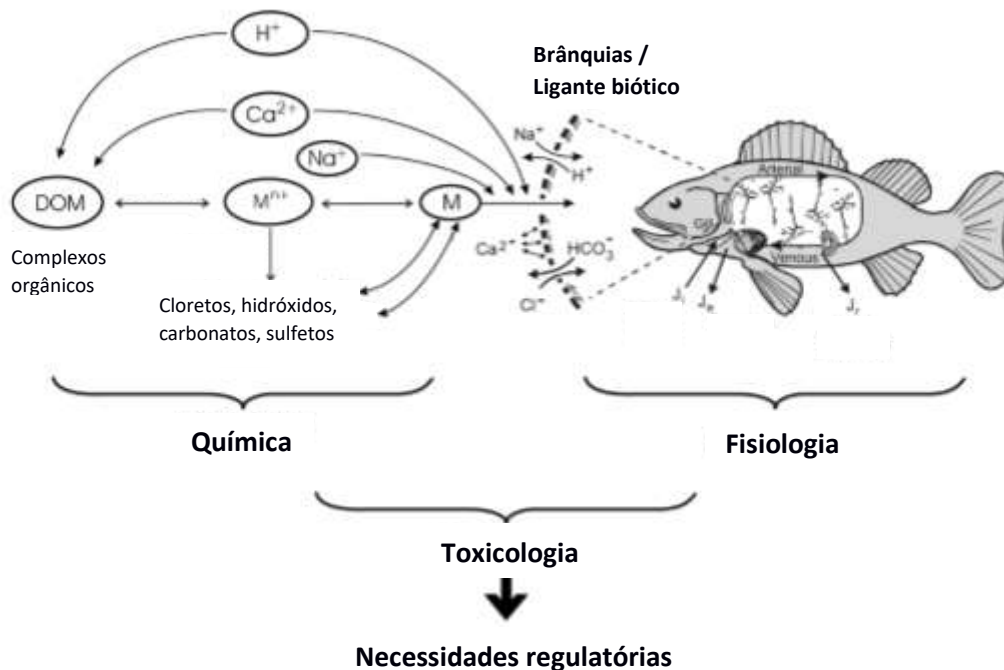
pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) já em 1987 (HEIJERICK et al., 2003; HYNE et al., 2005).

Contudo, a necessidade da consideração de outros parâmetros físico-químicos para a regulação da qualidade da água contaminada com metais foi ficando cada vez mais evidente, demonstrada em diversos trabalhos que mostraram que fatores como pH, presença de matéria orgânica e alcalinidade, atuando em conjunto, podiam ser mais importantes que só a variação da dureza e que os limites sugeridos na legislação norte-americana, por exemplo, poderiam estar superestimados (HEIJERICK et al., 2003; HYNE et al., 2005; VAN GENDEREN et al., 2007).

### 3.2.3 BLM (Biotic Ligand Model)

Unindo os conceitos do FIAM e do GSIM, o desenvolvimento do modelo de ligante biótico foi publicado em 2001 por Di Toro e colaboradores. Este modelo se baseia na ideia de que a toxicidade dos metais não está relacionada apenas à concentração do metal na solução, mas também tanto à complexação dos íons metálicos livres por ligantes quanto à interação competitiva dos metais e outros cátions no sítio de ação da toxicidade. De maneira simples, o BLM apenas substitui a superfície das brânquias do GSIM pela superfície do ligante biótico, de modo a generalizar o modelo e torná-lo aplicável para outros grupos taxonômicos.

O principal ganho do modelo em relação ao FIAM é que outras espécies catiônicas podem competir pelo sítio ativo do ligante biótico, sendo este efeito considerado então na previsão da toxicidade (DI TORO et al., 2001). O quanto esta competição afeta a toxicidade do metal e mesmo a toxicidade de outras possíveis espécies lábeis, podem ser levados em conta no BLM em função das constantes de complexação delas com o ligante biótico (DI TORO et al., 2001, PAQUIN et al., 2002). A Figura 7 ilustra a base do modelo de ligante biótico.



**Figura 7** - Esquema representativo do BLM como uma combinação de efeitos químicos e fisiológicos.

Fonte: Adaptado de PAQUIN et al. (2002)

De acordo com o BLM, a toxicidade aguda de metais pode ser descrita como um acúmulo destes metais em sítios finitos do ligante biótico. Identificando quais são esses sítios e estimando a acumulação dos metais, um modelo químico pode ser desenvolvido para descrever a formação do complexo metal-ligante biótico. Este modelo pode então ser extrapolado para prever a toxicidade aguda causada por um acúmulo de metais acima da quantidade limite no sítio (SANTORE et al., 2001).

Segundo Di Toro et al. (2001), o desenvolvimento de um modelo de ligante biótico exige acesso a constantes de estabilidade que estão relacionadas com a espécie do organismo em questão e com o metal a ser estudado. Ainda segundo o autor, muitos desses valores são obtidos na literatura e outros podem ser calculados por meio de uma correlação entre concentrações letais e o equilíbrio de complexação. Desta forma, ensaios de toxicidade padrão são necessários para o desenvolvimento do BLM para cada metal relacionado a cada grupo de organismos (DI TORO et al., 2001)

Uma série de trabalhos foram realizados desde o desenvolvimento do modelo geral para estabelecer sua validade e aplicá-lo a situações reais da ecotoxicologia. Já existem modelos muito bem desenvolvidos para a toxicidade aguda do cobre, do zinco e da prata para diferentes espécies (DI TORO et al., 2001; SANTORE et al., 2001; DE SCHAMPHELAERE e JANSSEN, 2002; HEIJERICK et al., 2003; BUI et al., 2016) e até mesmo para a toxicidade crônica destes metais (HEIJERICK et al., 2005; DE SCHAMPHELAERE e JANSSEN, 2004a; SCHWARTZ e VIGNEAULT, 2007).

Uma série de problemas associados ao uso das equações de correção pela dureza para determinação de critérios de qualidade da água foram identificados ao longo dos anos e levaram a agências reguladoras reconsiderarem estes critérios. Em 2007, a USEPA incorporou o BLM como um método para estabelecer critérios de qualidade das águas ambientais para o cobre. O uso do BLM como uma ferramenta regulatória pode se mostrar especialmente útil para regiões de águas muito moles, onde a equação de correção da dureza não levava em consideração outros aspectos físico-químicos importantes. Outros locais como Canadá e Europa, também estudam a implementação do BLM para melhor abranger os critérios de qualidade da água (SCHWARTZ e VIGNEAULT, 2007; RYAN et al., 2009; MAGER et al., 2011).

O desenvolvimento de modelos cada vez mais robustos e precisos é um importante passo na melhor elaboração de leis de regulação ambiental e a importância de sua aplicação na previsão da toxicidade de metais vem sendo discutida em diversos países (PAQUIN et al., 2002; SCHWARTZ e VIGNEAULT, 2007).

## 4. ECOTOXICIDADE DE METAIS PESADOS EM SOLUÇÃO AQUOSA PARA DIFERENTES NÍVEIS TRÓFICOS

Uma gama de metais é importante para a maioria dos organismos. Alguns participam de processos biológicos de oxirredução, como cobre e ferro, enquanto outros são úteis por serem bons ácidos de Lewis, como o zinco. No entanto, estas mesmas características podem torná-los tóxicos quando em excesso. Seu potencial redox pode gerar radicais hidroxilas nas células enquanto fortes ligações com grupamentos contendo enxofre, nitrogênio e oxigênio em moléculas biológicas podem causar inativação das mesmas e danos ao metabolismo (CLEMENS, 2006).

Neste capítulo, serão abordados estudos ecotoxicológicos dos principais metais encontrados na literatura para diferentes níveis tróficos do ambiente aquático, de modo a entender de que forma os metais afetam os organismos e o qual o limite entre a quantidade aceitável e a quantidade considerada possivelmente tóxica nas águas.

### 4.1 ALGAS

Há uma grande variedade na sensibilidade de algas de diferentes espécies aos metais. Apesar dos ensaios padrão com algas utilizados para regulação ambiental serem bastante similares em protocolo, pequenas diferenças em todos os aspectos do teste podem levar a uma grande variação nos resultados (JANSSEN e HEIJERICK, 2003).

Vários mecanismos foram propostos para explicar as diferenças na sensibilidade aos metais para diferentes espécies de algas, ou mesmo para diferentes cepas da mesma espécie. Para algumas plantas superiores, esta diferença na tolerância foi atribuída à capacidade da parede celular de se ligar mais aos metais, dificultando a absorção, ou menos, facilitando a mesma. Macfie et al. (1994) estudaram o papel da parede celular da alga *Chlamydomonas reinhardtii*, comparando uma forma selvagem da mesma com uma outra mutante sem parede celular. Os resultados mostraram que a parede celular oferece de fato uma proteção contra a toxicidade, porém a extensão dessa proteção varia significativamente com o metal em questão. A diferença mais significativa foi observada para o cobalto, com um CE30 de 51,7  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  para a alga com parede celular e 26,4  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  para a alga sem parede celular, em pH 5,0 (um aumento de quase 50% na toxicidade). Os resultados completos podem ser observados na Tabela 2.

Em concentrações acima das ideais, cobre e zinco mostraram-se inibidores do crescimento de algas, interferindo em importantes processos como a fotossíntese, respiração, produção de ATP e síntese de pigmentos. O cádmio também mostrou ser capaz de restringir a divisão celular e alterar uma variedade de processos metabólicos (FRANKLIN et al., 2002).

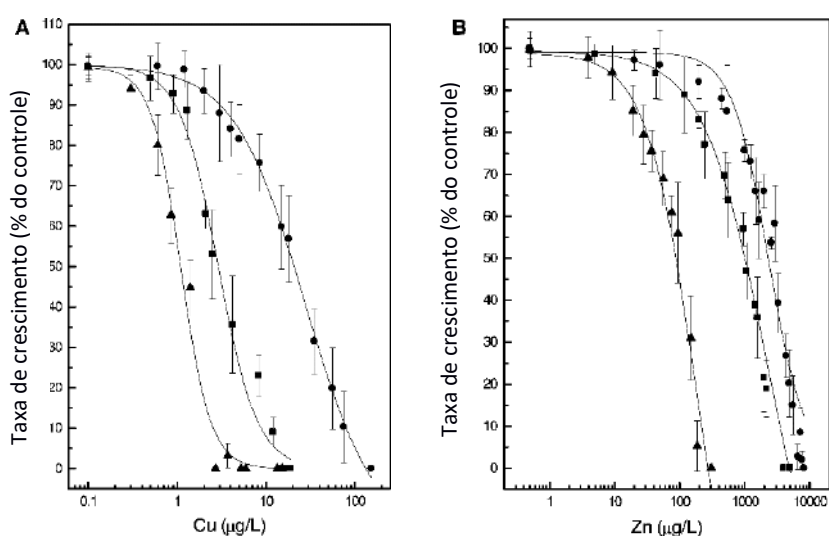
**Tabela 2** - Efeito de diferentes metais em cepas com e sem parede celular da alga *C. reinhardtii*.

Metal	pH	CE30* ( $\mu\text{mol.L}^{-1}$ )	
		Alga com parede celular	Alga sem parede celular
Cobre	5,0	2,8	1,3
	6,8	0,4	0,4
Cádmio	5,0	4,5	3,5
	6,8	0,1	0,1
Níquel	5,0	6,7	6,8
	6,8	2,1	2,2
Cobalto	5,0	51,7	26,4
	6,8	19,0	5,4

\*CE30: 30% de diminuição na quantidade de células em relação ao controle.

Fonte: Adaptado de MACFIE et al. (1994)

Wilde et al. (2006) determinaram a  $CI_{50;48h}$  do cobre e do zinco para a alga de água doce *Chlorella sp* em diferentes valores de pH e observaram que houve um aumento da inibição com o aumento da concentração de ambos os metais em todas as faixas de pH, sendo o efeito mais acentuado em pH mais elevado. No entanto, a alga se mostrou muito mais sensível ao cobre que ao zinco, como pode ser observado na Figura 8. Os autores também mediram a quantidade de cobre e zinco dentro e fora da célula e constataram que o zinco intracelular não contribuía para a inibição, ao contrário do cobre. Eles sugerem, então, que a toxicidade do zinco está relacionada com a disrupção de canais de cálcio na membrana da célula, enquanto que o cobre está envolvido diretamente na inibição de algumas enzimas e na alteração do pH intracelular.



**Figura 8** - Efeito no crescimento celular em função da concentração de Cu (A) e Zn (B). Os símbolos representam diferentes valores de pH.

Fonte: Adaptado de WILDE et al. (2006)

Peterson et al. (1984) estudaram os efeitos do cobre e do cádmio na absorção de fósforo pela alga *Scenedesmus quadricauda* em uma faixa de pH de 5,0 a 8,5. Os organismos se mostraram mais tóxicos ao cobre que ao cádmio e ambos os metais tiveram um aumento na sua toxicidade com o aumento do pH. No entanto, o efeito do pH na toxicidade do cádmio mostrou-se mais significativo, com o cobre apresentando um comportamento assintótico no efeito em valores mais elevados de pH.

Stauber e Florence (1987) analisaram os efeitos do cobre livre e de seus complexos em vários aspectos das diatomáceas marinhas *Nitzschia closterium* e *Asterionella glacialis* e da alga de água doce *Chlorella pyrenoidosa*. Os autores observaram que, para *N. closterium*, a fotossíntese não foi afetada até concentrações de cobre de  $152,4 \mu\text{g.L}^{-1}$ , no entanto a divisão celular sim, ocasionando acúmulo de produtos fotossintéticos e um aumento no tamanho da célula. Já para *A. glacialis* e *C. pyrenoidosa*, o mecanismo de ação do cobre parece ser outro, visto que tanto a divisão celular quanto a fotossíntese foram afetadas. Para todas as três espécies, complexos de cobre lipossolúveis foram muito mais tóxicos que o cobre livre.

De Schampelaere e Janssen (2014) concluíram que a toxicidade crônica do chumbo variava muito entre três espécies de algas de água doce: *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Chlorella kesslerii* e *Chlamydomonas reinhardtii*. A alga *P. subcapitata* apresentou 4 vezes mais sensibilidade ao chumbo do que *C. kesslerii*, com CE50;72h de  $89,9 \mu\text{g.L}^{-1}$  e  $388 \mu\text{g.L}^{-1}$ , respectivamente.

Radix et al. (2000) avaliaram a toxicidade crônica de diversos agentes tóxicos, sendo um deles o cobre, para 4 espécies em diferentes níveis tróficos. Os autores concluíram que a alga (*Pseudokirchneriella subcapitata*) parecia ser o organismo mais sensível (CE50;72h  $0,047 \text{mg.L}^{-1}$ ) ainda que em mais de 50% dos casos a resposta de todos os ensaios ficava na mesma ordem de grandeza.

Franklin et al. (2002) utilizaram a alga de água doce *Chlorella sp* para investigar a toxicidade de cobre, cádmio e zinco, tanto em soluções separadas como em uma mistura dos três metais. Individualmente, o cobre se mostrou novamente mais tóxico para o crescimento da alga, com CE50;48h  $5,72 \mu\text{g.L}^{-1}$  e CE50;72h  $6,99 \mu\text{g.L}^{-1}$  contra CE50;48h  $85,02 \mu\text{g.L}^{-1}$  e CE50;72h  $91,56 \mu\text{g.L}^{-1}$  para o zinco. Os resultados completos podem ser observados na Tabela 3. Já na mistura, os autores observaram que Cu + Cd apresentavam efeito sinérgico enquanto Cu + Zn, Zn + Cd ou Cu + Zn + Cd apresentavam efeito antagônico. O efeito antagônico pode ser bem explicado pela competição dos metais pelos mesmos sítios na membrana da célula, enquanto que para o efeito sinérgico, os autores sugerem que o cádmio pode alterar a estrutura da membrana permitindo uma maior entrada do cobre a longo prazo. Esta constatação é importante, pois, usualmente, o modelo BLM não prevê alterações estruturais no ligante biótico, o que pode fazer com que os valores previstos de toxicidade sejam subestimados em caso da presença de outros metais com o cobre na água. Variações do modelo que levassem em conta estas alterações poderiam se adequar melhor a casos como este (FRANKLIN et al., 2002).



**Tabela 3** - CENO, CEO e CE50 (em  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) de diferentes metais para alga *Clorella sp.*

Metal	48 h			72 h		
	CENO	CEO	CE50*	CENO	CEO	CE50*
<b>Cu</b>	3,18	4,45	5,72	4,445	5,72	6,99
<b>Cd</b>	6,74	21,36	95,54	<6,74	6,74	95,54
<b>Zn</b>	20,27	37,28	85,02	20,27	37,28	91,56

\*CE50 para 50% de redução no crescimento comparado ao controle, com 95% de confiabilidade.

Fonte: Adaptado de FRANKLIN et al. (2002)

Lam et al. (1999) reportaram que a toxicidade do cobre e do cádmio pode ter efeito sinérgico em baixas concentrações dos metais, porém antagonísticos em altas concentrações. O CE50;96h estimada do cobre para a alga *Chlorella vulgaris* foi de  $4,01 \text{ mg.L}^{-1}$  enquanto que para o cádmio foi de  $1,02 \text{ mg.L}^{-1}$ . Mantendo a concentração de um dos metais fixas e variando a do outro foi possível observar os efeitos na toxicidade, dependentes da concentração do metal adicionado. Este antagonismo observado em altas concentrações do metal foi atribuído pelos autores a uma possível competição por sítios na membrana celular, que é maximizada quando há muito de um metal em relação ao outro.

## 4.2 CRUSTÁCEOS

Rainbow (2007) afirma que invertebrados aquáticos absorvem metais da solução a partir de superfícies permeáveis no seu corpo e do seu intestino. Segundo o autor, o metal adsorvido no exoesqueleto também contribui para a quantidade total de metal no corpo, mas sua contribuição relativa é pequena. Uma vez no corpo do crustáceo, os metais essenciais ligam-se a moléculas desempenhando seu papel vital ou, se em excesso, causando a toxicidade. Esses metais em excesso podem sofrer um processo de detoxificação, ligando-se a sítios de sacrifício que podem ser excretados. Quando a taxa de entrada de metal no corpo do crustáceo é superior à taxa de excreção e detoxificação, o efeito tóxico ocorre (RAINBOW, 2007).

Graças à sua utilização em diversos ensaios descritos em normas ambientais, como da USEPA, daphnídeos como o microcrustáceo *Ceriodaphnia dubia* se tornou um protagonista em ensaios de toxicidade (BELANGER e CHERRY, 1990). A Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) também tem ensaios padronizados para *C. dubia*, como discutido no capítulo anterior.

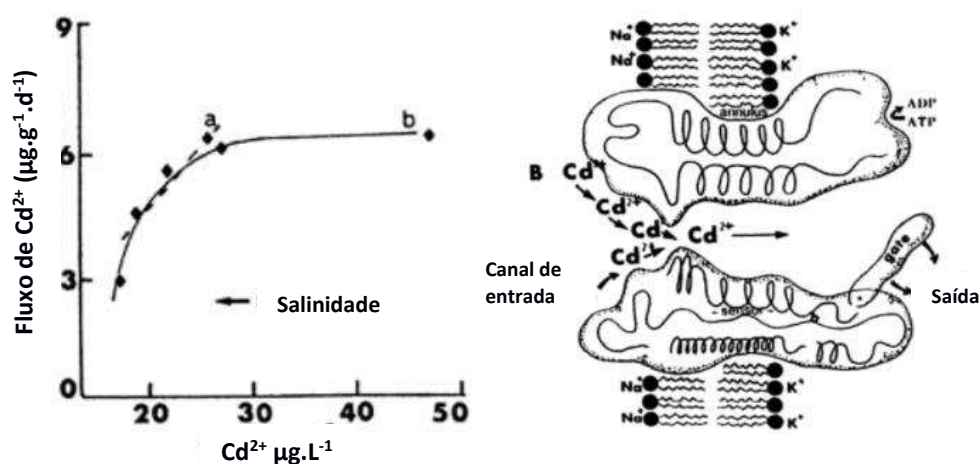
Keithly et al. (2004) testaram a toxicidade aguda e crônica do níquel para *C. dubia* em diferentes durezas. O menor valor encontrado (dureza  $50 \text{ mg.L}^{-1} \text{ CaCO}_3$ ) de CE50 foi  $81 \mu\text{g.L}^{-1}$  enquanto o maior (dureza  $253 \text{ mg.L}^{-1} \text{ CaCO}_3$ ) foi  $400 \mu\text{g.L}^{-1}$  nos ensaios de toxicidade aguda. Já para os ensaios crônicos de 7 dias, tiveram como efeitos avaliados, o de letalidade (CL20) e o de

inibição da reprodução (CE20), variando de menor que 3,8  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  a 10,4  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  e 6,9  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , respectivamente.

Cooper et al. (2009) estudaram a toxicidade de cobre, chumbo e zinco para *C. dubia* e *Daphnia carinata*, de forma aguda e crônica e também os efeitos de misturas destes três metais. Os autores concluíram que o cobre foi o metal mais tóxico para ambas as espécies, tanto em termos agudos quanto crônicos. A toxicidade apresentada foi de CL50;48h de 18,0  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  e CE50;7-d de 1,8  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  para *C. dubia* e CL50;48h 37,3  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  para *D. carinata*. A espécie *C. dubia* se mostrou mais sensível a todos os metais testados isoladamente. Já com relação às misturas, foi observado um efeito agudo sinérgico de Cu e Pb e antagônico de Pb e Zn. A combinação de Cu e Zn apresentou efeito sinérgico para *D. carinata*, mas não para *C. dubia*. Misturas dos três metais apresentaram efeito sinérgico para *C. dubia*. Os autores ressaltam que, nestas misturas, alguns metais estavam em concentrações inferiores aos seus limites legais, mas, ainda assim, elas causaram letalidade aos organismos, o que indica que a toxicidade destes metais pode estar sendo subestimada quando os mesmos não se encontram isolados.

A toxicidade crônica do chumbo a *C. dubia* também foi estudada por Mager et al. (2011) em função de diferentes parâmetros físico-químicos da água como pH, dureza, alcalinidade e concentração de matéria orgânica. Os valores de 7-d CE50 variaram de 7,6  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  até 685  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , sendo que os autores concluíram que a concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$  não afeta de forma significativa a toxicidade crônica do chumbo, enquanto que pH, dureza e, principalmente, a presença de matéria orgânica tem efeito protetivo como esperado.

Rainbow et al. (1993) perceberam que a toxicidade do cádmio ao anfípodo do gênero *Orchestia* estava provavelmente relacionada à absorção deste metal por canais de cálcio na membrana das células do organismo. A toxicidade do  $\text{Cd}^{2+}$  aumentava conforme a atividade do íon sódio, porém a partir de 30  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  de concentração ocorria uma estabilização, devido à saturação dos canais pelo cádmio, como pode ser observado na Figura 9. Dentre as espécies de água doce de crustáceos, os anfípodos são mais sensíveis ao cobre (HALL JR et al., 1998).



**Figura 9** - Saturação de  $\text{Cd}^{2+}$  nos canais de cálcio na membrana.

Fonte: Adaptado de NEWMAN e JAGOE (1996)

À esquerda, na Figura 9, o gráfico relaciona o fluxo de  $\text{Cd}^{2+}$  para o interior da célula com a concentração de  $\text{Cd}^{2+}$  em solução, mostrando uma estabilização do fluxo acima de 30  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ . À direita, o esquema mostra como ocorreria a saturação do canal na membrana celular em concentrações de  $\text{Cd}^{2+}$  elevadas, acima de 30  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ .

*Daphnia magna* também é uma espécie de crustáceo bastante utilizada em ensaios de toxicidade. Biesinger e Christensen (1972) testaram a toxicidade aguda e crônica de diversos metais para *D. magna*. Seus resultados sugerem que o cobre é mais tóxico em ensaios agudos sem acréscimo de alimento (CL50;48h igual a 9,8  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) do que em ensaios crônicos com acréscimo de alimento (CL50 de 3 semanas igual a 44  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ). A maioria dos metais, no entanto, foi de uma a duas vezes mais tóxico nos ensaios crônicos que nos agudos.

Winner e Farrel (1976) mostraram que, se utilizado o parâmetro de letalidade para ensaios agudos, a diferença de resposta de várias espécies de *Daphnia* é desprezível e, portanto, a utilização de *D. magna* pode representar bem o zooplâncton de qualquer região, mesmo naquelas em que esta não é a espécie predominante. Os valores médios de CL50;72h do cobre foram 86,5  $\mu\text{g.L}^{-1}$  para *D. magna*, 86,0  $\mu\text{g.L}^{-1}$  para *D. pulex*, 72,0  $\mu\text{g.L}^{-1}$  para *D. parvula* e 67,7  $\mu\text{g.L}^{-1}$  para *D. ambigua*. Já para ensaios crônicos que duram o tempo de uma geração das espécies, a utilização de espécies menores de *Daphnia* é mais recomendada, visto que os efeitos na sua longevidade ficam mais aparentes.

Wong et al. (2009) relacionaram a toxicidade de diferentes espécies de cladóceros e copépodos, calculando o limite de toxicidade que causa efeito deletério a 5% e 10% das espécies de cada grupo. Seus resultados mostraram que cladóceros são mais sensíveis que copépodos em relação ao Cd e ao Cu, mas não há muita diferença entre os grupos para Pb, Ni e Zn. Os autores também constataram que as três espécies mais utilizadas de cladóceros (*Daphnia magna*, *Daphnia pulex* e *Ceriodaphnia dubia*) em ensaios de toxicidade padronizados têm diferenças quanto a sensibilidade aos metais. *C. dubia* apresentou-se a mais sensível das três, enquanto *D. magna* se mostrou a mais resistente, o que levou à conclusão de que o tamanho corporal da espécie tem um papel importante na sensibilidade de cladóceros aos metais.

Ao contrário de Winner e Farrel (1976), Wong et al. (2009) sugerem que talvez *D. magna* não seja a espécie mais indicada para realizar ensaios de toxicidade representando seu nível trófico. Os autores mostram que, quando comparados com outras espécies de cladóceros, as três espécies citadas acima só são as mais sensíveis com relação ao Ni. E ainda assim, dentre as três, por ser a maior espécie de cladóceros e maior que boa parte dos copépodos, *D. magna* pode não ser um bom representativo do zooplâncton de águas doces.

### 4.3 PEIXES

A toxicidade dos metais está relacionada com a interação dos íons livres dos mesmos com as células da superfície das brânquias, gerando um efeito tóxico direto sobre essa superfície ou um efeito passivo ou ativo na permeabilidade da membrana celular (KÖCK e HOFFER, 1998).

Peixes em águas acidificadas frequentemente contêm grandes concentrações de metais em seus tecidos (SPRY e WIENER, 1991). Segundo Santore et al., 2001, a toxicidade aguda de metais em peixes de água doce geralmente é relacionada à interrupção dos canais reguladores na membrana. Desta forma, os autores assumem no modelo BLM para peixes que a toxicidade aguda de alguns metais envolve os mecanismos de transporte de  $\text{Na}^+$  e  $\text{Ca}^{2+}$  nas brânquias. Os metais  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$  e  $\text{Cr}^{3+}$  aparentemente afetam, principalmente, os canais de  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$ , enquanto  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  e  $\text{Mn}^{2+}$  afetam a regulação do cálcio (SHEPHERD e SIMKISS, 1978).

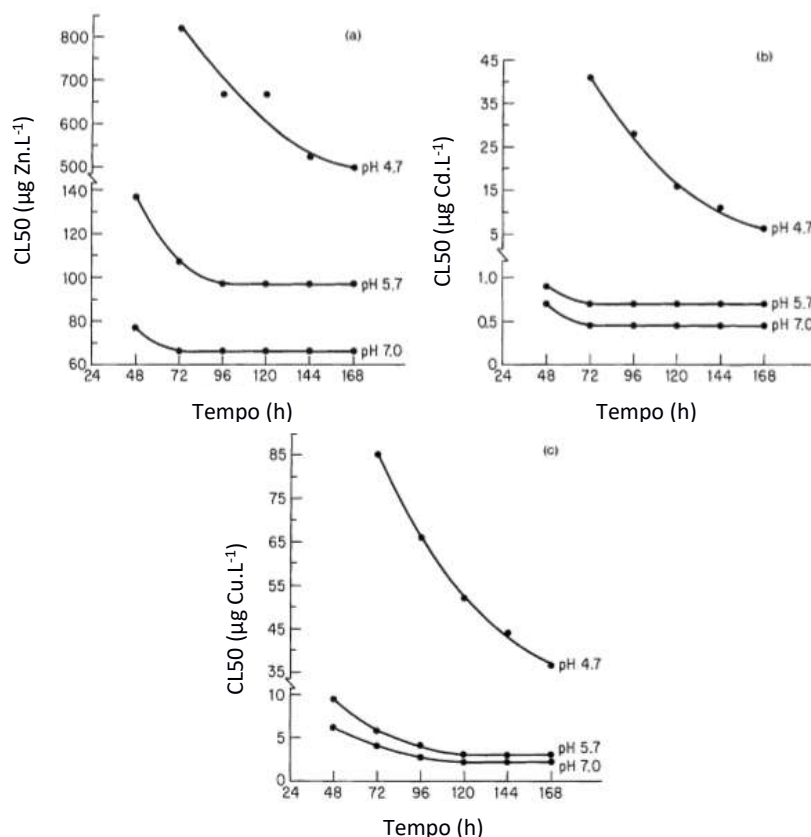
Playle et al. (1992) afirmam que em águas muito moles (10 a 13 mg CaCO<sub>3</sub>.L<sup>-1</sup>), peixes estão à beira de problemas na regulação de íons e qualquer aumento na concentração de metais (ou H<sup>+</sup>) pode ocasionar a perda de íons do plasma celular dos organismos. Segundo estudos de Laurén e McDonald (1985) com *Salmo gairdneri* em água mole, 12,5 a 50 µg.L<sup>-1</sup> de Cu causaram perdas plasmáticas de Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> em períodos de 12 a 24 h. Este efeito pode ser atribuído a redução do fluxo de entrada destes íons nos tecidos, visto que o cobre inibe a atividade da enzima Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase e um aumento da permeabilidade da membrana, favorecendo a saída dos mesmos (Playle et al., 1992)

Mount e Stephan (1969) estudaram os efeitos tóxicos crônicos do cobre para *Pimephales promelas* em água com dureza de 30 mg.L<sup>-1</sup> CaCO<sub>3</sub>. Os autores descobriram que 18,4 µg.L<sup>-1</sup> de Cu causava letalidade a 50% dos indivíduos e impediam a desova. Van Genderen et al. (2005) mostraram que os valores de CL50;48h do cobre para larvas de *P. promelas* em 10 condições padrão de ensaios de toxicidade variavam de 19,6 µg.L<sup>-1</sup> a 86 µg.L<sup>-1</sup>, com valor médio de 43,7 µg.L<sup>-1</sup>.

No nível trófico dos peixes, as famílias Cyprinidae e Salmonidae apresentam as espécies mais sensíveis ao cobre, dentre as espécies de peixes de água doce. Já na água salgada, as famílias Pleuronectidae, Antherinidae e Moronidae são mais sensíveis. (HALL JR et al., 1998).

Para o zinco, o mecanismo de ação tóxica geralmente é relacionado com a interrupção dos canais de absorção de cálcio nas células das brânquias, ao invés dos canais de sódio relacionados ao cobre (HYNE et al., 2005). A hipoxia dos tecidos é apontada como consequência da exposição de *Oncorhynchus mykiss* e, provavelmente, de outras espécies quando expostas a concentrações tóxicas agudas de zinco (BURTON et al., 1972).

Cusimano et al. (1986) mostraram que a CL50;96h do Zn para *O. mykiss* variava de 66 µg.L<sup>-1</sup> a 671 µg.L<sup>-1</sup> dependendo do pH. No entanto, ao se comparar com a CL50;168h do mesmo metal, os valores observados são pouco menores: os mesmos 66 µg.L<sup>-1</sup> em pH mais elevado e 501 µg.L<sup>-1</sup> em pH mais baixo. Na verdade, um comportamento parecido é observado para os três metais estudados, como pode ser observado nos gráficos da Figura 10.



**Figura 10** - CL50 do Zn (a), Cd (b) e Cu (c) em função do tempo de exposição para três valores de pH.

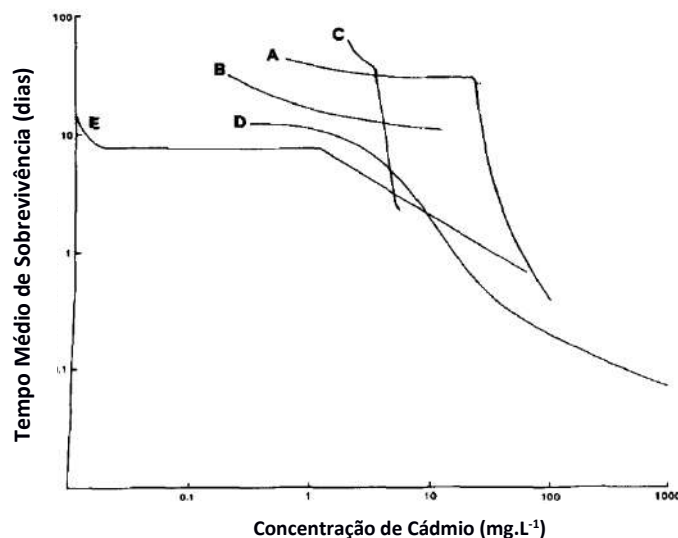
Fonte: Adaptado de CUSIMANO et al. (1986)

De Schampelaere e Janssen (2004b) analisaram a toxicidade crônica do zinco em 30 dias de exposição de *O. mykiss* variando diversos aspectos físico-químicos de modo a construir um modelo BLM para a toxicidade crônica do zinco a esta espécie. Seus resultados apresentaram CL50;30-d que variaram de 108 µg.L<sup>-1</sup> a 1860 µg.L<sup>-1</sup> dependendo das condições de pH, dureza, íons dissolvidos, etc. Contudo, ao comparar os resultados crônicos com resultados de CL50;96h as diferenças observadas foram pequenas, com razões entre os dois fatores de 0,59 e 0,99 dependendo das condições, indicando que a mortalidade ocorre principalmente nos primeiros 4 dias de exposição. Além disso, na maior parte dos ensaios a mortalidade cessou entre os dias 7 e 14, indicando que o principal mecanismo de toxicidade do zinco é agudo e ocorre em indivíduos juvenis.

O mecanismo sugerido de ação do cádmio é parecido, com o Cd<sup>2+</sup> (um metal não essencial) entrando no organismo por meio da interrupção de um canal de Ca<sup>2+</sup> na membrana e causando hipocalcemia. Isto pode ser explicado pelo fato de que os dois cátions têm raios muito próximos (0,97 Å e 0,99 Å, respectivamente) e interações semelhantes ao longo do canal da membrana (NEWMAN e JAGOE, 1996). Cusimano et al. (1986) encontraram CL50;4-d para o cádmio menor que 0,5 µg.L<sup>-1</sup> em pH 7,0 e 28 µg.L<sup>-1</sup> em pH 4,7.

Em termos crônicos, Abel e Papoutsoglou (1986) chamaram a atenção que para o cádmio a toxicidade expressa em termos de CL50 pode não ser a melhor forma de retratar o que acontece na realidade. Isto porque ao longo do tempo de ensaios crônicos, a mortalidade de peixes em função da concentração de cádmio tende a apresentar um intervalo em que ela é pouco alterada para várias concentrações do metal. De fato, ao comparar seu trabalho com o de outros autores, ajustando os valores para a mesma escala, Abel e Papoutsoglou constataram

que as curvas de tempo de sobrevivência por concentração de  $\text{Cd}^{2+}$  apresentavam comportamento semelhante (Figura 11).



**Figura 11** - Tempo de sobrevivência médio em dias por concentração de cádmio para diferentes espécies de peixes: *Tilapia aurea* (A), *Cyprinus carpio* (B), *Noemacheilus barbatulatus* (C) (SOLBE e FLOOK apud ABEL e PAPOUTSOGLU, 1986), *Gasterosteus aculeatus* (D) (PASCOE e CRAM apud ABEL e PAPOUTSOGLU, 1986) e *Salmo gairdneri* (BALL apud ABEL e PAPOUTSOGLU, 1986).

Fonte: Adaptado de ABEL e PAPOUTSOGLU (1986)

Abel e Papoutsoglou (1986) sugerem que a toxicidade crônica do cádmio deva então ser expressa em termos da curva completa de efeito e não apenas em valor de CL50, de modo a representar melhor a realidade e permitir a comparação entre espécies.

A exposição ao chumbo de peixes em estágios iniciais da vida também causa efeitos na mortalidade e crescimento. Conforme o chumbo é absorvido e a concentração no sangue aumenta, uma enzima (ALA-D) que é parte da rota sintética da hemoglobina é inibida. Esta inibição é característica do chumbo (SPRY e WIENER, 1991). Grande e Andersen (1983) encontraram CL50;96h para *O. Mykiss* de 1170  $\mu\text{g.L}^{-1}$  em água de dureza 28  $\text{mg.L}^{-1}$   $\text{CaCO}_3$  enquanto Spehar e Fiandt (1986) encontraram 2100  $\mu\text{g.L}^{-1}$  para *P. promelas* em água de dureza 44  $\text{mg.L}^{-1}$   $\text{CaCO}_3$ .

O efeito tóxico do níquel em peixes, ao contrário do cobre, zinco e cádmio, parece não ter relação com inibições na regulação de íons e sim com a inibição da troca de gás para a respiração, mediante uma alteração histológica das brânquias (KOZLOVA et al., 2009; PANE et al., 2004). Pyle et al. (2002) fizeram ensaios em diferentes condições para analisar a toxicidade do níquel para *P. promelas* em função de diferentes aspectos físico-químicos. Os valores de CL50;96h variaram de 0,45  $\text{mg.L}^{-1}$  a 2,27  $\text{mg.L}^{-1}$ . Para *O. mykiss*, Brix et al. (2004) encontraram CL50;96h igual a 20,8  $\text{mg.L}^{-1}$  em dureza de 91  $\text{mg.L}^{-1}$   $\text{CaCO}_3$ , porém normalizando este valor para dureza de 50  $\text{mg.L}^{-1}$  de acordo com o indicado por agências reguladoras (USEPA, 1986) chega-se a 12,8  $\text{mg.L}^{-1}$  de CL50.

Já no aspecto crônico, Brix et al. (2004) encontraram valores de CENO e CEO altos para o níquel, iguais a  $466 \mu\text{g.L}^{-1}$  e maior que  $466 \mu\text{g.L}^{-1}$ , respectivamente.

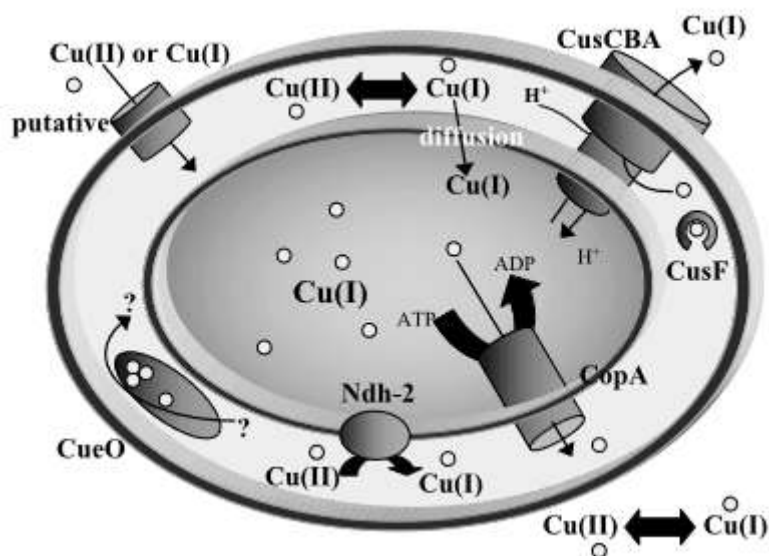
#### 4.4 BACTÉRIAS

Apesar do efeito tóxico causado por metais pesados em excesso, bactérias são conhecidas na literatura por apresentarem resistência a estes metais. É importante entender o mecanismo de resistência destes microrganismos para o estudo da ecotoxicidade e de habitats naturais contaminados por metais (GADD e GRIFFITHS, 1978).

A produção de  $\text{H}_2\text{S}$  por algumas bactérias pode gerar uma proteção à toxicidade dos metais, visto que a maioria dos metais forma sulfetos insolúveis, diminuindo sua biodisponibilidade. Algumas bactérias produtoras de ácido sulfídrico podem inclusive proteger outras espécies de organismos quando presentes na solução. Outro mecanismo de proteção observado é a adsorção dos íons metálicos na parede celular da bactéria, impedindo que o mesmo vá para o espaço intracelular ou até mesmo seja absorvido por outros organismos. Metais como cobre, zinco e cádmio podem complexar com ácidos poligalacturônicos, um importante constituinte das camadas mais externas da parede celular bacteriana (GADD e GRIFFITHS, 1978).

Outras formas de resistência podem ser relacionadas à transformação de metais dentro da bactéria, seja por oxirredução ou pela formação de organometálicos, em ambos os casos inativando o metal por conta da precipitação. Ainda, estudos mostram que algumas bactérias possuem uma resistência genética a metais assim como ocorre com a resistência a antibióticos (RENSING e GRASS, 2003). Apesar da maioria dos metais poderem apresentar resistência genética nas bactérias, mercúrio e cádmio foram mais extensivamente estudados, visto que a diferença entre culturas resistentes e sensíveis é grande e, portanto, mais facilmente mensurável. Para os outros metais essa diferença pode ser sutil, dificultando os estudos (GADD e GRIFFITHS, 1978).

A Figura 12 ilustra uma representação esquemática de processos de absorção e transformação de cobre pelas bactérias. O cobre entra na célula na forma de  $\text{Cu}^{2+}$ , porém sofre diversos processos de transformação em  $\text{Cu}^{1+}$  (reduzido), de forma que ele não interage com as mesmas vias metabólicas que o  $\text{Cu}^{2+}$  e pode ser então excretado por canais específicos (RENSING e GRASS, 2003). Estes processos podem ser uma das explicações para a relativa resistência de bactérias à toxicidade provocada por metais.



**Figura 12** - Representação dos mecanismos de absorção e transformação de cobre por *Escherichia coli*. São mostrados os principais mecanismos de homeostase da bactéria.

Fonte: RENSING e GRASS (2003)

Rathnayake et al. (2013) estudaram a composição de meios de cultura para ensaios de toxicidade de metais pesados com bactérias de três espécies distintas. Os autores utilizaram 3 meios comuns na literatura e um preparado por eles para investigar a toxicidade do cobre e do cádmio a *Bacillus megaterium*, *Bacillus thuringiensis* e *Bacillus simplex*. Os valores de CE50 estimados variaram de 0,034 mg.L<sup>-1</sup> a 5,888 mg.L<sup>-1</sup> para o Cd e de 0,001 mg.L<sup>-1</sup> até maior que 8 mg.L<sup>-1</sup> para o Cu.

Há ainda outra variante da ação do cobre sobre bactérias. Grey e Steck (2001) mostraram que o cobre pode funcionar como um agente indutor do estado viável mas não cultivável (conhecido como VBNC – *Viable But Nonculturable*), isto é, os organismos continuam vivos, porém param de se multiplicar, em um nível metabólico muito baixo, para algumas espécies de bactérias. Os autores cultivaram células de *Escherichia coli* em uma solução 500 µmol.L<sup>-1</sup> por 10 dias, observando uma aparente morte da maior parte das células. Depois de vários dias, as células foram recultivadas e observou-se que a maior parte das células retomou suas atividades metabólicas, com a possibilidade de que novas células tenham apenas voltado a crescer devidamente descartada pelos autores. Assim, o cobre foi indicado como um agente indutor do estado VBNC para *E. coli* mesmo em concentrações até então consideradas tóxicas.

A resistência das bactérias ao cobre pode ser bastante significativa. Trevors e Cotter (1990) afirmaram que uma cepa resistente de *E. coli* foi capaz de crescer na presença de 20 mmol.L<sup>-1</sup> de Cu enquanto sua variante sensível teve o crescimento inibido acima de 6 mmol.L<sup>-1</sup>. Contudo, as diferenças entre cepas resistentes e sensíveis não se aplica somente ao íon livre do metal. Ainda segundo Trevors e Cotter (1990), cepas diferentes de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* apresentaram sensibilidades diferentes a 1200 mg/L CuSO<sub>4</sub> · 5 H<sub>2</sub>O, Cu(OH)<sub>2</sub> e CuSO<sub>4</sub>, mostrando que a forma como o metal é administrado também é importante no processo de resistência a toxicidade. Estas diferenças complicam a comparação de resultados de ensaios padronizados e uma sugestão dos autores é a utilização de outros parâmetros que não o crescimento celular, como a medida de atividade enzimática ou respiratória.



O zinco é um metal essencial para o crescimento de vários microrganismos, mas quando em excesso pode se tornar um inibidor de crescimento ou de certas atividades celulares. Babich e Stotzky (1978) estudaram a ação tóxica do zinco para vários microrganismos, incluindo quatro espécies de bactéria, em diferentes concentrações de  $\text{Cl}^-$ , devido à capacidade do zinco de formação de diferentes complexos com o cloreto. Com os resultados os autores concluíram que uma concentração de  $10 \text{ mmol.L}^{-1}$  foi responsável por diminuir a sobrevivência de *E. coli* depois de 3 h de incubação, porém não provocou efeitos significativos em *Pseudomonas aeruginosa* e *Nocardia corallina* e até mesmo melhorou a de *Bacillus cereus*. Em comparação com outros metais divalentes como cobre, chumbo e mercúrio, os autores ressaltam que concentrações maiores de zinco foram necessárias para inibir a sobrevivência das bactérias.

O cádmio é extremamente tóxico para a maioria das culturas puras de bactérias e cianobactérias. Otah e Udaka (1977) isolaram uma variante de *E. coli* supersensível ao  $\text{Cd}^{2+}$  e constataram que o crescimento foi inibido em concentrações muito baixas do metal ( $0,5 \text{ } \mu\text{mol.L}^{-1}$ ), aproximadamente 1000 vezes menores que as concentrações limites das células parentais comuns.

Apesar de não ser um metal essencial, o cádmio é, provavelmente, absorvido pela célula bacteriana por canais de  $\text{Mn}^{2+}$ . Laddaga et al. (1985) estudaram diferentes variantes de *Bacillus subtilis* e notaram que as mutantes mais sensíveis acumularam três vezes mais  $\text{Cd}^{2+}$  que as mais resistentes. No entanto, após 5 min de incubação em soluções de  $\text{Cd}^{2+}$  ou  $\text{Mn}^{2+}$  nas mesmas concentrações, ambas as cepas acumularam a mesma quantidade de  $\text{Mn}^{2+}$  o que indica que o acúmulo de  $\text{Cd}^{2+}$  ocorre via canais de  $\text{Mn}^{2+}$ , mas o mecanismo de resistência não afeta a absorção do manganês em si (TREVORS et al., 1986).

A bactéria mais comum utilizada em ensaios ecotoxicológicos é a *Allivibrio fischeri* (*Vibrio fischeri*), uma bactéria bioluminescente que quando cresce regularmente, produz luz como um subproduto de seu processo de respiração celular. Como a respiração celular está associada a vários processos necessários para o crescimento da célula e manutenção da vida, qualquer atividade tóxica que iniba a respiração celular terá consequências na produção de luz dos organismos. Quanto mais tóxica a amostra, menor será a emissão de luminosidade em relação ao controle do ensaio (SOUPILAS et al., 2008).

Mansour et al. (2015) utilizaram o teste padronizado *Microtox*<sup>®</sup> com a bactéria *A. fischeri* para comparar a toxicidade de alguns metais e componentes orgânicos. Os autores concluíram que, dos três metais avaliados, o cobre era o mais tóxico com uma  $\text{CE50}_{5\text{min}}$  de  $4200 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ , seguido pelo cádmio com  $4530 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$  e pelo chumbo com  $6600 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ . Para 15 min de ensaios, a  $\text{CE50}$  de todos os metais foi, em geral, menor, porém a ordem de toxicidade se manteve, com o cobre sendo o mais tóxico e o chumbo o menos tóxico. Por fim, os autores comparam seus resultados com outros encontrados na literatura para 15 min de exposição, encontrando uma grande discrepância em alguns casos, como pode ser observado na Tabela 4.

**Tabela 4** - Comparação entre a CE50;15min para *A. fischeri* obtida por Mansour et al. e outros estudos da literatura.

Metal	Mansour et al. (2015) ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	Outros Estudos ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	Fonte ( <i>apud</i> MANSOUR et al., 2015)
Cu	2840	350	Fulladosa et al. (2005)
		170	Newman e McCloskey (1996)
		457	Codina et al. (2000)
		2740	Mowat e Bundy (2002)
		10900	Fulladosa et al. (2005)
Cd	4470	21900	Newman e McCloskey (1996)
		59300	Mowat e Bundy (2002)
		34700	Codina et al. (2000)
		120	Fulladosa et al. (2005)
Pb	5830	177	Newman e McCloskey (1996)
		427	Mowat e Bundy (2002)

Fonte: Adaptado de Mansour et al. (2005)

Sua relativa baixa sensibilidade a metais (em comparação com crustáceos *Daphnia*, por exemplo) torna bactérias como a *Allivibrio fischeri* inadequadas para se estudar os efeitos toxicológicos destes agentes. Elas são mais indicadas para estudos de ecotoxicidade complexos, em que sua alta tolerância aos metais pode ser usada até mesmo como uma vantagem, permitindo a identificação de outros agentes tóxicos que possam estar presentes na amostra (TEODOROVIC et al., 2009; MANSOUR et al., 2015).

Outra crítica feita aos ensaios com *A. fischeri* é que ela é uma bactéria marinha e que, portanto, exige um mínimo de salinidade no meio para sua sobrevivência. Assim, torna-se necessário muitas vezes salinizar a amostra para a realização do teste, o que pode alterar a toxicidade resultante, principalmente no caso de metais. Além disso, em ensaios feitos para água doce, a resistência natural à salinidade da *A. fischeri* pode mascarar efeitos tóxicos da amostra para os organismos do meio de interesse (ARENZON et al., 2011).

#### 4.5 COMPARAÇÃO DA ECOTOXICIDADE DE METAIS EM RELAÇÃO AOS DIFERENTES NÍVEIS TRÓFICOS

Schubauer-Beringan et al. (1993a) realizaram ensaios com quatro organismos de diferentes níveis tróficos para os metais Zn, Cu, Ni, Pb e Cd em três valores de pH. Os organismos utilizados foram os crustáceos *Ceriodaphnia dubia* e *Hyalella azteca*, o peixe *Pimephales promelas* e o anelídeo *Lumbriculus variegatus*. Os autores atentam para o fato de que os valores de toxicidade de quase todos os metais a *L. variegatus* foram muito baixos e certas vezes estavam acima do limite de solubilidade daqueles metais. Em pH 6-6,5, o cobre foi o metal mais tóxico para todas as espécies. De um modo geral, o microcrustáceo *C. dubia* demonstrou maior sensibilidade à maioria dos metais, o que a torna uma boa espécie bioindicadora para este tipo de poluente. Os resultados completos podem ser vistos na Tabela 5.

**Tabela 5** - CL50 de 4 espécies de organismos-teste em três faixas de pH diferentes para zinco, cobre, níquel, chumbo e cádmio.

Metal	Espécie	CL50* ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )		
		pH 6 – 6,5	pH 7 – 7,5	pH 8 – 8,5
Zn	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	>530	360	95
	<i>Hyalella azteca</i>	1200	1500	290
	<i>Pimephales promelas</i>	780	330	500
	<i>Lumbriculus variegatus</i>	>5000	>5000	>5000
Cu	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	9,5	28	200
	<i>Hyalella azteca</i>	17	24	87
	<i>Pimephales promelas</i>	15	44	>200
	<i>Lumbriculus variegatus</i>	130	270	500
Ni	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	>200	140	13
	<i>Hyalella azteca</i>	2000	1900	890
	<i>Pimephales promelas</i>	>4000	3400	3100
	<i>Lumbriculus variegatus</i>	100000	75000	26000
Pb	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	280	>2700	>2700
	<i>Hyalella azteca</i>	<90	>5400	>5400
	<i>Pimephales promelas</i>	810	>5400	>5400
	<i>Lumbriculus variegatus</i>	>8.000	>8000	>8000
Cd	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	560	350	120
	<i>Hyalella azteca</i>	230	<25	5
	<i>Pimephales promelas</i>	73	60	65
	<i>Lumbriculus variegatus</i>	780	780	780

\*CL50 determinada em 48 h para *C. dubia* e 96 h para *P. promelas*, *H. azteca* e *L. variegatus*.

Fonte: Adaptado de SCHUBAUER-BERINGAN et al. (1993a)

Hall Jr et al. (1997) fizeram uma análise de risco toxicológico do cobre e do cádmio presentes nas águas superficiais de Chesapeake Bay, EUA. Para tal, os autores reuniram informações sobre a toxicidade dos dois metais para os vários níveis tróficos presentes na água de interesse. Segundo eles, para água doce, o cobre apresenta toxicidade aguda, em termos de CE50 e CL50, variando entre  $1,3 \mu\text{g.L}^{-1}$  para *Daphnia* e  $13.000 \mu\text{g.L}^{-1}$  para um tipo de inseto aquático. De modo a comparar a toxicidade de diferentes espécies, os autores calcularam a concentração limite de proteção de 90% das espécies estudadas (que causa algum tipo de dano a 10% das espécies). Apesar das variações observadas para diferentes espécies e níveis tróficos, o 10%-valor de todas as espécies juntas e dividido por nível trófico ficaram próximos ( $8,3 \mu\text{g.L}^{-1}$  e  $6,9-10,8 \mu\text{g.L}^{-1}$ , respectivamente). Já para água salgada, a toxicidade do cobre varia de  $1,2 \mu\text{g.L}^{-1}$  para um crustáceo até  $346.700 \mu\text{g.L}^{-1}$  para uma espécie de caranguejo. O 10%-valor para águas salgadas de todas as espécies fica em  $2,1 \mu\text{g.L}^{-1}$ , desta vez estando distante dos de alguns níveis tróficos como o de  $16,1 \mu\text{g.L}^{-1}$  calculado para os peixes.

Em níveis crônicos, a toxicidade do cobre em água doce varia de  $3,9 \mu\text{g.L}^{-1}$  a  $60,4 \mu\text{g.L}^{-1}$  entre espécies, sendo que o 10%-valor de todas as espécies foi de  $3,8 \mu\text{g.L}^{-1}$ , quase metade do valor calculado para ensaios agudos, sendo o mais baixo observado no zooplâncton igual a 0,8

$\mu\text{g.L}^{-1}$ . Estes valores estão de acordo com a baixa razão observada entre os limites de toxicidade agudo e crônico para os metais (HALL JR et al., 1997).

Para o cádmio, Hall Jr et al. (1997) reportaram que a menor toxicidade aguda observada em água doce foi para o peixe *O. mykiss* ( $0,5 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) e o 10%-valor para todas as espécies foi de  $5,1 \mu\text{g.L}^{-1}$ , enquanto que o mais baixo é observado nos peixes, sendo igual a  $0,9 \mu\text{g.L}^{-1}$ . Para a água salgada, os valores de toxicidade vão de  $1,1 \mu\text{g.L}^{-1}$  para um crustáceo até  $135.000 \mu\text{g.L}^{-1}$  para um anelídeo. O 10%-valor de todas as espécies foi de  $31,7 \mu\text{g.L}^{-1}$  sendo que o maior é observado nos peixes igual a  $163 \mu\text{g.L}^{-1}$ . Os estudos crônicos para o cádmio levam a um 10%-valor de  $0,4 \mu\text{g.L}^{-1}$  para todas as espécies com  $0,03 \mu\text{g.L}^{-1}$  para zooplâncton e  $1,8 \mu\text{g.L}^{-1}$  para peixes, em água doce. Em água salgada os resultados reportados são poucos e variados demais para gerar boas correlações.

Baseados em seus resultados, Hall Jr et al. (1997) puderam analisar os níveis tróficos mais sensíveis a cada metal estudado e levar isso em conta no cálculo de risco ecológico proposto no trabalho. Por exemplo, peixes se mostraram visivelmente mais sensíveis ao cádmio em águas doces que os outros níveis tróficos, enquanto os crustáceos e outros membros do zooplâncton são mais sensíveis ao cobre a longo prazo. De modo geral, todas as espécies mostraram sensibilidade similar ao cobre em níveis agudos.

Na Tabela 6 estão reunidas as informações fornecidas ao longo deste capítulo sobre a toxicidade dos metais divalentes abordados para os diferentes níveis tróficos, segundo a literatura. Como os ensaios de toxicidade são realizados em diferentes condições, seria impossível e fugiria do escopo do presente trabalho fazer uma análise quantitativa de comparação da toxicidade, mas o objetivo da tabela é uma avaliação qualitativa de como os metais influenciam os diferentes níveis tróficos do ambiente aquático. Por meio dela é possível observar que, em geral, crustáceos são mais sensíveis que peixes aos metais estudados, exceto com relação ao cádmio. Além disso, o cobre se destaca como o metal mais tóxico em pH próximo de 7,0 a praticamente todas os organismos-teste apresentados.

**Tabela 6 - Tabela comparativa de sensibilidades de diferentes níveis tróficos aos metais abordados no trabalho (cobre, zinco, chumbo, níquel e cádmio).**

Tipo de Organismo	Ensaio	CE50 ou CL50 (µg.L <sup>-1</sup> )									
		Cu		Zn		Pb		Ni		Cd	
		Menor	Maior	Menor	Maior	Menor	Maior	Menor	Maior	Menor	Maior
Alga	Agudo	5,72 <sup>1</sup>	25,4 <sup>*,2</sup>	84,5 <sup>1</sup>	160 <sup>4</sup>	--	--	123,06 <sup>*,2</sup>	128,92 <sup>*,2</sup>	11,24 <sup>*,2</sup>	95,54 <sup>1</sup>
	Crônico	6,99 <sup>1</sup>	47 <sup>3</sup>		89,6 <sup>1</sup>	89,9 <sup>5</sup>	388 <sup>5</sup>	--	--		95,54 <sup>1</sup>
Crustáceo	Agudo	1,3 <sup>6</sup>	28 <sup>7</sup>	100 <sup>8</sup>	360 <sup>7</sup>	208,8 <sup>9</sup>	>2700 <sup>7</sup>	81 <sup>10</sup>	510 <sup>8</sup>	<25 <sup>7</sup>	350 <sup>7</sup>
	Crônico	1,8 <sup>9</sup>	35 <sup>8</sup>	21,8 <sup>9</sup>	102 <sup>8</sup>	5,1 <sup>9</sup>	685 <sup>11</sup>	6,9 <sup>10</sup>	95 <sup>8</sup>		0,7 <sup>8</sup>
Peixe	Agudo	2,8 <sup>**,12</sup>	44 <sup>7</sup>	66 <sup>**,12</sup>	330 <sup>7</sup>	1170 <sup>**,15</sup>	>5400 <sup>7</sup>	450 <sup>16</sup>	12800 <sup>17</sup>	<0,5 <sup>**,12</sup>	60 <sup>7</sup>
	Crônico	2,3 <sup>12</sup>	18,4 <sup>13</sup>	66 <sup>12</sup>	1860 <sup>14</sup>	--	--	--	--	--	--
<b>Nível trófico mais sensível</b>		<b>Crustáceos</b>		<b>Algas</b>		<b>Crustáceos***</b>		<b>Crustáceos***</b>		<b>Peixes</b>	

\* Valores de CE30 fornecidos pelos autores, espera-se que valores de CE50 sejam ligeiramente maiores.

\*\* CL50 referentes a 96 h de exposição, ao contrário dos outros ensaios agudos que se referem a 48 h de exposição.

\*\*\* Comparativo entre crustáceos e peixes, visto que os dados de algas são escassos.

Foram utilizados valores que representassem ensaios nas condições de pH (7-7,5) e dureza (em torno de 50 mg CaCO<sub>3</sub>.L<sup>-1</sup>) mais próximas possíveis.

<sup>1</sup> Franklin et al. (2002)

<sup>2</sup> Mcfie et al. (1994)

<sup>3</sup> Radix et al. (2000)

<sup>4</sup> Wilde et al. (2006)

<sup>5</sup> De Schampelaere e Janssen (2014)

<sup>6</sup> Hall Jr et al. (1998)

<sup>7</sup> Schubauer-beringan et al. (1993a)

<sup>8</sup> Biesinger e Christensen (1972)

<sup>9</sup> Cooper et al. (2009)

<sup>10</sup> Keithly et al. (2004)

<sup>11</sup> Mager et al. (2011)

<sup>12</sup> Cusimano et al. (1986)

<sup>13</sup> Mount e Stephan (1969)

<sup>14</sup> De Schampelaere e Janssen (2004)

<sup>15</sup> Grande e Andersen (1983)

<sup>16</sup> Pyle et al. (2002)

<sup>17</sup> Brix et al. (2004)

## 5. PRINCIPAIS FATORES FÍSICO-QUÍMICOS QUE INFLUENCIAM NA ECOTOXICIDADE DE METAIS

Conhecer as diferentes formas físico-químicas que os metais assumem é um ponto crucial para entender e prever o impacto que eventualmente poderão causar ao ecossistema. Quando em solução, incluindo nas águas naturais e efluentes, os metais podem se apresentar totalmente dissolvidos (lábeis), complexados ou associados a fases coloidais e adsorvidos em partículas (HYNE et al., 2005).

Assume-se que apenas estão biodisponíveis os metais em suas espécies lábeis, isto é, apenas estas espécies contribuem para a toxicidade do metal, pois só elas serão absorvidas pelos seres vivos. Nos modelos FIAM mais simples, apenas o íon livre do metal é considerado biodisponível. As outras espécies são não-biodisponíveis, formadas pela complexação do metal com ligantes orgânicos ou inorgânicos (DI TORO et al., 2001).

A toxicidade dos metais, portanto, não depende diretamente da concentração total do metal em solução. A complexação de metais e possíveis interações e competições entre os íons metálicos e outros íons presentes tanto em solução quanto no sítio específico onde o metal é absorvido gerando a toxicidade também devem ser consideradas (HEIJERICK et al., 2003).

Uma série de fatores do meio é capaz de alterar estes aspectos e, conseqüentemente, a toxicidade dos metais, incluindo: pH, alcalinidade, dureza, oxigênio dissolvido, temperatura, turbidez, salinidade, agentes quelantes, presença e tipo de matéria orgânica dissolvida (WANG, 1987; HYNE et al., 2005; COOPER et al., 2014).

No presente capítulo serão abordados os principais fatores físico-químicos que afetam a toxicidade de metais, elucidando os prováveis mecanismos pelos quais esta influência atua e também aspectos quantitativos da mesma.

### 5.1 pH

A toxicidade de metais em sistemas aquosos depende não só da sua especiação, como também da sua absorção na membrana celular do organismo sujeito a ela. O pH da solução é uma variável importante tanto para a especiação do metal quanto para a absorção na membrana (SCHUBAUER-BERINGAN et al., 1993a). No, entanto os efeitos do pH na toxicidade de metais pesados podem ser bastante variados e complexos (ERICKSON et al., 1996).

Para o cobre, por exemplo, o BLM prevê que um aumento do pH provocará uma diminuição na toxicidade do metal (DI TORO et al., 2001). Isto pode ser explicado por um aumento na quantidade de íons livres do metal em pH mais baixo (CAMPBELL e STOKES, 1985), respeitando o modelo do FIAM. Em pH 5,7 e temperatura ambiente, é previsto que 98% do cobre total dissolvido esteja na sua forma livre ( $\text{Cu}^{+2}$ ) com apenas uma pequena contribuição (1,6%) da forma  $\text{Cu}(\text{OH})_2$ , que é não-lábil (FRANKLIN et al., 2000).

Já em pH elevado, há um aumento da formação de complexos inorgânicos (como hidróxidos) e uma redução na concentração dos íons livres do metal e em sua biodisponibilidade, devido à menor solubilidade destas espécies (WANG et al., 2016).

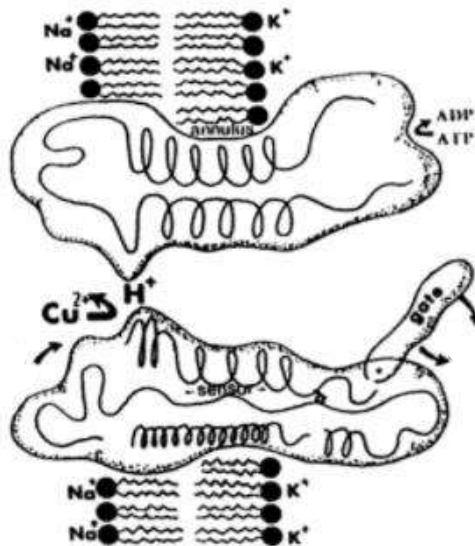
Schubauer-Beringan et al. (1993a) concluíram que o cobre apresentava maior toxicidade em pH baixo que elevado para os organismos *Ceriodaphnia dubia*, *Hyalella azteca*, *Pimephales promelas* e *Lumbriculus variegatus*. Ensaios de toxicidade conduzidos com *C. dubia* e estudos de bioacumulação com algas, invertebrados e peixes também indicaram um aumento da biodisponibilidade do cobre em valores mais baixos de pH. Esta tendência de diminuição da toxicidade do cobre com um aumento do pH sugere que estes organismos são mais sensíveis ao íon livre de cobre ( $\text{Cu}^{+2}$ ), estando de acordo com o modelo de ligante biótico (BLM) (HYNE et al., 2005).

Contudo, há alguns resultados contraditórios na literatura para a toxicidade do cobre em relação ao pH. Erickson et al. (1996) encontraram um declínio nos valores de CL50 para o íon de cobre em  $\text{pH} > 7$  em relação ao peixe *Pimephales promelas*. Nasu et al. (1983) demonstraram que tanto Cd quanto Cu causaram maior efeito deletério para a alga *Lemna paucicostata* em pH 5,1 do que em pH 4,1. Les e Walker (1984) descobriram que a capacidade de ligação dos metais Cu, Cd e Zn na alga *Chroococcus paris* aumentava quando o pH subia de 4 para 7, indicando maior toxicidade desses metais com o aumento do pH (WANG, 1987). Cusimano et al. (1986) mostraram que a toxicidade do cobre para o peixe *Oncorhynchus mykiss* em pH 7,0 era maior que em pH 4,7 (com CL50;96h igual a  $2,8 \mu\text{g.L}^{-1}$  e  $66 \mu\text{g.L}^{-1}$ , respectivamente).

Diversas explicações foram propostas para estes resultados opostos. Erickson et al. (1996) apontaram que valores mais baixos de CL50 em pH alto para o íon de cobre são consistentes com alguma toxicidade ser exercida por complexos de cobre que a princípio eram considerados não-biodisponíveis, como sugerido por Borgmann (1983). Andrew et al. (1977) já haviam proposto que alguns hidróxidos (como  $\text{CuOH}^+$  e  $\text{Cu(OH)}_2$ ) e alguns carbonatos (como  $\text{CuCO}_3$  e  $\text{Cu(CO}_3)_2^{2-}$ ) poderiam contribuir para a toxicidade do cobre em pH elevado. Condizentemente, Bui et al. (2016) encontraram melhores correlações ao considerar a biodisponibilidade de hidróxidos e carbonatos de cobre para os crustáceos *Daphnia humholtzi* e *Ceriodaphnia cornuta* e para o peixe *Dano rerio*. Cusimano et al. (1986) também propuseram que estes efeitos podiam ser causados por mecanismos fisiológicos. Em pH ácido, a secreção de muco pelo organismo pode mudar o ambiente em volta do ligante biológico, na superfície das células das brânquias de peixes, por exemplo, levando a uma precipitação dos metais e não absorção dos mesmos (PLAYLE e WOOD, 1989).

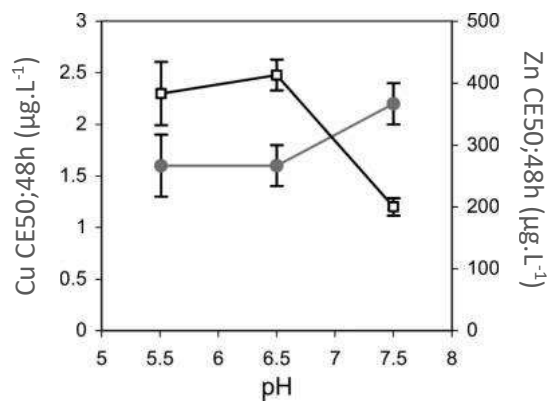
Outros metais como zinco também se comportam desta maneira, aumentando sua toxicidade com o aumento do pH. Este efeito também pode ser explicado por uma diminuição na competição do  $\text{Zn}^{+2}$  com íons  $\text{H}^+$  no ligante biótico (HYNE et al., 2005). A competição entre o  $\text{H}^+$  e o metal pelo ligante biótico também acontece com o cobre e este efeito é contrabalanceado com a complexação crescente do íon livre conforme o pH aumenta (DI TORO et al, 2001). Os íons  $\text{H}^+$  e o íon metálico competem pela superfície da célula, diminuindo a probabilidade de ligação do metal com a superfície celular e diminuindo sua permeabilidade, resultando em uma menor toxicidade em pH mais baixo, quando a acidez será maior (PETERSON et al., 1984; NEWMAN e JAGOE, 1996).

A Figura 13 apresenta um esquema representativo da competição entre os íons  $\text{H}^+$  e o íon metálico, que causaria redução na toxicidade em pH ácido. O íon  $\text{H}^+$  tem a capacidade de entrar no canal de sódio ou de cálcio, mesmo que é apontado como responsável pela absorção do cobre pela célula, acumulando-se quando em concentrações elevadas e impedindo a entrada do íon de cobre (NEWMAN e JAGOE, 1996). A Figura 14, por sua vez, mostra os efeitos distintos do aumento do pH na toxicidade do zinco e do cobre.



**Figura 13** - Esquema da competição entre o  $\text{Cu}^{2+}$  e o  $\text{H}^+$  pelo canal da membrana, provocando redução da toxicidade do metal em pH baixo.

Fonte: Adaptado de NEWMAN e JAGOE (1996)



**Figura 14** - Efeito do pH na toxicidade aguda de Cu (círculo) e Zn (quadrado) para *C. dubia*.

Fonte: Adaptado de HYNE et al. (2004)

A elevada estabilidade dos complexos de cobre, pode ser um motivo para, na maior parte das vezes, o efeito de complexação do aumento do pH superar o efeito da competição com o  $\text{H}^+$ . De fato, Hyne et al. (2005) calcularam a porcentagem de cada espécie de cobre e zinco em diferentes valores de pH em água mole. O resultado pode ser observado na Tabela 7.



**Tabela 7** - Especificação do cobre e do zinco em água mole sintética para três valores de pH à temperatura ambiente. Os números representam a porcentagem de cada espécie em relação à concentração total do metal.

Espécie	pH 5,5		pH 6,5		pH 7,5	
	Cobre	Zinco	Cobre	Zinco	Cobre	Zinco
M <sup>2+</sup>	90	93	71	91	17	87
MSO <sub>4</sub>	6,9	7,0	5,2	6,6	1,6	6,2
MOH <sup>+</sup>	--	--	5,8	--	17	2,8
MCO <sub>3</sub>	--	--	12	--	57	2,0
MMES*	1,5	--	4,8	1,2	--	--
MMOPS*	--	--	--	--	4,7	1,1

\*MES e MOPS são ácidos sulfônicos usados no tampão.

Fonte: Adaptado de HYNE et al. (2004)

Em pH 7,5, para uma mesma dureza e quantidade de orgânicos dissolvidos, a porcentagem de zinco livre ainda é bem alta, enquanto que para o cobre ela cai drasticamente com o aumento do pH. Assim, é possível supor que o mecanismo de competição com o H<sup>+</sup> para o zinco prevalece, provocando um aumento da toxicidade com o aumento do pH. Já para o cobre, nas condições apresentadas, a complexação tem muito mais influência em sua toxicidade e esta é favorecida pelo aumento do pH. A concentração de íon livre nas condições de águas naturais varia em torno de 50, 40 e 1% da concentração total do metal para cádmio, zinco e cobre, respectivamente (SIGG e XUE, 1994).

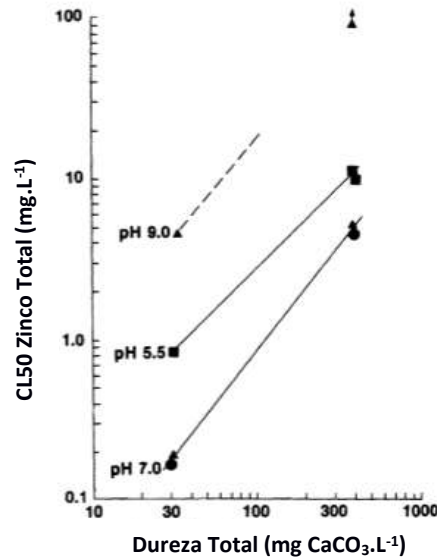
Bradley e Sprague (1985) já haviam afirmado que, tanto em água mole quanto dura, o zinco se tornava mais tóxico conforme o pH aumentava (de 5,5 para 7,0) e que, nesta faixa de pH, este efeito não podia ser resultado de alterações na especificação do zinco, visto que quase todo o zinco presente estaria na forma de [Zn(H<sub>2</sub>O)<sub>6</sub>]<sup>+2</sup>, portanto, lábil.

A capacidade de sorção de zinco, cobre e cádmio para a alga *Chroococcus paris* aumentou de pH 4 para pH 7 (LES e WALKER, 1984). O mesmo pode ser observado para as algas hepáticas aquáticas *Scapania* (WHITTON et al. 1982). Stary et al. (1983) chegaram à conclusão de que, para a alga *Scenedesmus obliquus*, a absorção de zinco e cádmio era uma função linear do pH na faixa de 5 a 9.

Contudo, há também alguns resultados aparentemente contraditórios na literatura com relação ao zinco. Belanger e Cherry (1990) encontraram uma toxicidade superior do zinco para *C. dubia* em pH 6 do que em pH 9. Heijerick et al. (2003) encontraram resultados semelhantes, com aumento da toxicidade do zinco para *D. magna* em pH 6 em comparação com pH 9, porém com relação à toxicidade crônica do metal. No entanto, Bradley e Sprague (1985) já haviam comentado que, em pH 9, a maior parte do zinco estará precipitada, o que significaria naturalmente uma toxicidade inferior, considerando-se que o precipitado de Zn(OH)<sub>2</sub> não é tóxico. Esta relação pode ser observada na Figura 15.

Schubauer-Beringan et al. (1993a) realizaram ensaios em água muito dura (300 mg.L<sup>-1</sup> de CaCO<sub>3</sub>) em três valores de pH distintos (6,3, 7,3 e 8,3) e determinou a influência do mesmo na toxicidade de diversos metais para quatro organismos diferentes (*C. dubia*, *H. azteca*, *P.*

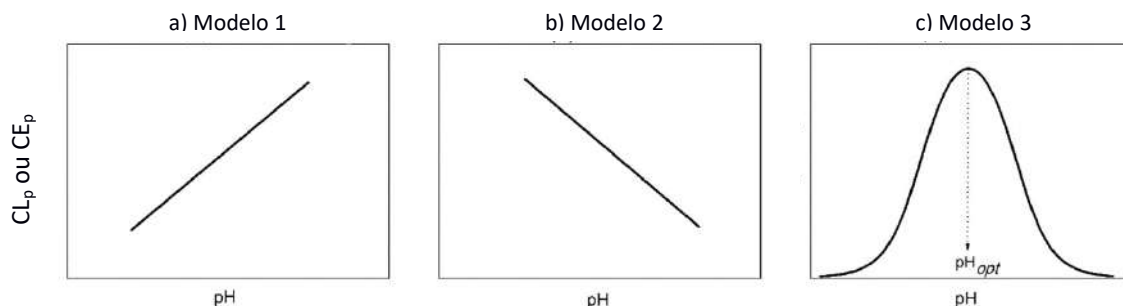
*promelas* e *L. variegatus*). Os autores concluíram que, quando observada variação da toxicidade pelo pH, cobre e chumbo aparentavam ser mais tóxicos em pH baixo, enquanto zinco, níquel e cádmio se comportavam de forma oposta. Wang (1987) diz que as evidências, em geral, indicam que Cd, Cu e Zn aumentam sua toxicidade com o aumento do pH, enquanto Hg, Ni, Mn, Cu e Pb diminuem sua toxicidade com o aumento do pH.



**Figura 15** - Variação da CL50 do zinco pela dureza em diferentes valores de pH para *Salmo gairdneri*.

Fonte: Adaptado de BRADLEY e SPRAGUE (1985)

Erickson et al. (1996) sugeriram que, certas vezes, uma função não-linear pode se adequar melhor à influência do pH na toxicidade de um metal para determinada espécie. Wang et al. (2016) propuseram, então, um terceiro modelo, de V invertido, onde existiria um mínimo de toxicidade em um pH ótimo intermediário. Em um estudo da literatura, considerando 10 espécies de metais e diferentes espécies de organismos, os autores chegaram à conclusão de que 42% dos casos seguem o modelo 1 (diminuição da toxicidade com aumento do pH), 18% dos casos seguem o modelo 2 (aumento da toxicidade com aumento do pH) e 24% dos casos seguem o modelo 3 (com um pH ótimo de menor toxicidade). Além disso, 3,5% não mostraram relação do pH com a toxicidade e 12,5% se encaixaram em outros modelos. Algumas espécies de metais apresentaram tendência apenas a um dos modelos (como o alumínio), enquanto outros se encaixam em vários modelos dependendo da espécie do organismo. Os três modelos propostos por Wang et al. (2016) podem ser observados na Figura 16.



**Figura 16** - Principais modelos de variação da toxicidade com o pH propostos por Wang.

Fonte: Adaptado de Wang et al. (2016)

Mukhopadhyay e Konar (1984) reportaram que o cobre era mais tóxico para o copépodo *Cyclops viridis* em pH 6,5 e pH 8,5 do que em pH 7,0, indicando um comportamento condizente com o modelo de pH ótimo (modelo III).

## 5.2 SALINIDADE

A biodisponibilidade e, conseqüentemente, a toxicidade de metais em ambientes marinhos pode variar consideravelmente quando comparada com a de águas doces. A espécie predominante do cobre, por exemplo, em água salgada é a do carbonato ( $\text{CuCO}_3$ ), com uma fração menor de complexos hidroxilados ( $\text{Cu(OH)}^-$  e  $\text{Cu(OH)}_2$ ), que são consideradas normalmente espécies não-biodisponíveis. Além disso, o cobre pode competir com outros cátions na água salgada, diminuindo a acumulação no ligante biótico e sua toxicidade. Assim, um aumento na salinidade pode ter um efeito protetivo contra a toxicidade do Cobre (COOPER et al., 2014).

O aumento na salinidade da solução pode resultar em uma diminuição na concentração de íons livres de metais por conta da complexação por cloretos, além de uma diminuição de sua toxicidade por conta da competição com íons  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  e  $\text{Ca}^{2+}$ . Muitos estudos investigaram a ação da salinidade na toxicidade de metais (BARBIERI e DOI, 2011; PARK et al., 2014; DERUYTTER et al., 2015; BLEWETT et al., 2016).

Além disso, o aumento da concentração de cátions na solução pode diminuir o potencial elétrico negativo da superfície da membrana e, conseqüentemente, reduzir a atração eletrostática da membrana por íons metálicos, diminuindo sua toxicidade (KINRAIDE, 2006; WANG et al., 2011).

Martins et al. (2011) mostraram que a toxicidade do cobre ao decápodo *Callinectes sapidus* foi maior em água com 2 de salinidade do que com 30. Kwok e Leung (2005) também demonstraram que a toxicidade do cobre foi reduzida significativamente para o copépodo *Tigriopus japonicus* com um aumento de salinidade de 15 para 45. Ardiansyah et al. (2012) registraram CL50 do cádmio igual a 450, 690 e 1020  $\mu\text{g L}^{-1}$  para o crustáceo *Litopenaeus vannamei* em salinidade 5, 15 e 27, respectivamente, enquanto para o zinco os valores ficaram em 3780, 5520 e 8910  $\mu\text{g.L}^{-1}$ .

Park et al. (2014) realizaram estudos sobre a toxicidade do cobre e do zinco em função da salinidade e reportaram que: não só houve uma diminuição da toxicidade de ambas as espécies para *T. japonicus* com aumento da salinidade, como também houve diminuição da concentração de íons livres dos metais, sendo mais acentuado para o zinco. Este resultado reforça a hipótese do mecanismo de precipitação dos metais por cloretos, sulfatos e carbonatos presentes na solução. O cobre pode combinar com íons sulfato para precipitar na forma de  $\text{CuSO}_4$  (DU LAING et al., 2008), enquanto o zinco pode formar espécies sólidas carbonatadas (FROST e HALES, 2007).

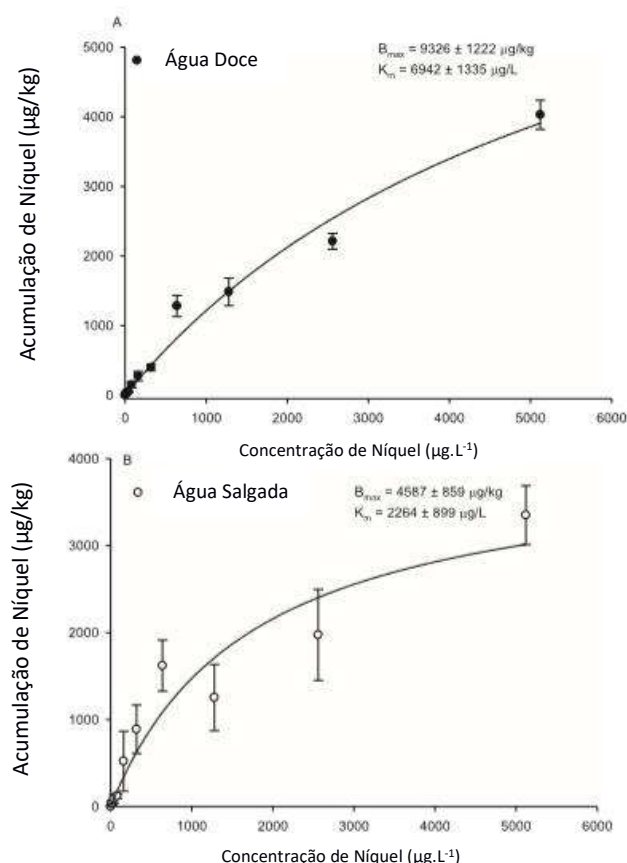
Barbieri et al. (2011) estudaram a variação da toxicidade do zinco em função da salinidade e da temperatura para *Farfantepenaeus paulensis*, um ecologicamente e economicamente importante crustáceo da costa brasileira. Os valores de CL50 obtidos para 24 h de exposição foram 9390, 8780 e 4460  $\mu\text{g.L}^{-1}$  para salinidade 36, 20 e 5, respectivamente. Estes

resultados corroboram com o restante da literatura, mostrando que a toxicidade do zinco diminui com o aumento da salinidade.

Estudos com o peixe *Cyprinodon variegatus* em três salinidades diferentes (15, 20 e 25) mostraram que, quanto maior a salinidade, menores os efeitos do cádmio para os organismos (NEWMAN e JAGOE, 1996). Sunda et al. (1978) já haviam sugerido que os efeitos protetivos do aumento de salinidade podem ser atribuídos à complexação do cádmio por íons cloreto.

Blewett et al. (2016) afirmam que a quantidade de níquel absorvida pelas brânquias do peixe depende de complexantes do Ni (como ânions cloreto e sulfato) e cátions que competem com o  $Ni^{2+}$  (como  $Ca^{2+}$  e  $Mg^{2+}$ ), além de características fisiológicas do organismo. Em seus experimentos, constataram que ocorria um declínio na concentração do íon livre  $Ni^{2+}$  conforme a salinidade aumentava. Em 100% de água salgada, após o íon livre, as espécies mais dominantes foram de  $NiSO_4$ , Ni-DOC,  $NiCl^+$ ,  $NiCO_3^+$  e  $NiCO_3$ . Contudo, a contribuição de  $NiSO_4$  e  $NiCl^+$  caía com o decréscimo de salinidade, o que pode indicar que a formação destes complexos tem relação com a diminuição da toxicidade do níquel.

A Figura 17 mostra os resultados encontrados por Blewett et al. (2016). Em água salgada, é possível observar uma suavização da acumulação de níquel nas brânquias do peixe *C. variegatus* para concentrações elevadas de níquel na água. Em água doce este efeito não é observado.



**Figura 17** - Acumulação do Ni em brânquias de *C. variegatus* em água doce (acima) e salgada (abaixo).

Fonte: Adaptado de BLEWETT et al. (2016)

No entanto, para o cobre, há alguns estudos controversos. Nadella et al (2009) realizaram estudos sobre a influência de matéria orgânica dissolvida e da salinidade sobre a toxicidade do cobre para larvas de mexilhão da espécie *Mytillus trossulus* e constataram que não havia efeito significativo da salinidade na toxicidade do cobre. Deruytter et al. (2015) propuseram um modelo baseado no BLM para analisar a toxicidade do cobre em salinidades e concentrações de matéria orgânica variadas mutualmente. No entanto, o resultado encontrado para a salinidade foi oposto ao previsto pelo BLM, mostrando uma diminuição de 60% na CE50 do  $\text{Cu}^{+2}$  para a salinidade mais alta quando comparada com a mais baixa. Deruytter et al. (2015) sugeriram que este aumento de toxicidade em salinidades mais altas seja devido a uma mudança fisiológica das larvas (*Mytillus galloprovincialis*) e não referente à competição ou especiação do metal. Resultados semelhantes foram observados para outros organismos como o peixe *Fundulus heteroclitus* e o anelídeo *Hediste diversicolor* (GROSSEL et al., 2007).

O cobre é normalmente mais tóxico em água doce por conta de sua capacidade de competir com outros cátions na interação com os sítios sensíveis do organismo. Organismos que são osmoreguladores absorvem sais em água doce e excretam sais em água salgada para manter seu equilíbrio osmótico, aumentando a absorção de cobre em água doce e, assim, sua toxicidade (COOPER et al., 2014). Os resultados apresentados por Cooper et al. (2014) mostram que: aumentando a salinidade de 3 para 30 (aproximadamente a força iônica total da água do mar), sem adição ou com baixas concentrações de matéria orgânica, é observado um efeito protetivo contra a toxicidade do cobre, registrando valores de CL50;48h bem maiores para 30.

Resultados semelhantes foram observados por Arnold et al. (2010) para o rotífero *Brachionus Plicatilis*. Os valores de CL50;24h foram 1,5 vezes maiores para salinidade alta (20-29) com relação a salinidades baixas (6-15). No entanto, para concentrações mais altas de matéria orgânica dissolvida, é observada uma saturação da proteção em altas salinidades (COOPER et al., 2014). O estudo destes dois fatores simultaneamente pode elucidar uma série de comparações entre o efeito da matéria orgânica e de mudanças na salinidade (DERUYTTER et al., 2015).

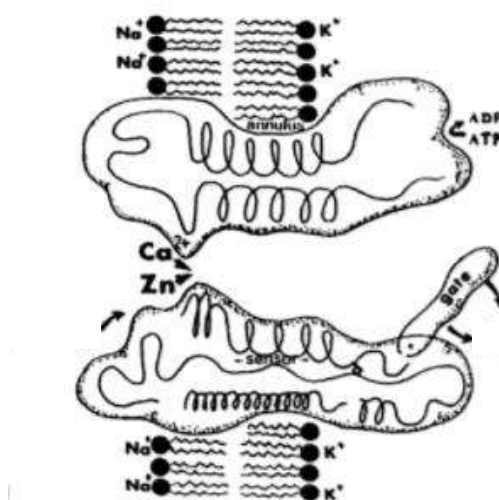
### 5.3 ALCALINIDADE E DUREZA

A dureza é a única variável de qualidade da água que era explicitamente levada em consideração na regulação de águas ambientais para metais divalentes, mediante a incorporação de algoritmos em função da dureza nas leis de regulação, nos Estados Unidos, Austrália, Nova Zelândia, Canadá e outros lugares. Isto porque o aumento da dureza está fortemente relacionado a uma diminuição da toxicidade de muitos metais, incluindo: cobre, cádmio, zinco, níquel e chumbo (GENSEMER et al., 2002; HYNE et al., 2005; MARKICH et al., 2006).

A alcalinidade e o pH da água controlam o equilíbrio entre espécies tóxicas e não-tóxicas, o que leva seus efeitos a serem entendidos de um ponto de vista puramente físico-químicos. No entanto, a dureza (íons  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$ ) não afeta a especiação do metal, mas seus efeitos podem ser entendidos em termos fisiológicos (LAUREN e MCDONALD, 1986). Pagenkopf (1983) sugeriu que íons como o  $\text{Ca}^{2+}$  podem competir com o metal pelos sítios de absorção no organismo, diminuindo assim a toxicidade do metal. A ocupação dos sítios pelo cálcio resulta em um funcionamento normal da membrana, enquanto a ocupação pelo metal causa uma disfunção da célula, sendo a toxicidade observada quando uma porção crítica de células é ocupada por metal (ERICKSON et al., 1996).

É importante separar os efeitos da dureza e da alcalinidade, frequentemente confundidos, pois cada uma dessas variáveis atua em um mecanismo diferente na redução da toxicidade do metal. O efeito de competição do cálcio e do magnésio (semelhante ao de prótons em pH ácido) inibindo a absorção do metal é amplamente aceito para a dureza, enquanto a alcalinidade afeta diretamente a especiação do metal em solução via formação de complexos com carbonato, o que diminui a biodisponibilidade do mesmo (HYNE et al., 2005; MARKICH et al., 2006).

A Figura 18 mostra um esquema do mecanismo de competição do cálcio com outros metais, utilizado para explicar a diminuição da toxicidade destes metais com o aumento da dureza. Como zinco e cádmio competem pelo mesmo canal na membrana, uma maior concentração de cálcio dificulta que mais zinco seja absorvido pela célula (NEWMAN e JAGOE, 1996).



**Figura 18** - Competição entre íons cálcio e zinco pelo canal na membrana celular.

Fonte: Adaptado de NEWMAN e JAGOE (1996).

Desde a inclusão de critérios baseados na dureza para a regulação de águas contaminadas com Cu, o limite superior de dureza para a qual as equações podem ser aplicadas é de 400 mg.L<sup>-1</sup> CaCO<sub>3</sub> nos EUA (USEPA, 2002b). No entanto, a toxicidade do cobre em águas muito duras, como alguns efluentes industriais, pode não ser bem representada por esta equação (VAN GENDEREN et al., 2007).

A composição relativa dos íons relacionados à dureza (Ca<sup>2+</sup> e Mg<sup>2+</sup>) também pode influenciar a toxicidade dos metais à parte da dureza em si. Isto é, a razão Ca:Mg na água pode influenciar na suavização da toxicidade causada pelo aumento da dureza para algumas espécies aquáticas (NADDY et al., 2002). Isto pode ser explicado por conta da força diferente do cálcio e do magnésio para competir com o metal no ligante biótico (GENSEMER et al., 2002).

Markich e Jeffree (1994) calcularam o quanto a absorção de metais traços divalentes, no caso Pb, Cd, Mn e Co, era menor conforme o aumento da presença de Ca na água, baseado no mecanismo de competição que diz que a absorção destes metais traços ocorre por analogia ao cálcio. Para as duas espécies de bivalves de água doce utilizadas (*Hyridella depressa* e *Velesunio ambiguus*) foi observada uma relação inversamente proporcional entre o aumento de

cálcio na água e a absorção dos metais traços, corroborando com a teoria da competição metabólica, já que em todos os casos não deve haver mudanças na especiação dos metais. A Tabela 8 mostra os fatores de inibição na absorção de metais traços pelas duas espécies citadas em relação a um fator de acréscimo de 10 na concentração total de cálcio na água. Os números entre parênteses representam o número de organismos na amostra exposta a cada metal. Segundo os autores, um fator de acréscimo de 10 na concentração de cálcio na água leva, por exemplo, a um fator de inibição na absorção de chumbo por *H. depressa* de 8,82, em uma amostra com 80 indivíduos.

**Tabela 8** - Fatores de inibição na absorção de metais traços por *H. depressa* e *V. ambiguus* ajustados pelo fator de aumento na absorção de Ca.

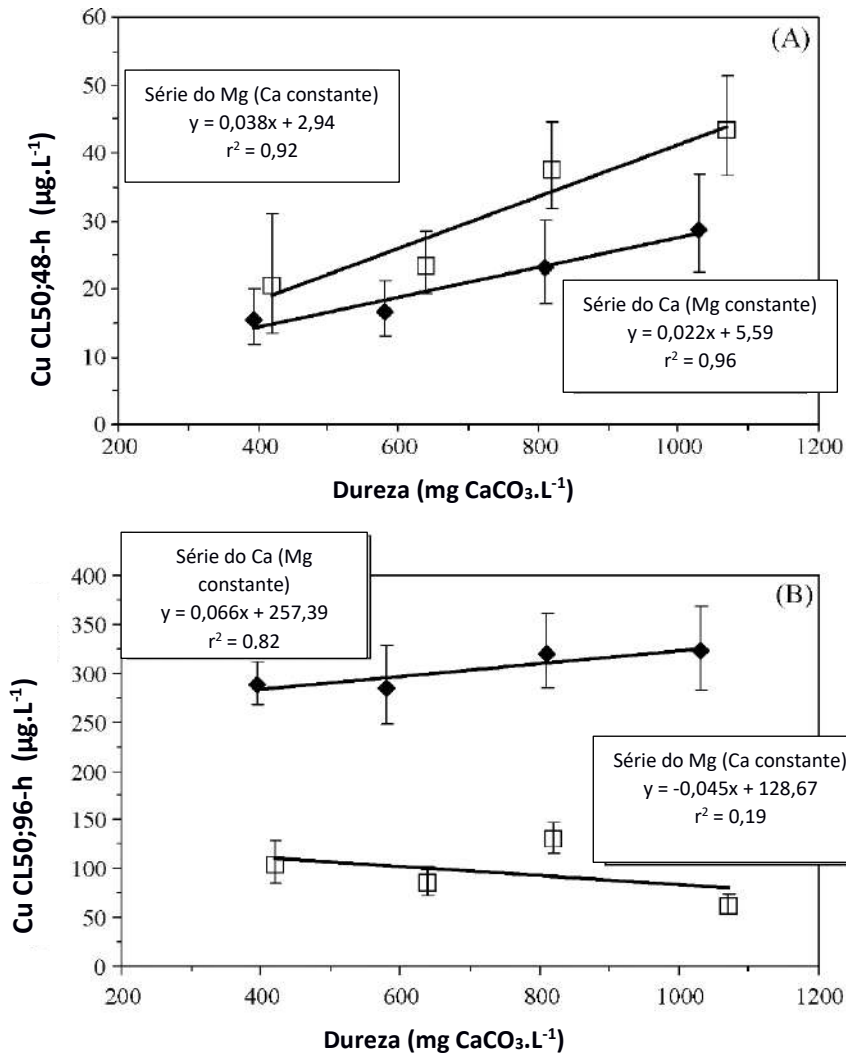
Metal	Espécie	
	<i>H. depressa</i>	<i>V. ambiguus</i>
<b>Mn</b>	8,98 ± 1,98 (64)	10,24 ± 2,30 (64)
<b>Pb</b>	8,82 ± 1,96 (80)	9,43 ± 2,10 (80)
<b>Cd</b>	9,60 ± 2,03 (80)	9,23 ± 2,05 (80)
<b>Co</b>	9,53 ± 2,19 (80)	9,73 ± 2,17 (80)

Fonte: Adaptado de MARKICH e JEFFREE (1994)

Esta relação Ca:Mg é importante ser levada em consideração, pois geralmente ensaios de ecotoxicidade conduzidos em laboratório usam águas com quantidades equivalentes de sulfato de cálcio e sulfato de magnésio, levando a uma proporção 1:1 de Ca:Mg, enquanto águas naturais apresentam proporções que variam de 1.6:1 a 8:1 (NADDY et al., 2002). Contudo, Naddy et al. (2002) mostraram que o efeito que essa proporção tem na toxicidade do cobre varia de fatores como: a espécie do organismo teste, a dureza total da água e, em alguns casos, até mesmo o tempo de exposição. Para *O. mykiss*, maiores proporções Ca:Mg provocaram uma inibição da toxicidade do cobre, assim como para <24 h de exposição *P. promelas*. Já para ensaios crônicos com *P. promelas* (28 dias) a proporção Ca:Mg não faz diferença significativa, assim como para *C. dubia* e *Gammarus sp.* Indo no sentido oposto, ensaios com *Daphnia magna* mostraram que menores proporções Ca:Mg em água dura tiveram maiores valores de CL50, enquanto em durezas menores o efeito foi desprezível.

Gensemmer et al. (2002) concluíram que um aumento na concentração de magnésio na solução era relacionado a um aumento na CE50 de *C. dubia*. De Schemphelaere e Janssen (2002) também observaram forte conexão entre o aumento de Mg<sup>2+</sup> e Ca<sup>2+</sup> e a CE50 de *D. magna*. Assim, ao menos para estas duas espécies, pode-se pensar que o magnésio é tão ou mais importante que o cálcio na regulação da toxicidade do cobre (GENSEMER et al., 2002).

Van Genderen et al. (2007) observaram que para *C. dubia* e *P. promelas*, aumentando a dureza acima do limite de uso das equações regulatórias (400-1200 mg.L<sup>-1</sup> CaCO<sub>3</sub>), o cálcio teve um efeito protetivo claro, aumentando o CL50 em 1,3 e 2,8 vezes, respectivamente para cada espécie. No entanto, o magnésio apresentou efeito protetivo apenas para *C. dubia*, tendo o CL50 de *P. promelas* permanecido relativamente constante. A Figura 19 representa os resultados encontrados pelos autores, onde o círculo cheio representa aumento de dureza pelo acréscimo de Ca, enquanto que o quadrado vazio representa o acréscimo de Mg.

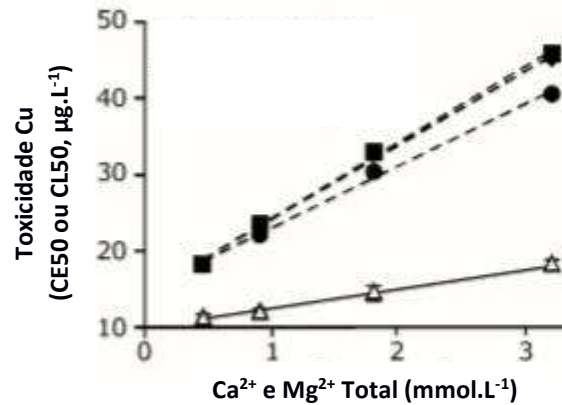


**Figura 19** - Variação da CL50 do Cu para *C. dubia* (A) e *P. promelas* (B) com a dureza.

Fonte: Adaptado de VAN GENDEREN et al. (2007)

Linbo et al. (2009) mostraram que, medindo o efeito tóxico do cobre na linha lateral de *D. rerio*, um aumento da dureza de 45 para 320 mg.L<sup>-1</sup> CaCO<sub>3</sub> provocou um aumento de 50% nas CE50s, independentemente do tipo de cátion (Ca<sup>2+</sup> ou Mg<sup>2+</sup>) utilizado, ou mesmo de uma proporção entre eles, como pode ser observado na Figura 20.

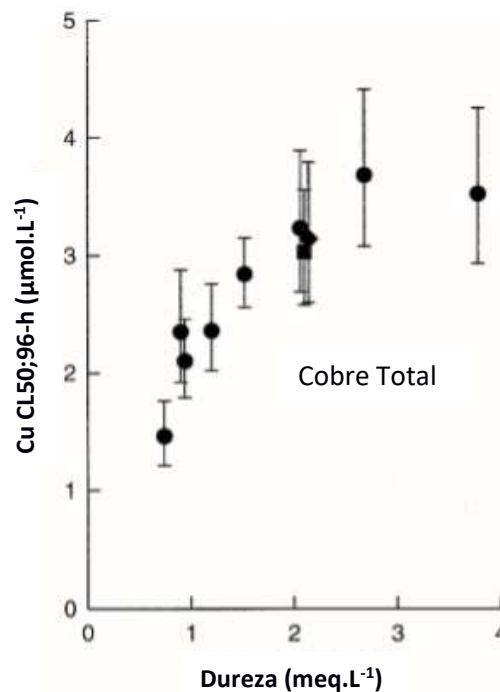




**Figura 20** - Variação da toxicidade do Cu em função da dureza: acréscimo de Ca (quadrado), acréscimo de Mg (losango), acréscimo de uma proporção 2 Ca:1 Mg (círculo) e CE50 da solução original (triângulo).

Fonte: Adaptado de LINBO et al. (2009)

Erickson et al. (1996) calcularam o efeito do aumento da dureza na toxicidade do cobre e observou que, para altos valores de dureza, o efeito da mesma sobre a toxicidade do metal se tornava desprezível, sugerindo um comportamento assintótico (Figura 21). Fica aparente então que o mecanismo de competição não é simples, de primeira ordem, ainda que descreva o processo.

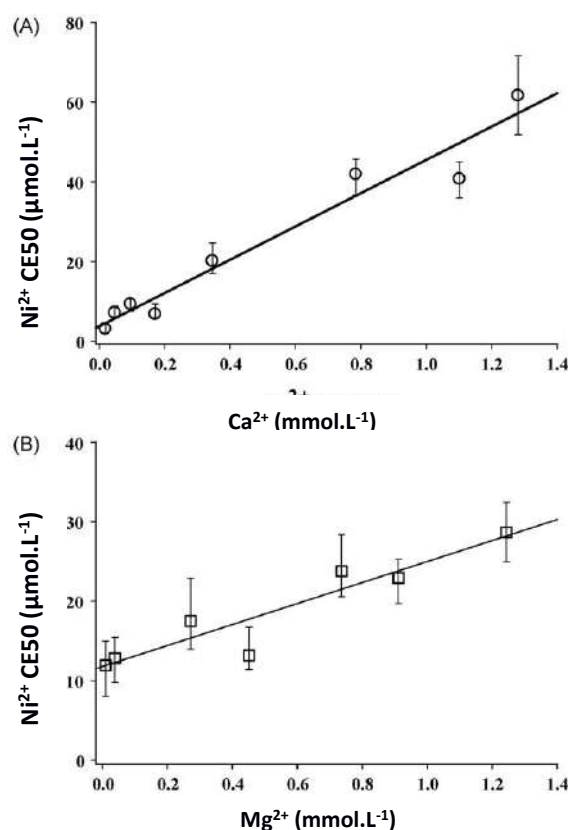


**Figura 21** - Variação da CL50 do Cu com a dureza baseada no cobre total dissolvido.

Fonte: Adaptado de ERICKSON et al. (1996)

Para o níquel, Kozlova et al. (2009) observaram que o efeito protetivo do cálcio era visivelmente maior que o do magnésio para *Daphnia pulex*, ainda que ambos tenham atuado na

CE50 do organismo. Quando a concentração de Ca subia de 0,02 para 1,25 mmol.L<sup>-1</sup>, o valor de CE50;48-h aumentava 18 vezes. Já quando a concentração de Mg subia de 0,01 para 1,44 mmol.L<sup>-1</sup>, o valor de CE50;48-h aumentava em 2,3 vezes (Figura 22).

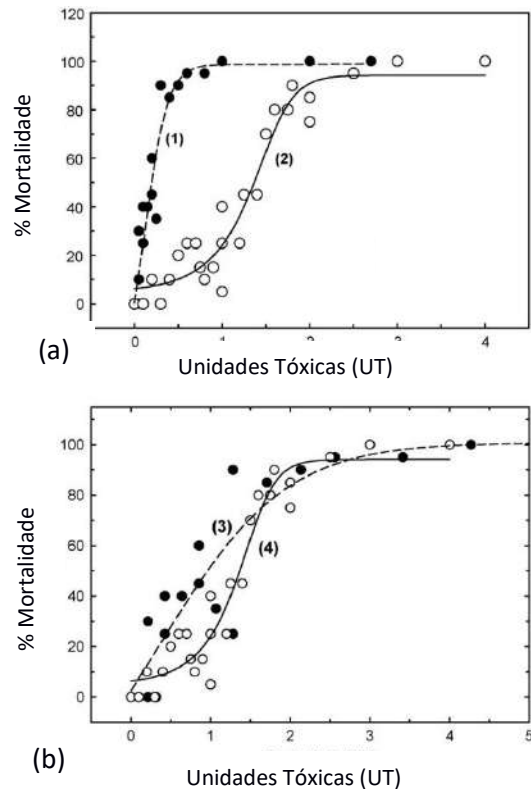


**Figura 22** - Variação da CE50 do Ni<sup>2+</sup> em função da dureza. Em (A) com acréscimo apenas de cálcio e em (B) com acréscimo apenas de magnésio.

Fonte: Adaptado de KOZLOVA et al. (2009)

Yim et al. (2006) fizeram estudos para determinar a influência da dureza em soluções de metais isolados e em misturas de vários metais, de modo a concluir se as CE50s e CL50s previstos para misturas eram corretamente calculados considerando dureza variável. Nos ensaios individuais com *D. magna*, os valores de CL50 encontrados para Cd, Cu, Pb e Zn foram, respectivamente: 3, 4, 95 e 300 µg.L<sup>-1</sup> em água mole e 4, 12, 894 e 1290 µg.L<sup>-1</sup> em água dura. A sensibilidade à dureza se mostrou na ordem Cd < Cu < Zn < Pb com 25, 65, 77 e 88% de decréscimo no CL50 quando água dura era substituída por água mole. No entanto, o cálculo da toxicidade da mistura se mostrou muito próximo da toxicidade real da mesma em toda a faixa de dureza, mostrando que para *D. magna* não existia efeito sinérgico ou antagônico na toxicidade dos metais e que a toxicidade de uma mistura pode ser bem prevista pela soma das toxicidades dos metais isolados, desde que se considere o efeito da dureza.

A Figura 23 mostra em (a) as unidades tóxicas medidas em ensaios ecotoxicológicos e em (b) as unidades tóxicas calculadas a partir da soma das toxicidades dos metais isolados, com correção pela dureza, segundo Yim et al. (2006).



**Figura 23** - Unidades tóxicas (TU) por mortalidade em água mole (círculo cheio) e dura (círculo vazio).

Fonte: Adaptado de YIM et al. (2006)

A alcalinidade, por outro lado, afeta diretamente a biodisponibilidade dos metais, alterando sua especiação. Um aumento na alcalinidade provoca uma maior complexação do cobre por íons carbonato e bicarbonato, diminuindo sua biodisponibilidade (HYNE et al., 2005; GENSEMER et al., 2002; DI TORO et al., 2001). Em altas alcalinidades, o precipitado de zinco é composto principalmente de  $ZnCO_3$ , ao invés do hidróxido (HEIJERICK et al., 2003).

Bradley e Sprague (1985), no entanto, concluíram que para o zinco, aparentemente, a alcalinidade era um fator que influenciava pouco na diminuição de sua toxicidade. Em comparação com trabalhos anteriores, em que houve variação simultânea de alcalinidade e dureza, apenas a variação da dureza (com alcalinidade constante) alcançou efeito protetivo muito próximo, sugerindo que a dureza era o principal fator de diminuição da toxicidade. Eles sugerem que o carbonato de zinco pode ainda ser tóxico para o organismo, ainda que em pequena quantidade.

Bui et al. (2016) também concluíram que obtinha melhores resultados quando levava em conta a contribuição de carbonatos e hidróxidos para a biodisponibilidade do cobre para *Ceriodaphnia cornuta*, *Daphnia lumholtzi* e *Danio rerio*. Os autores afirmam que outros resultados na literatura também sugeriram que espécies carbonatadas de Cu e Zn poderiam contribuir para a biodisponibilidade e toxicidade destes metais para o gastrópodo *Pomacea paludosa*.

Ao contrário, Gensemer et al. (2002) observaram uma variação de 85% na toxicidade do cobre para *C. dubia* quando houve variação da alcalinidade em águas muito duras. Os resultados sugerem que, em águas muito duras, a toxicidade do cobre pode ser subestimada caso leve-se

em consideração apenas o parâmetro da dureza. Alcalinidades baixas ou moderadas em águas muito duras podem resultar em uma maior toxicidade para o cobre e um simples limite de 400 mg.L<sup>-1</sup> na regulamentação das águas pode não ser adequado caso não se leve em conta também a alcalinidade.

#### 5.4 MATÉRIA ORGÂNICA DISSOLVIDA (MOD)

Possivelmente, o efeito mais forte na biodisponibilidade de certos metais, tanto em águas doces quanto salgadas, seja a presença de matéria orgânica dissolvida (MOD) (COOPER et al., 2014). Vários estudos indicam que uma grande parte dos metais encontrados em águas naturais está na forma de complexos metal-MOD. O mecanismo de complexação para a maioria dos metais com a matéria orgânica é a remoção de um próton, seja de um ácido carboxílico ou de um grupo hidroxila, e a posterior ligação desta com o átomo metálico (KOUKAL et al., 2003).

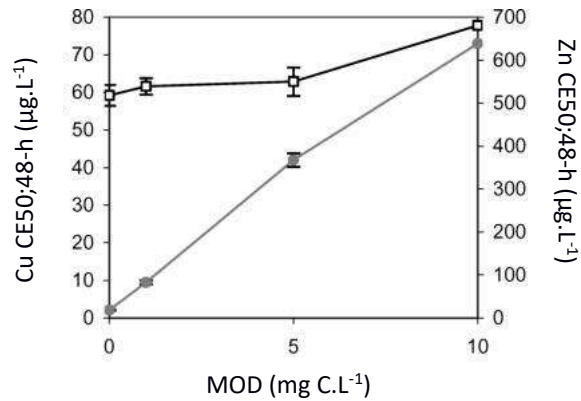
Contudo, a complexação não é o único mecanismo de atuação de MOD sobre a toxicidade de metais. A matéria orgânica também pode ser adsorvida na superfície da célula do organismo, bloqueando a interação desta com os metais (CAMPBELL et al., 1997).

É errôneo, no entanto, afirmar que os complexos orgânicos de cobre, por exemplo, não apresentam toxicidade. Alguns estudos mostraram um aumento na toxicidade relativa ao íon Cu<sup>2+</sup> do cobre quando da adição de alguns complexantes orgânicos e caso esses complexantes sejam mais hidrofóbicos, há a possibilidade de serem biodisponíveis e, conseqüentemente, tóxicos (ERICKSON et al., 1996).

A matéria orgânica natural pode ser classificada em dois grandes grupos: alóctona (terrestre) e autóctona (aquática). O primeiro grupo é composto basicamente de ácidos húmicos, derivados da quebra de ligninas e tendem a apresentar moléculas maiores com mais anéis aromáticos. Precipitam em pH baixo e apresentam coloração que varia do amarelo ao preto. Já o segundo grupo é composto de ácidos fúlvicos, produzidos por atividade microbiana ou de algas ou então pela degradação de matéria alóctona. Tendem a apresentar moléculas menores com menos aromáticos e são solúveis em toda a faixa de pH. Em geral, MOD alóctonas tendem a ser mais protetivas contra a toxicidade de metais (SCHWARTZ et al., 2004; COOPER et al., 2014).

Os cátions metálicos também podem ser classificados em dois tipos. O tipo A (como Ca e Mg), que complexam preferencialmente com ligantes que tem o oxigênio como átomo doador de elétrons (ácidos húmicos, por exemplo) e o tipo B (como o Zn) que complexam preferencialmente com ligantes contendo I, S ou N como átomos doadores (HEIJERICK et al., 2003).

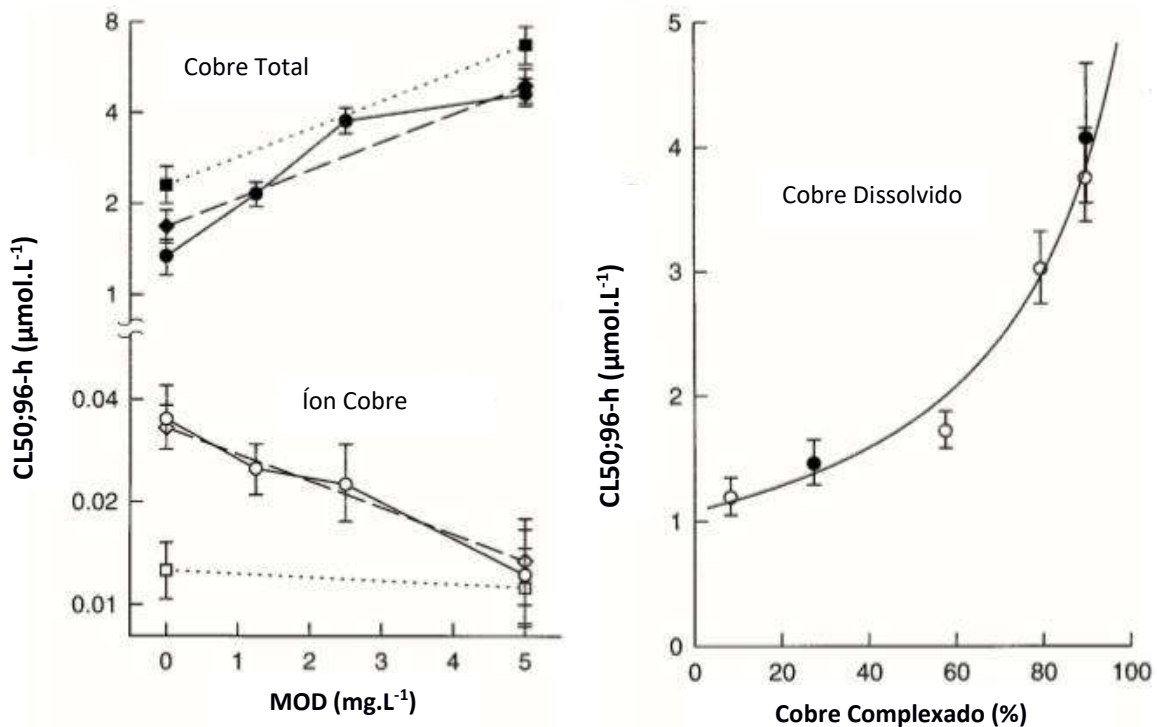
Kim et al. (1999) observaram que a CL50;24h do cobre para *C. dubia* aumentou em 5 vezes quando 2,5 mg.L<sup>-1</sup> MOD foram adicionados à solução (partindo de zero matéria orgânica). Já Markich et al. (2003) mostraram que a CE50;48h do cobre para *H. depressa* aumentou 7 vezes quando 6,5 mg.L<sup>-1</sup> MOD foram adicionados. Hyne et al. (2005) encontraram um aumento no CE50;48h do cobre para *C. dubia* de 45 vezes com a adição de 10 mg.L<sup>-1</sup> de MOD em comparação com a água livre de matéria orgânica. Já para o zinco, Hyne et al. (2005) encontraram uma variação bem menor da toxicidade com o acréscimo de MOD, como pode ser observado na Figura 24.



**Figura 24** - Variação da CE50 de Cu (círculo cheio) e Zn (círculo vazio) para *C. dubia* com a concentração de MOD.

Fonte: Adaptado de HYNE et al. (2005)

Erickson et al. (1996) reportaram que o acréscimo de 5 mg.L<sup>-1</sup> MOD (a partir de 1 mg.L<sup>-1</sup> original) resultou em uma complexação de 90% do cobre e um consequente aumento de 4 vezes na CL50 do cobre total. No entanto, tomando como base o íon Cu<sup>2+</sup>, a toxicidade na prática aumentou (Figura 25). Isto sugere uma aparente toxicidade do complexo cobre-MOD, porém os autores chamam atenção para o fato de que isto não significa que o complexo é inteiramente absorvido pelo organismo. Podem acontecer mudanças de equilíbrio entre o complexo e a membrana, liberando parte do cobre para ser absorvido, além de efeitos indiretos de complexação de outros íons pela MOD, diminuindo a competição com o cobre.



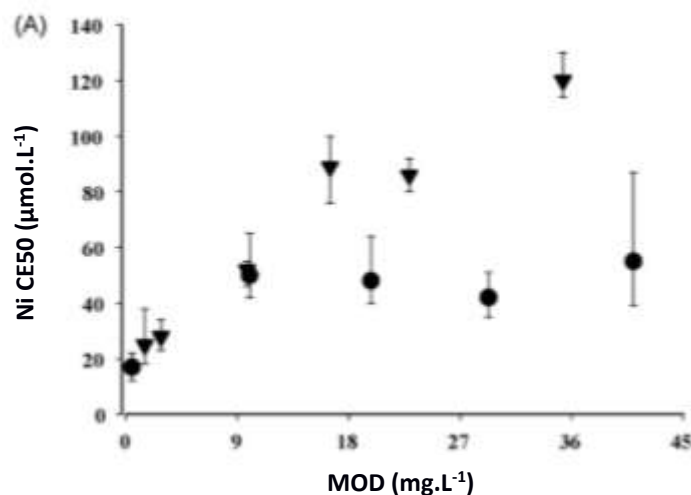
**Figura 25** - Variação da CL50 do Cu para *P. promelas* em função da adição de MOD. Círculos e quadrados representam diferentes grupos de teste.

Fonte: Adaptado de ERICKSON et al. (1996)

A diferença entre os tipos de MOD foi observada por Koukal et al. (2003) que compararam os efeitos na toxicidade do cádmio e do zinco para a alga *Pseudokirchneriella subcapitata* mediante a presença de ácidos húmicos de solo (SHA), de turfa (PHA) e ácidos fúlvicos (SRFA para Ácidos Fúlvicos do Rio Suwannee, em inglês). Os resultados mostraram que a adição de 5 mg.L<sup>-1</sup> de PHA e SHA diminuíram a toxicidade do Cd em fatores de 5 e 2 e do Zn em fatores de 2 e 10. Já o SRFA não apresentou efeito significativo na toxicidade de ambos os metais. Este comportamento pode ser explicado pela maior labilidade dos complexos fúlvicos e pela menor habilidade dos ácidos fúlvicos de blindarem as células da membrana por adsorção, devido a suas cadeias menores.

Esta diferença é significativa, pois em águas superficiais naturais os ácidos húmicos, geralmente, representam uma fração menor da matéria orgânica (4 a 30%), enquanto ácidos fúlvicos são mais expressivos (50 a 90%) (HYNE et al., 2015).

Kozlova et al. (2009) também observaram diferença significativa entre tipos diferentes de MOD, aqui chamados de SRNOM e NRNOM (Matéria Orgânica Natural do Rio *Suwannee* e Matéria Orgânica Natural da Reserva *Nordic*, respectivamente). A toxicidade do Ni para *Daphnia pulex* diminuiu por volta de 3 vezes com um aumento de 0,5 a 41 mg.L<sup>-1</sup> de SRNOM, enquanto que para um aumento de 1,5 a 35 mg/L de NRNOM o decréscimo na toxicidade foi de 5 vezes. Além disso, o efeito protetivo do NRNOM variou quase linearmente com a quantidade, enquanto o do SRNOM pareceu não alterar muito acima de 10 mg.L<sup>-1</sup> (Figura 26). Normalmente, o impacto do acréscimo de MOD para o níquel é relativamente baixo comparado ao de outros metais, provavelmente devido a menores constantes de formação dos complexos Ni-MOD (WU et al. *apud* KOZLOVA et al., 2009).



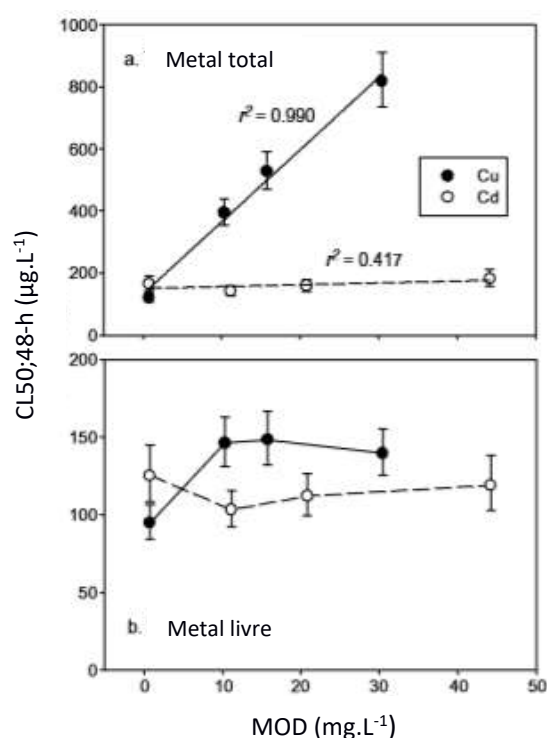
**Figura 26** - Variação da CE50 do Ni para *D. pulex* em função da concentração de MOD. Triângulos representam NRNOM e círculos SRNOM.

Fonte: Adaptado de KOZLOVA et al. (2009)

Schwartz et al. (2004) concluíram que a qualidade de complexação de uma matéria orgânica poderia ser estimada a partir de um teste de absorvância espectroscópica. Em seu trabalho, é utilizado o SAC (Coeficiente de Absorvância Específico), sendo este a absorvância em determinado comprimento de onda (usualmente 300-350 nm) normalizada pela concentração

de matéria orgânica. O SAC se provou uma boa forma de relacionar a força de complexação da MOD. Matérias mais escuras apresentam maior SAC e, conseqüentemente, maior suavização da toxicidade de metais traços. Apesar disso, a correlação do SAC com o TL50 (tempo para a letalidade de 50% dos organismos), para o Cd não foi muito boa, indicando que para este metal o tipo de matéria orgânica talvez não seja um fator determinante na toxicidade.

Tsui et al (2006) mostraram que há realmente um comportamento discrepante da MOD com relação ao cádmio, em comparação com outros metais (Figura 27). Em ensaios com variadas quantidades de MOD para o Cu e o Cd com *D. magna*, os autores observaram que a CL50;48h do cobre aumentou linearmente com o aumento da matéria orgânica de 0,75 a 30 mg.L<sup>-1</sup>, enquanto o do cádmio se manteve sem grandes alterações de 0,75 a 44 mg.L<sup>-1</sup> de matéria orgânica. Como a água de teste destes experimentos tinha dureza alta (em torno de 230 mg CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>) uma explicação razoável é que houve competição do Ca dissolvido com o Cd pelos sítios da MOD.



**Figura 27** - Variação da CL50 do Cu e do Cd para *D. magna* em função da concentração de MOD. Em cima, base de metal total e em baixo, base de íon livre do metal.

Fonte: Adaptado de TSUI et al. (2006)

A explicação do porque o efeito da competição do Ca é importante para o Cd e não para o Cu pode ser por conta da similaridade dos dois primeiros íons. Playle et al (1993) foram surpreendidos por uma ligação muito maior do Cd às brânquias de *P. promelas* com relação ao Cu. Baseando-se apenas nas constantes de adsorção, o cobre deveria ter muito mais tendência a ser absorvido pelas brânquias. A provável razão da preferência pelo Cd é sua similaridade com o Ca e sua conseqüente absorção por canais de alta afinidade de cálcio.

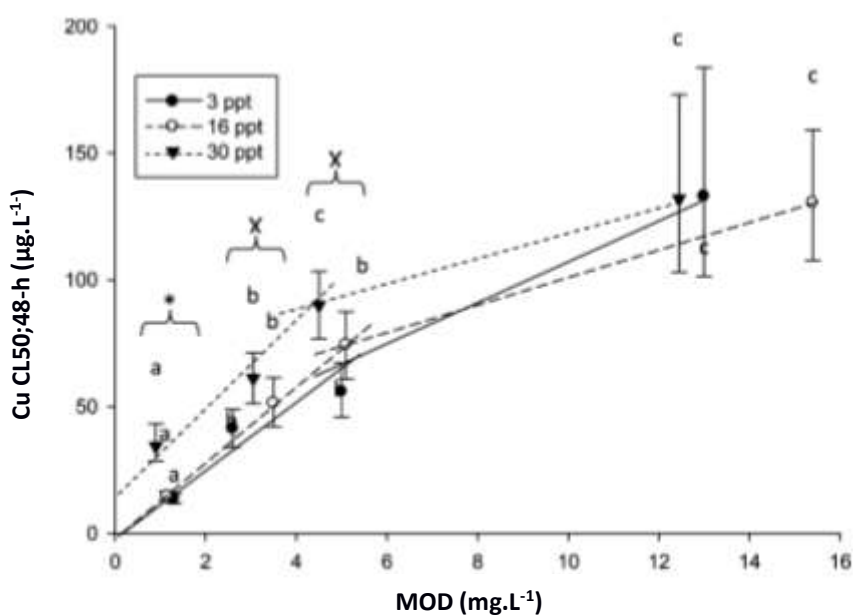
Outros fatores, como salinidade, dureza e pH, afetam a capacidade da MOD de inibição da toxicidade. A força iônica muito maior de águas salgadas, por exemplo, pode afetar a reatividade da matéria orgânica de três maneiras: mudança na atividade tanto de íon metálicos quanto dos grupos funcionais envolvidos na complexação; competição de outros cátions

dissolvidos pelos sítios do ligante; mudanças estruturais como dobramentos, desdobramentos ou formação de coloides (COOPER et al., 2014).

Mudanças no pH também afetam a complexação de metais por MOD. Conforme o pH aumenta, ocorre desprotonação dos sítios ligantes da MOD, o que aumenta a possibilidade de complexação com o metal e reduz sua biodisponibilidade (DI TORO et al., 2001). Playle et al. (1993) observaram que, para Cd e Cu, o tipo de MOD não fazia tanta diferença na toxicidade para peixes. Em uma quantidade acima de  $4,8 \text{ mg.L}^{-1}$  todas as MOD apresentaram efeito protetivo semelhante para os dois metais, sendo que variações maiores foram obtidas com outros aspectos como pH e dureza.

Sciara et al. (2004) encontraram resultados semelhantes, em que a origem da MOD não afetou o efeito protetivo da mesma contra a toxicidade do cobre para *P. promelas*, que foi mais acentuadamente observado em quantidade de matéria orgânica acima de  $5 \text{ mg.L}^{-1}$  em pH 6. No entanto, em pH 8, os efeitos protetivos observados entre  $0,5$  e  $5,0 \text{ mg.L}^{-1}$  foram muito mais expressivos, indicando que altos valores de pH levam a uma maior complexação do cobre pela MOD. Ao contrário dos resultados anteriores, em pH 8 o tipo de MOD parece fazer diferença, o que pode ser explicado pela maior quantidade de sítios desprotonados em ácidos húmicos em relação ao ácidos fúlvicos.

Cooper et al. (2014) concluíram que o acréscimo de MOD varia linearmente com a diminuição da toxicidade do cobre para o rotífero *Brachionus plicatilis* até  $5 \text{ mg.L}^{-1}$  para todas as salinidades. Contudo, em altas salinidades (30) parece haver um ponto de saturação, em que o acréscimo de MOD não afeta significativamente a toxicidade do metal, em contrapartida com baixas salinidades (3) em que o comportamento continua linear para quantidades maiores de MOD. A Figura 28 traz o comportamento da  $CL_{50;48-h}$  do cobre em função do acréscimo de MOD para várias salinidades, onde é possível observar o efeito de saturação sugerido pelos autores. O asterisco indica grandes diferenças entre 30 de salinidade e 3-16, enquanto o "X" indica grandes diferenças entre 30 e 3 de salinidade.



**Figura 28** - Variação da  $CL_{50;48-h}$  do Cu para *B. plicatilis* em função da concentração de MOD para várias salinidades. Letras diferentes significam diferença nos valores de  $CL_{50;48-h}$  para cada salinidade.

Fonte: Adaptado de COOPER et al. (2014)

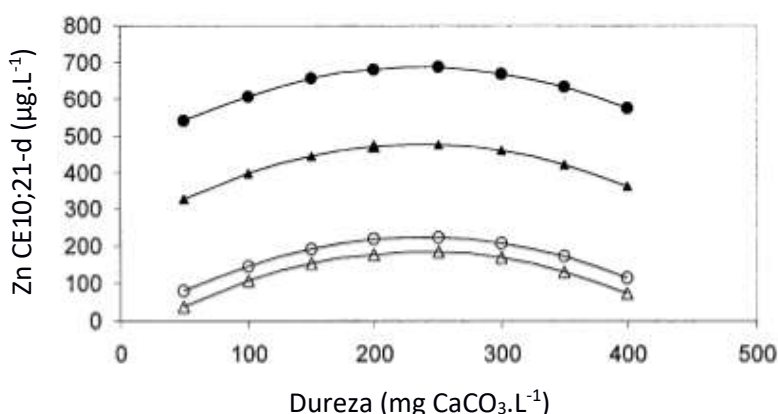


Uma tendência similar foi observada por Nadella et al. (2009), onde o acréscimo de MOD em água salgada para *M. trossolus* de 0 a 10 mg.L<sup>-1</sup> aumentou o CE50;48h do cobre linearmente de 9,4 para 37 µg Cu L<sup>-1</sup>. Já quando a quantidade de MOD foi elevada a 20 mg.L<sup>-1</sup> o CE50 estabilizou, assumindo um valor de 39 µg.L<sup>-1</sup>. Kramer et al. (2004) já haviam mostrado que, para *D. magna*, em água doce, a CE50 do cobre variava linearmente com a quantidade de MOD adicionada, indo de 25 µg.L<sup>-1</sup> com zero MOD, a 100 µg.L<sup>-1</sup> com 5 mg.L<sup>-1</sup> MOD e 300 µg.L<sup>-1</sup> com 15 mg.L<sup>-1</sup> MOD.

Cooper et al. (2014) supuseram que essa diminuição do efeito protetivo de MOD em altas salinidades se dava devido à formação de coloides de matéria orgânica induzida pelo sal. A força entre duas superfícies em um líquido é um balanço entre as forças atrativas de Van der Waals e as forças repulsivas eletroestáticas. Estas diminuem em soluções com alta força iônica devido ao colapso da dupla camada elétrica (CHRISTENSON, 1984). Outras possibilidades são a diminuição da formação de complexos Cu-MOD devido à competição com outros cátions (HEIJERICK et al., 2003) e a dependência das constantes termodinâmicas de formação dos complexos com a força iônica (COOPER et al., 2014).

A competição com íons Ca<sup>2+</sup> e Mg<sup>2+</sup> em altas durezas também pode provocar efeitos na suavização da toxicidade de metais pela MOD. Segundo Heijerick et al. (2003), com o zinco, em durezas superiores a 300 mg.L<sup>-1</sup>, a maior parte dos sítios dos ácidos húmicos estaria ocupada por Ca ou Mg, deixando o Zn livre para ser absorvido pelo organismo. Isto aconteceria por conta dos tipos diferentes de metais, sendo que o zinco tem menos afinidade pelos sítios dos ácidos húmicos que cálcio e magnésio. Ainda segundo os autores, em baixas durezas (110 mg.L<sup>-1</sup> CaCO<sub>3</sub>), 18% do Zn está livre em sua forma lábil, enquanto em dureza média-alta (440 mg.L<sup>-1</sup> CaCO<sub>3</sub>), 31,5% do Zn não está complexado.

A Figura 29, adaptada de Heijerick et al. (2003), mostra este comportamento do zinco em que o valor de sua toxicidade é mais elevado para valores intermediários de dureza. Os símbolos vazados são referentes a uma concentração de MOD de 10 mg.L<sup>-1</sup>, enquanto os símbolos cheios a uma concentração de MOD de 35 mg.L<sup>-1</sup>. Já os triângulos e círculos equivalem a dois valores de pH diferentes, 6,5 e 8,0, respectivamente. Os autores afirmam que estes resultados foram estimados via BLM.



**Figura 29** - Variação da CE10 crônica do Zn para *D. magna* calculado via modelo baseado no BLM. Diferentes símbolos indicam diferentes concentrações de MOD.

Fonte: Adaptado de HEIJERICK et al. (2003)

## 5.5 ASPECTO GERAL

O Quadro 5 traz um resumo do que foi apresentado no presente capítulo, elucidando de forma geral como cada aspecto físico-químico tratado influencia a toxicidade dos metais selecionados para este trabalho.

**Quadro 5** - Aspectos físico-químicos e sua influência geral na ecotoxicidade dos metais.

Aspecto Físico-Químico	Principal Mecanismo	Influência na ecotoxicidade dos metais
<b>pH</b>	Competição dos íons H <sup>+</sup> com o metal pelos sítios ligantes (pH baixo).	Diminui a ecotoxicidade de alguns metais como zinco, níquel e cádmio.
	Mudança na especiação dos metais com a formação de hidróxidos não-lábeis (pH elevado).	Diminui a ecotoxicidade de alguns metais como cobre e chumbo.
<b>Dureza</b>	Competição dos íons Ca <sup>2+</sup> e Mg <sup>2+</sup> com o metal pelos sítios ligantes.	Diminui a ecotoxicidade da maioria dos metais em dureza elevada, porém a proporção Ca:Mg pode tornar este efeito mais ou menos significativo.
<b>Alcalinidade</b>	Mudança na especiação de metais com a formação de carbonatos	Diminui a ecotoxicidade dos metais em alcalinidade elevada, no entanto a biodisponibilidade de alguns carbonatos deve ser considerada
<b>Salinidade</b>	Precipitação de metais com a formação de cloretos, sulfatos e carbonatos; competição de cátions com o metal pelos canais de cálcio ou sódio na membrana	Diminui a ecotoxicidade dos metais em salinidade elevada, em especial para concentrações elevadas do metal
<b>MOD</b>	Complexação do metal; adsorção na membrana, impedindo o acesso do metal ao sítio ligante	Diminui a ecotoxicidade dos metais em concentrações de MOD elevadas, porém o efeito depende do tipo de MOD e de interações com outros aspectos como pH e salinidade

## 6. ECOTOXICIDADE DE METAIS PESADOS EM EFLUENTES INDUSTRIAIS

Efluentes industriais são usualmente apontados como a principal fonte de emissão de diversos poluentes no ecossistema aquático, contendo várias substâncias potencialmente tóxicas para a biota aquática, incluindo metais. Lançar efluentes sem o devido tratamento pode causar vários impactos ambientais nos corpos d'água receptores e, portanto, é importante caracterizar e analisar os potenciais agentes tóxicos presentes nestes para enquadrá-los nos limites legais de lançamento de efluentes e para proteger o ecossistema (FANG et al., 2012).

O emprego de ensaios de toxicidade aguda para metais pesados em efluentes industriais é uma maneira de avaliar possíveis impactos que os mesmos apresentarão no corpo receptor que uma simples análise físico-química do mesmo pode não contemplar (DAMATO et al., 1997). Assim, como visto no capítulo anterior, estudos de ecotoxicidade têm sido realizados em efluentes industriais e valores máximos permissíveis de toxicidade têm sido elaborados e atualizados, em alguns casos para cada tipo de atividade industrial (FURLEY, 2009).

Dorris et al. (1972) identificaram que os principais metais presentes em efluentes de refinaria nos Estados Unidos eram cobre, chumbo, níquel, zinco, cromo, cádmio e ferro e que os mesmos se apresentavam tanto na forma solúvel quanto suspensos em sólidos. Os autores concluíram que, em seus ensaios, estes metais estavam em concentrações muito baixas para causar toxicidade aguda ao crustáceo *Daphnia magna* e ao peixe *Pimephales promelas* e que, de fato, quase todos os efluentes testados não apresentaram toxicidade em ensaios de 96 h para nenhum dos organismos. Já do ponto de vista crônico, mesmo o efluente mais tratado apresentou toxicidade para *P. promelas* em ensaios de 30 dias e as concentrações de cobre, zinco, chumbo e cromo eram altas o suficiente para causar efeitos a longo prazo nos organismos testados.

Chapman et al. (1994) realizaram ensaios em efluentes de duas refinarias no Canadá para identificar sua toxicidade a várias espécies de diferentes níveis tróficos e, possivelmente, os principais agentes tóxicos presentes nos dois efluentes. Os autores concluíram que é muito difícil apontar um único responsável pela toxicidade em misturas tão complexas, mas que os metais, provavelmente, não eram os principais agentes tóxicos, devido ao relativamente elevado pH (7,3-8,3) e à elevada dureza das águas.

Cook et al. (2003) dizem que estudos realizados com efluentes de fábricas de celulose e papel identificaram como principais agentes tóxicos extrativos de madeira, biocidas, polímeros, amônia, sólidos filtráveis, sulfetos e metais. Metais também foram identificados como principais causadores de toxicidade crônica para espécies de *Ceriodaphnia* em uma fábrica de celulose e papel no Japão (FURLEY, 2008).

Um método que tem sido bastante utilizado para a identificação de agentes tóxicos em efluentes é o AIT (Avaliação e Identificação de Toxicidade). Tal método consiste de três fases: a Fase I que é a caracterização da toxicidade, a Fase II que é a identificação da toxicidade e a Fase III que é a confirmação da toxicidade. O AIT se baseia em diversas manipulações na amostra e a análise da redução da toxicidade após cada uma dessas manipulações de modo a tentar identificar qual ou quais substâncias podem ser as principais responsáveis pela toxicidade da amostra (SCHUBAUER-BERINGAN et al., 1993b). Este conjunto de técnicas vem sendo bastante utilizado em diversos países e por diferentes instituições governamentais, acadêmicas e

industriais espalhadas pelos Estados Unidos para identificar a toxicidade de efluentes e assim facilitar a escolha de tratamentos para a redução da toxicidade por parte das empresas (KIM et al., 2008).

Kim et al. (2008) utilizaram o método de AIT para avaliar a toxicidade de efluentes de uma indústria de produção de chapas metálicas para a espécie *Daphnia magna*, na Coreia do Sul, tomando amostras do efluente em três meses subsequentes. No efluente do primeiro mês, os autores observaram que houve redução de toxicidade na passagem da amostra por uma coluna C18 (quase 90% de redução) e também pelo acréscimo de determinada concentração de EDTA, o que os levou a supor que a toxicidade do efluente era principalmente causada por compostos orgânicos e metais. No efluente do segundo mês, a hipótese dos metais ficou mais destacada devido a uma redução da toxicidade com o acréscimo de tiosulfato de sódio, um agente que é capaz de complexar alguns metais catiônicos como, por exemplo, o cobre. Além disso, no terceiro mês, o efluente apresentou toxicidade total inferior aos outros dois meses, sendo que sua concentração de matéria orgânica e dureza eram maiores. Essa diminuição de toxicidade dos metais devido ao aumento da concentração de matéria orgânica e dureza já é esperada, como discutido no Capítulo 5 do presente trabalho.

Kim et al. (2008), após realizar a Fase III do método de AIT, além de confirmar que a toxicidade do efluente testado podia ser atribuída principalmente ao níquel e ao cobre, observaram que uma mistura dos dois metais gerava uma toxicidade não tão alta quanto o acréscimo de cada um deles separadamente, mas que era mais próxima da toxicidade original do efluente. Desta forma, os autores concluíram que cobre e níquel apresentavam um efeito tóxico antagônico. A Tabela 17 abaixo resume as características dos efluentes analisados pelos autores e a toxicidade encontrada para cada um deles.

**Tabela 9 - Características físico-químicas e ecotoxicológicas dos efluentes de indústria de fabricação de chapas metálicas.**

	Dezembro	Fevereiro	Maio	CE50 ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )
<b>pH</b>	6,9	7,1	6,9	
<b>MOD (<math>\text{mg.L}^{-1}</math>)</b>	795	18,8	64,3	
<b>Dureza (<math>\text{mg CaCO}_3\text{.L}^{-1}</math>)</b>	280	282	488	
<b>Cu (<math>\mu\text{g.L}^{-1}</math>)</b>	50	40	>200	10
<b>Ag (<math>\mu\text{g.L}^{-1}</math>)</b>	20	8	25	8
<b>Cr (<math>\mu\text{g.L}^{-1}</math>)</b>	1500	200	<100	810
<b>Ni (<math>\mu\text{g.L}^{-1}</math>)</b>	7200	3250	5800	3190
<b>Toxicidade Inicial (UT)</b>	57,1	13,3	9,9	

Fonte: Adaptado de KIM et al. (2008)

Na tabela, podemos observar o efeito do aumento da dureza e da concentração de matéria orgânica na diminuição da toxicidade do efluente entre os meses de fevereiro e maio. No efluente de dezembro, os autores concluíram que a toxicidade era principalmente causada por compostos orgânicos e os metais apenas contribuía de maneira secundária. Entre dezembro e fevereiro, o efluente passou por um processo de tratamento para remoção de cromo. Apesar da prata também se mostrar um possível agente tóxico em todos os efluentes, os autores não apresentaram os resultados referentes a este metal (KIM et al., 2008).

Fang et al. (2012) analisaram a toxicidade de vários efluentes de diferentes atividades industriais na China, sendo elas: indústria têxtil, de eletrônicos e galvanoplastia, de papel e celulose e de química fina. Também foi analisado o efluente municipal de estações de

tratamento de água da mesma região. Os ensaios também foram feitos com organismos de diferentes níveis tróficos. Os autores observaram que a toxicidade dos efluentes da indústria de eletrônicos foi significativamente maior que dos outros quatro tipos para todas as espécies estudadas. Espécies diferentes também apresentaram sensibilidades distintas para cada efluente, sendo que a alga *Pseudokirchneriella subcapitata* e o microcrustáceo *Ceriodaphnia dubia* foram as mais sensíveis ao efluente da indústria de eletrônicos, enquanto a bactéria *Escherichia coli* apresentou maior sensibilidade que as outras espécies aos outros efluentes.

Em uma segunda etapa do trabalho, Fang et al. (2012) realizaram procedimentos da fase I de AIT para a identificação dos principais agentes tóxicos em cada amostra de efluente e seus resultados indicaram que os metais eram, possivelmente, os principais responsáveis pela toxicidade dos efluentes da indústria de eletrônicos e galvanoplastia, devido a uma grande redução da toxicidade mediante o tratamento com EDTA. Dentre os metais presentes no efluente, os autores apontam que os que mais contribuíram para a toxicidade foram, provavelmente, cobre, níquel e zinco. Apesar de uma possível contribuição da presença de cobre e chumbo para a toxicidade total dos efluentes da indústria têxtil e dos efluentes municipais, os compostos orgânicos foram identificados como os principais responsáveis pela toxicidade de todos os efluentes, exceto os da indústria de eletrônicos. A Tabela 18 a seguir mostra as concentrações destes metais em cada um dos efluentes e seus respectivos valores de toxicidade. Em destaque, a indústria de eletrônicos e galvanoplastia, onde os efluentes apresentaram como principal agente tóxico os metais.

**Tabela 10** - Concentração de alguns metais em diferentes efluentes de várias atividades industriais.

Efluente	Amostra	Concentração de Metais ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )					UT
		Ni	Cu	Zn	Cd	Pb	
Têxtil	S-1	1,8 ± 0,1	5,31 ± 0,1	9,2 ± 0,2	0,03 ± 0,0	1,0 ± 0,0	1,2
	S-2	2,4 ± 0,0	8,5 ± 0,7	25,4 ± 1,1	0,05 ± 0,0	1,7 ± 0,1	1,7
	S-3	130 ± 0,1	8,1 ± 0,4	16,5 ± 0,2	0,07 ± 0,0	1,6 ± 0,1	1,4
Papel e Celulose	S-4	ND	ND	0,02 ± 0,0	ND	ND	1,7
	S-5	5,3 ± 0,1	3,2 ± 0,2	9,9 ± 0,3	0,09 ± 0,0	1,0 ± 0,0	1,4
	P-6	11,9 ± 0,5	4,7 ± 0,2	17,5 ± 0,1	0,05 ± 0,0	1,3 ± 0,0	1,1
Doméstico	S-7	11,6 ± 0,7	52,3 ± 1,1	52,2 ± 3,0	0,16 ± 0,0	25,7 ± 2,0	1,4
	S-8	7,7 ± 0,1	3,3 ± 0,1	35,5 ± 0,5	0,07 ± 0,0	1,4 ± 0,0	1,7
	S-9	21,6 ± 0,7	5,6 ± 0,2	20,5 ± 1,1	0,26 ± 0,0	0,4 ± 0,0	1,6
Eletrônicos e Galvanoplastia	S-10	5,4 ± 0,1	455 ± 8,7	7,1 ± 0,2	0,02 ± 0,0	0,6 ± 0,0	2,4
	S-11	143 ± 3,9	9,8 ± 0,5	15,7 ± 0,6	0,05 ± 0,0	1,4 ± 0,1	1,6
	S-12	469 ± 28,6	87,9 ± 0,3	1150 ± 17,2	0,04 ± 0,0	1,1 ± 0,0	2,0
Química Fina	S-13	0,9 ± 0,0	1,4 ± 0,1	96,3 ± 3,3	0,05 ± 0,0	1,3 ± 0,0	1,3
	S-14	1,5 ± 0,0	3,5 ± 0,1	5,0 ± 0,4	0,04 ± 0,0	0,8 ± 0,0	1,3
	S-15	1,9 ± 0,1	3,2 ± 0,1	20,3 ± 0,2	0,05 ± 0,0	0,9 ± 0,0	1,7

Fonte: Adaptado de FANG et al. (2012)

Como é possível observar, os efluentes da indústria de eletrônicos e galvanoplastia apresentaram, em média, maior toxicidade que os outros e a concentração dos metais cobre,

níquel e zinco nos mesmos é, em geral, consideravelmente maior que nos outros efluentes estudados. O pH encontrado para os efluentes S-10, S-11 e S-12 foi, respectivamente, 7,11, 7,06 e 8,14 (Fang et al., 2012).

Burgess et al. (1995) atentaram para o fato de que métodos de AIT utilizados para efluentes lançados em água doce podiam não ser adequados para aqueles lançados em água salgada. Estender os métodos utilizados para água doce para água salgada implica em considerar que a sensibilidade dos organismos-teste de água doce é mais ou menos a mesma que a daqueles de água salgada, o que pode não ser verdade. Os autores afirmam que, para uma grande variedade de agentes tóxicos, os organismos marinhos apresentam sensibilidade maior do que os de água doce.

Com o objetivo de desenvolver e testar um método de AIT para organismos marinhos, Burgess et al. (1995) testaram e avaliaram a toxicidade de dois efluentes, um de indústria de galvanoplastia e outro doméstico para diferentes espécies, incluindo a alga *Champia parvula*, o ouriço-do-mar *Arbacia punctulata*, o crustáceo *Mysidopsis bahia* e os peixes *Menidia beryllina* e *Cyprinodon variegatus*. No efluente industrial tratado a remoção da toxicidade pela coluna C18 foi mais acentuada, enquanto a complexação com EDTA teve pouco efeito sobre a toxicidade do efluente, o que levou os autores a atribuírem o efeito tóxico aos surfactantes utilizados no tratamento e não a metais. Esta hipótese é bem suportada pelo fato de que o tratamento realizado envolve uma etapa de adição de coagulantes, que tem como objetivo remover os metais, e posterior acréscimo de detergentes que contêm os surfactantes suspeitos de causar a toxicidade observada.

Corroborando com essa conclusão, Ho et al. (1995) já haviam testado este mesmo efluente, antes de passar pelo processo de tratamento citado, via AIT e observaram que só houve redução da toxicidade no processo de acréscimo de EDTA, nenhuma redução sendo observada no processo com a coluna C18. Além disso, nos ensaios com variação de pH, o efluente apresentou maior toxicidade em pH 7,0 do que em pH mais elevado, fato que pode ser relacionado com o aumento da toxicidade de alguns metais em pH mais baixo. A galvanoplastia é uma atividade industrial que comumente apresenta grandes concentrações de metais em seus efluentes (BURGESS et al., 1995). Burgess et al. (1995) também chama atenção para o fato de que o efluente não tratado apresentou 39 unidades de toxicidade para *M. bahia* contra apenas 4 unidades de toxicidade, para a mesma espécie e condições semelhantes, no seu trabalho com o efluente tratado. Desta forma, a toxicidade dos metais ao organismo em questão parece ser mais significativa que a toxicidade exercida pelos detergentes usados no tratamento.

No efluente doméstico, Burgess et al. (1995) encontraram uma grande variedade de resultados dependendo da amostra do efluente coletada. Com relação aos metais, os autores concluíram que chumbo, zinco e cobre podem ter contribuído para a toxicidade total de algumas amostras. A concentração de zinco no efluente doméstico variou de 96 a 370  $\mu\text{g.L}^{-1}$  dependendo da amostra enquanto a de cobre alcançou valores de até 16  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . Estes valores são superiores à CE50;48-h do zinco para *A. punctulata* (121  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) e muito superiores à CE50;48-h do cobre para *C. parvula* (1,4  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ), por exemplo. De modo geral, o efluente industrial apresentou como principal agente tóxico compostos orgânicos, possivelmente surfactantes provenientes do tratamento, enquanto o efluente doméstico apresentou uma variedade de compostos com destaque para orgânicos, metais e amônia.

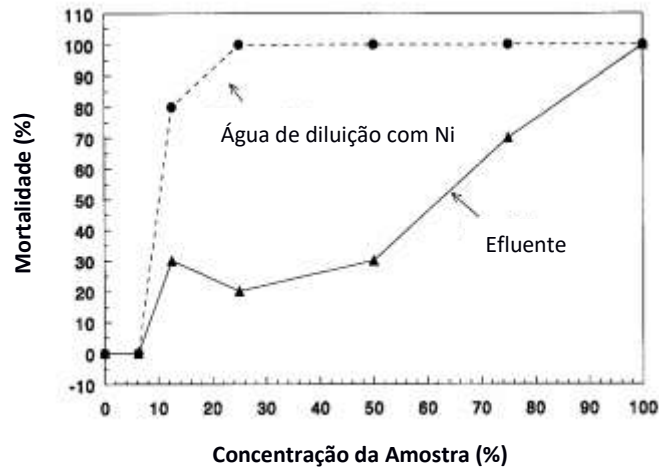
Apesar de hoje em dia os métodos de AIT estarem bem estabelecidos, Schubauer-Beringan et al. (1993b) chamam atenção em seu trabalho para possíveis confusões que os metais

podem causar nos resultados. Segundo os autores, a principal indicação de que a toxicidade da amostra é causada por metais é a redução observada com o acréscimo de EDTA, substância capaz de complexar vários metais divalentes comuns de serem identificados como agentes tóxicos. No entanto, outras etapas da Fase I do AIT como filtração, aeração e ajuste do pH podem apresentar resultados não previstos com a ação tóxica de metais. Além disso, correlações utilizadas na Fase III para a confirmação da toxicidade podem se apresentar fracas quando a toxicidade é principalmente exercida por metais.

Schubauer-Beringan et al. (1993b) aplicaram a metodologia AIT para investigar a toxicidade de três efluentes, sendo um industrial e dois domésticos, utilizando *C. dubia* e *H. azteca* como organismos-teste. Os autores não especificam a atividade que gera o efluente industrial, mas todos os efluentes tinham como suspeita de agente tóxico os metais. Para o efluente industrial, o zinco foi identificado e confirmado como responsável pela toxicidade, sendo que a redução da toxicidade pelo acréscimo de EDTA apresentou comportamento estequiométrico com quantidade de zinco dissolvido e a correlação obtida na Fase III foi forte. Os autores atribuem a boa resposta do método ao fato de que a maior parte do zinco estava, provavelmente, biodisponível devido à baixa dureza e alcalinidade do efluente.

Para o primeiro efluente doméstico, no entanto, houve um comportamento inesperado, onde boa parte da toxicidade do zinco foi removida pelo processo com a coluna C18. Isto não é esperado para metais livres, visto que a coluna C18 supostamente tem uma boa seletividade para compostos orgânicos não-polares, o que levou aos autores à suposição de que o zinco estava associado à matéria orgânica dissolvida, porém que, pelo menos parte deste zinco complexado, era biodisponível para os organismos. As amostras deste efluente também apresentaram uma correlação fraca entre a concentração de zinco e a toxicidade, dependendo da diluição do efluente na amostra. Variando a concentração de zinco no efluente e relacionando com a toxicidade total do efluente gerada, a regressão linear indica uma correlação muito fraca entre estes dois fatores ( $r^2 = 0,31$ ). Para concentrações mais baixas de efluente, a correlação para ser forte, porém ao se aumentar a concentração do efluente a toxicidade prevista em função da concentração de zinco se afasta da realidade. Isto pode ser atribuído à matriz do efluente, que apresenta matéria orgânica dissolvida, capaz de complexar o zinco e alterar sua toxicidade (SCHUBAUER-BERINGAN et al., 1993b).

Para o segundo efluente doméstico, Schubauer-Beringan et al. (1993b) identificaram o níquel como principal agente tóxico, no entanto, mais uma vez a correlação entre a toxicidade do níquel na água de referência e a observada no efluente se mostrou defasada. A complexação pela matéria orgânica é mais destacada neste caso, com o complexo formado, provavelmente, exercendo menos toxicidade que o níquel livre. A Figura 30 ilustra esta situação, mostrando que a toxicidade na água de diluição (referência) é amenizada no efluente para concentrações iguais de níquel total.



**Figura 30** - Mortalidade e concentração da amostra em porcentagem, sendo 100% equivalente a  $45 \mu\text{g.L}^{-1}$  de Níquel.

Fonte: Adaptado de SCHUBAUER-BERINGAN (1993b)

Por fim, Schubauer-Beringan et al. (1993b) também analisaram a toxicidade de águas de sedimentos e identificaram que três metais poderiam ser os responsáveis, pois encontravam-se em concentrações potencialmente tóxicas: zinco, chumbo e cobre. Os autores concluíram que o cobre era o principal responsável pela toxicidade, pois o acréscimo de tiosulfato de sódio causou grande redução da toxicidade e esta substância, segundo Hocket e Mount (1996), pode complexar fortemente alguns cátions metálicos como o cobre, mas complexa fracamente o zinco e o chumbo. Como confirmação da hipótese de que o cobre é o principal agente tóxico nas amostras, os autores ressaltam que nos ensaios de variação de pH, as amostras apresentaram maior toxicidade em pH 6,5 que em pH 8,5, comportamento atribuído à toxicidade do cobre, mas inverso ao do zinco.



## 7. ASPECTOS LEGAIS RELACIONADOS AO LANÇAMENTO DE EFLUENTES LÍQUIDOS E TOXICIDADE

### 7.1 LEGISLAÇÃO NACIONAL

#### 7.1.1 Federal

Na legislação federal, a resolução que trata dos limites para o lançamento de efluentes líquidos em corpos d'água receptores é do Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA), Nº 430 de 13 de maio de 2011 (CONAMA, 2011). Esta resolução acrescenta e altera o artigo 19 da Seção II da resolução CONAMA 357/2005 (CONAMA, 2005) em que são definidas condições para o lançamento de efluentes como:

- pH entre 5,0 e 9,0;
- temperatura inferior a 40° C, sendo que a variação de temperatura no corpo receptor não deverá exceder a 3° C de no limite da zona de mistura;
- regime de lançamento com vazão máxima de até 1,5 vez a vazão média do período de atividade diária do agente poluidor, exceto nos casos permitidos pela autoridade competente.

Além disso, a resolução define valores máximos de concentração de diversos agentes tóxicos, dentre eles os metais analisados no presente trabalho. Estes valores podem ser encontrados na Tabela 9, junto com os valores estabelecidos pelo CONAMA 357/2005 (CONAMA, 2005) para a qualidade das águas.

**Tabela 11** - Limites máximos de metais para o lançamento de efluentes segundo o CONAMA 430/2011 e limites de metais na qualidade das águas segundo CONAMA 357/2005.

Metal	Valor Máximo (em $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) <sup>1</sup>				
	Descarte de Efluente*	Águas Doces Classe 1**	Águas Doces Classe 3**	Águas Salinas Classe 1**	Águas Salinas Classe 2**
Cádmio	200	1	10	5	40
Chumbo	500	10	33	10	210
Cobre	1.000	9	13	5	7,8
Níquel	200	25	25	25	74
Zinco	500	180	5000	90	120

<sup>1</sup> Concentração do metal total, exceto para o cobre, em que os valores são de concentração de cobre livre.

Fonte: Adaptado de \*CONAMA 430/2011 (CONAMA, 2011) e \*\*CONAMA 357/2005 (CONAMA, 2005)

Além disso, o Artigo 18 do CONAMA 430/2011 ressalta que

*o efluente não poderá causar ou possuir potencial para causar efeitos tóxicos nos organismos aquáticos do corpo receptor, de acordo com os critérios estabelecidos pelo órgão ambiental competente (CONAMA, 2011).*

Ainda, no Parágrafo 1º, é determinado que os critérios de toxicidade utilizados pelo órgão ambiental responsável devem ser baseados em ensaios ecotoxicológicos aceitos pelo mesmo, realizados no efluente, utilizando organismos aquáticos de, pelo menos, dois níveis tróficos diferentes.

No entanto, o parágrafo 4º do mesmo Artigo, indica que o órgão ambiental responsável poderá reduzir o número de níveis tróficos necessários, com base na avaliação de séries históricas.

No caso de não haver determinação de critérios de ecotoxicidade pelo órgão ambiental responsável, uma série de diretrizes são enumeradas como padrão no Parágrafo 3º, Artigo 18, Seção II do CONAMA 430/2011 (CONAMA, 2011). Por fim, o Parágrafo 5º, Artigo 18, desta mesma resolução indica que a corpos d'água receptores que não possuem restrições de toxicidade a organismos aquáticos abordadas no CONAMA 357/2005 (CONAMA, 2005) não se aplicam os parágrafos anteriores.

É importante observar que os limites traçados para o lançamento de efluentes na lei federal não levam em consideração a origem ou o tipo de atividade industrial que está gerando o efluente. Alguns padrões foram estabelecidos no Brasil sem considerar as características regionais, ou ainda, a insuficiência de métodos analíticos para detecção de determinadas substâncias (ZAGATTO e BERTOLETTI, 2008).

A seguir, são apresentadas as legislações ambientais estaduais de seis estados brasileiros com relação à toxicidade: Rio de Janeiro, São Paulo, Santa Catarina, Rio Grande do Sul, Minas Gerais e Paraná.

#### 7.1.2 Estaduais

No Rio de Janeiro, as Normas Técnicas referentes ao controle de lançamento e toxicidade de efluentes líquidos industriais são a NT-202.R10 (INEA, 1986), de 4 de dezembro de 1986, e a NT-213.R4 (INEA, 1990) de 4 de setembro de 1990, respectivamente.

Ambas as normas se aplicam a lançamentos diretos e indiretos de efluentes líquidos industriais em águas interiores e costeiras, superficiais ou subterrâneas do Rio de Janeiro, através de quaisquer meios de lançamento, inclusive a rede pública de esgotos. Contudo, a NT-213.R4 não se aplica a efluentes líquidos com salinidade superior a 5% lançados em corpos d'água salobres ou salinos (INEA, 1990).

Também explícitos em ambas as normas estão o fato de que o efluente é considerado como um todo, não sendo permitido diluições do efluente para que o mesmo se torne adequado às normas e de que as condições a serem testadas são as mais desfavoráveis, isto é, de vazão máxima do efluente e mínima do curso d'água. O INEA (Instituto Estadual do Ambiente – INEA) pode também estabelecer limites mais restritivos e redução da toxicidade de efluentes, ainda que estes estejam dentro dos padrões exigidos pelas normas (INEA, 1990).

A NT-202.R10 (INEA, 1986) traz limites estaduais para a concentração de diversos agentes tóxicos no efluente, incluindo os metais, que podem ser encontrados na Tabela 10.

**Tabela 12** - Limites de metais na legislação estadual para lançamento de efluentes no Rio de Janeiro.

Metal	Valor Máximo (em $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	
	NT 202.R10	CONAMA 430/2011
Cádmio	100	200
Chumbo	500	500
Cobre	500*	1.000*
Níquel	1.000	200
Zinco	1.000	500

\*Concentração de cobre total na legislação estadual e de cobre dissolvido na federal.

Fonte: Adaptado de NT-202.R10 (INEA, 1990)

Já a NT-213.R4 (INEA, 1990) define alguns padrões de toxicidade para efluentes industriais como:

- não é permitido o lançamento de efluentes líquidos industriais com  $UT > 8$ , obtido em ensaios de toxicidade com o peixe *Danio rerio*;
- excetuando-se os rios de Classe 4 de acordo com a Resolução CONAMA Nº 357/2005, não é permitido o lançamento contínuo de efluentes líquidos industriais cujo número de unidades de toxicidade aguda supera o valor oito sendo definidas pela Equação 3 abaixo, considerando-se seu limite superior com valor 8 e inferior com valor 2:

$$UT = \frac{Q_{Rio}^{min}}{100 * Q_{Efluente}^{max}} \quad (3)$$

onde, a vazão mínima do rio ( $Q_{Rio}^{min}$ ) é medida pela média de sete dias consecutivos para um intervalo de recorrência de 10 anos, enquanto a vazão máxima do efluente ( $Q_{Efluente}^{max}$ ) corresponde a uma vez e meia a vazão média diária de efluente líquido industrial.

Outros casos específicos são tratados no item 7 desta norma, ressaltando que o INEA pode estabelecer critérios mais rígidos para estes. Por exemplo, o lançamento de efluentes líquidos de indústrias químicas, petroquímicas e siderúrgicas poderão estar sujeitos a exigências adicionais em termos de toxicidade crônica (INEA, 1990).

Em São Paulo, a Resolução SMA-3/2000 (SMA, 2000) instituiu o controle ecotoxicológico de efluentes líquidos no estado, em 22 de fevereiro de 2000. Ela se baseia na bem-sucedida experiência norte-americana de controle de emissões de efluentes líquidos de acordo com a qualidade das águas receptoras (ZAGATTO e BERTOLETTI, 2008). Dessa forma, a Resolução estabelece que, além dos padrões federais, o efluente não deverá causar ou possuir o potencial de causar efeitos tóxicos aos organismos aquáticos no corpo receptor de acordo com as seguintes relações:

$$D. E. R. \leq \frac{CE50ouCL50}{100} \text{ ou } D. E. R. \leq \frac{CENO}{10}$$

em que D.E.R. é a diluição do efluente no corpo receptor, em %. O fator D.E.R. pode ser, então, calculado pela Equação 4 abaixo.

$$D. E. R. = \frac{\text{Vazão média do efluente} \times 100}{\text{Vazão média do efluente} + \text{Vazão de referência do corpo receptor (em } Q_{7,10})} \quad (4)$$

Esta relação só é válida para cursos d'água com margens definidas, como rios, riachos ou córregos. Para ambientes marinhos e estuarinos, ou mesmo para represas, o Parágrafo 3º da Resolução diz que a D.E.R. deverá ser estimada com base no estudo de dispersão do efluente no corpo receptor (SMA, 2000).

Um aspecto interessante desta Resolução (SMA-3/2000) é que os limites de toxicidade estabelecidos podem ser reavaliados, desde que a entidade responsável pela emissão apresente estudos sobre: a toxicidade do efluente a pelo menos três organismos aquáticos, variabilidade da toxicidade ao longo do tempo e dispersão de efluente no corpo receptor, de acordo com o Parágrafo 2º (SMA, 2000)

No estado de Santa Catarina, a Fundação do Meio Ambiente (FATMA) define na Portaria Nº 017/02 os limites máximos de toxicidade aguda para efluentes de diversas origens (FATMA, 2002). Nesta Portaria, fica estabelecido no Artigo 2º que a toxicidade aguda do efluente será obtida mediante ensaios ecotoxicológicos padronizados e seus resultados expressos em termos de Fator de Diluição (FD) (FATMA, 2002).

A Tabela 11 apresenta os limites máximos de toxicidade aguda para ensaios com o microcrustáceo *Daphnia magna* e a bactéria bioluminescente *Vibrio fischeri* como estabelecidos na Portaria Nº017/02 em função de diferentes atividades industriais (FATMA, 2002). Para atividades não listadas na tabela, o Artigo 2º, Parágrafo 4º estabelece que os limites máximos de toxicidade aguda para efluentes líquidos industriais é de FD igual a 8 tanto para *D. magna* como para *V. fischeri*.

Além dessas exigências, os efluentes devem apresentar Porcentagem do Efluente no Corpo Receptor (P.E.R.) menor ou igual ao FD(%) dividido por 2, sendo o P.E.R calculado pela Equação 5 abaixo:

$$P. E. R. = \frac{Q_{em} \times 100}{Q_{em} + Q_{7,10}} \quad (5)$$

sendo  $Q_{em}$  a vazão máxima projetada do efluente e  $Q_{7,10}$  a vazão crítica do corpo receptor, expressa pela média de 7 dias consecutivos com probabilidade de retorno em 10 anos (FATMA, 2002).

**Tabela 13** - Limites máximos de toxicidade aguda por atividade industrial em Santa Catarina.

Origem dos Efluentes		Limites máximos de toxicidade aguda para <i>Daphnia magna</i>	Limites máximos de toxicidade aguda para <i>Allivibrio fischeri</i>
Categoria	Subcategoria	FDd*	FDbl**
Metal mecânica	Siderurgia	4	6
	Metalurgia	4	6
	Galvanoplastia	16	8
Alimentícia	Frigoríficos		
	Abatedouros		
	Laticínios		
	Cerealistas	2	4
	Bebidas		
Resíduos urbanos	Fecularias		
	Alimentos		
	Efluentes de aterros sanitários	8	16
Papel e celulose		2	4
Couros, peles e produtos similares		4	6
Química	Agroquímica		
	Petroquímica		
	Produtos químicos não especificados	2	4
Têxtil	Beneficiamento de fibras naturais e sintéticas, confecção e tinturaria	2	2
Farmacêutica		2	4

\*FDd = Fator de Diluição para *Daphnia magna*.

\*\*FDbl = Fator de Diluição para *Vibrio fischeri*.

Fonte: Portaria Nº 017/012 (FATMA, 2002)

No Rio Grande do Sul, a Resolução CONSEMA Nº 129/2006 (CONSEMA, 2006), de 24 de novembro de 2006, determinava critérios e padrões relacionados à toxicidade de efluentes industriais líquidos. Em seu Artigo 11, são dispostos os seguintes critérios:

- os efluentes não devem apresentar toxicidade aguda quando submetidos a ensaios de toxicidade para organismos-teste de, pelo menos, três níveis tróficos diferentes (FT=1);
- os efluentes não devem apresentar toxicidade crônica quando submetidos a ensaios de toxicidade com organismos-teste de, pelo menos, dois níveis tróficos e genotoxicidade, quando lançados em corpos d'água com vazão inferior a 10 vezes a vazão do efluente;

- para toxicidade crônica e genotoxicidade devem ser observados os critérios previstos no artigo 9º, respeitando o enquadramento de vazão máxima de lançamento em corpos d'água com vazão (Q<sub>min</sub>) igual ou superior a 10 vezes a vazão do efluente;
- decorridos os prazos previstos no artigo 9º, deve ser contemplado somente o período pré-operacional de 12 meses para ausência de toxicidade aguda, com organismos-teste de 3 diferentes níveis tróficos e adicional de 6 meses para ausência de toxicidade crônica com organismos-teste de 2 níveis tróficos e ausência de genotoxicidade;

Sendo que é considerado que os primeiros 12 meses a partir da concessão da licença de operação são pré-operacionais e não contam para os prazos descritos na Resolução. O termo genotoxicidade é definido como sendo *“a capacidade de uma amostra simples ou composta de alterar estrutura ou função da molécula de DNA”* (CONSEMA, 2006).

O Artigo 9º da Resolução CONSEMA Nº 129/2006 (CONSEMA, 2006) apresenta uma tabela com valores de toxicidade aguda e crônica, além de genotoxicidade, que são permitidos para o lançamento em corpos hídricos superficiais. Esta tabela também apresenta prazos específicos para o cumprimento destas especificações em função da vazão máxima de efluente líquido da operação. Os prazos fornecidos foram alterados pela Resolução CONSEMA Nº 251/2010 (CONSEMA, 2010), que no seu Artigo 1º prorroga os prazos determinados pela Resolução CONSEMA Nº 129/2006 (CONSEMA, 2006) em dois anos a contar de dezembro de 2010. Um resumo dos prazos estabelecidos para cada classe de vazão pode ser encontrado na Tabela 12 (ARENZON et al., 2011).

No entanto, a Resolução CONSEMA Nº 129/2006 (CONSEMA, 2006) foi revogada pela Resolução CONSEMA Nº 334/2016 (CONSEMA, 2016) e, no momento, não há outros limites estabelecidos pela legislação do Rio Grande do Sul.

**Tabela 14** - Prazos para redução da toxicidade de efluentes líquidos industriais de acordo com a Resolução CONSEMA Nº 129/2006.

Prazos	Vazão do Efluente (m <sup>3</sup> .dia <sup>-1</sup> )				
	<100	100 a 500	500 a 1.000	1.000 a 10.000	> 10.000
2010				FT = 1	Sem toxicidade crônica e genotoxicidade
2012	1 < FT < 4	1 < FT < 4	1 < FT < 4	Sem toxicidade crônica	
2014			FT = 1		
2016	FT = 1	FT = 1	Sem toxicidade crônica	Sem genotoxicidade	
2018		Sem toxicidade crônica	Sem genotoxicidade		
2020	Sem toxicidade crônica	Sem genotoxicidade			
2022	Sem genotoxicidade				

Fonte: ARENZON et al. (2011)

No Paraná, a Resolução 081/2010 do Conselho Estadual do Meio Ambiente (CEMA) dispõe sobre critérios e padrões de ecotoxicidade para o controle de efluente líquidos lançados em águas superficiais doces, salinas e salobras. Nesta Resolução são listados tipos de efluentes que devem ser submetidos a ensaios de toxicidade, bem como os organismos-teste que devem ser usados para cada um deles. Para os ensaios de ecotoxicidade aguda de efluentes a serem lançados em águas doces, os organismos-teste exigidos são a bactéria *Vibrio fischeri* e o microcrustáceo *Daphnia magna*. Já para os ensaios crônicos eles variam entre o microcrustáceo *Ceriodaphnia dubia* e a alga *Scenedesmus subcapitus* dependendo da atividade industrial de origem (CEMA, 2010).

Os limites de toxicidade para efluentes líquidos são estabelecidos por meio do FT, como no Rio Grande do Sul, sendo que o limite máximo de emissão de ecotoxicidade exigido para o lançamento de efluentes em corpos hídricos é de FT igual a 8, como definido no Artigo 3º, Parágrafo 1º. Para efluentes do tipo galvânico, o limite máximo de toxicidade deve ser de FT igual a 16, utilizando *Daphnia magna*, e de FT igual a 8, utilizando *Vibrio fischeri* e organismos marinhos e estuarinos, definidos nos Parágrafos 2º e 3º do mesmo Artigo. O parágrafo 4º ressalta que os ensaios devem ser realizados para organismos de dois níveis tróficos diferentes e escolhidos entre os relacionados na própria Resolução (CEMA, 2010).

Além disso, também como era estabelecido no Rio Grande do Sul, a Resolução CEMA Nº 081/2010 estabelece metas de diminuição da ecotoxicidade aguda que devem ser cumpridas

em períodos estabelecidos de tempo. A partir do quarto ano após a publicação o limite máximo de ecotoxicidade de efluentes líquidos deveria cair para FT igual a 4, a partir do oitavo ano para FT igual a 2 e para efluentes do tipo galvânico as metas deveriam ser estabelecidas caso a caso nas renovações de licença, objetivando a meta de FT igual a 2 (CEMA, 2010).

A Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERH-MG N.º 1 (COPAM, 2008), de 05 de Maio de 2008, traz os critérios e padrões para lançamento de efluentes líquidos industriais, bem como os critérios estaduais de qualidade das águas em Minas Gerais. Apesar dos últimos serem bem próximos dos limites federais estabelecidos pela Resolução CONAMA N.º 430/2011, o lançamento de efluentes passa por padrões mais rigorosos no estado. O pH do efluente deve estar entre 6,0 e 9,0 (contra 5,0 – 9,0 nos limites federais) e os limites de DQO e DBO são mais detalhados, com destaque para o valor padrão limite específico para indústria têxtil de DQO igual a 250 mg.L<sup>-1</sup>, como estabelecido no Capítulo V, Artigo 29, Parágrafo 4º da Norma (COPAM, 2008).

A Tabela 13 a seguir, traz um comparativo entre os limites padrão federais e de Minas Gérias, estabelecidos na Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERH-MG N.º 1 (COPAM, 2008), para o lançamento de efluentes líquidos industriais em corpos d’água receptores dos metais abordados no presente trabalho.

**Tabela 15** – Comparação entre limites máximos de metais para lançamento de efluentes industriais em Minas Gerais e na legislação federal.

Metal	Valor Máximo (em µg.L <sup>-1</sup> )	
	DNC COPAM/CERH- MG N.º 1	CONAMA 430/2011
<b>Cádmio</b>	100	200
<b>Chumbo</b>	100	500
<b>Cobre</b>	1.000	1.000
<b>Níquel</b>	1.000	2.000
<b>Zinco</b>	5.000	5.000

Fonte: Adaptado de Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERH – Mg N.º 1 (COPAM, 2008) e CONAMA 430/2011 (CONAMA, 2011)

## 7.2 LEGISLAÇÃO INTERNACIONAL

A *Clean Water Act* (CWA) é a lei responsável por estipular a organização de uma regulamentação para lançamento de poluentes em corpos hídricos receptores nos EUA. Ela concede autoridade à Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (*U.S. Environmental Protection Agency* – U.S. EPA) para estabelecer padrões de lançamentos para efluentes domésticos e industriais assim como definir os padrões de qualidade de água (*Water Quality Criteria* – WQC) para contaminantes de águas superficiais (VEIGA e MAGRINI, 2009).

Através do Código de Regulamento Federal, Título 40 (*CFR, Title 40*), foi estabelecido no país um dos instrumentos de controle da poluição dos corpos hídricos nos EUA, o *National Pollutant Discharge Elimination System* (NPDES), uma outorga (VEIGA e MAGRINI, 2009) que aborda a poluição hídrica através da regulação de fontes pontuais, que descarregam poluentes nos corpos hídricos dos EUA. Esta outorga é exigida das fontes pontuais que lançam seus



efluentes em corpos receptores, em que as especificações de lançamento, por tipologia industrial, assim como as tecnologias para controle de lançamento são, respectivamente, definidas e sugeridas pela U.S. EPA. É proibida a operação de qualquer atividade que gere efluentes sem a licença do NPDES (VEIGA e MAGRINI, 2009).

A U.S. EPA divulga, a partir do CFR, Título 40 (ESTADOS UNIDOS DA AMÉRICA, 2017), as diretrizes para o lançamento de efluentes industriais em águas superficiais e estações de tratamento públicas. Estas diretrizes não são baseadas no impacto que os efluentes terão nos corpos receptores, mas sim na melhor tecnologia de remoção de toxicidade economicamente viável para as indústrias. Os valores limites e outros cuidados específicos que devem ser tomados variam com o tipo de atividade industrial fonte do efluente (USEPA, 1991). Na Tabela 14 é apresentado um exemplo de concentração limite de certos agentes tóxicos em efluentes de indústria de fundição de metais, segundo o CFR, Título 40 (ESTADOS UNIDOS DA AMÉRICA, 2017).

**Tabela 16** - Limites de efluentes para indústria de fundição de metais para Best Practicable Control Technology (BPT).

<b>Poluente</b>	<b>Máximo em 1 dia</b>	<b>Máxima média mensal</b>
	<b>(kg.1000 kg<sup>-1</sup> de metal processado)</b>	
<b>Cobre Total</b>	0,0771	0,0421
<b>Chumbo Total</b>	0,0791	0,039
<b>Zinco Total</b>	0,114	0,0431
<b>Óleos e graxas</b>	3,0	1,0

Fonte: Adaptado de Estados Unidos da América (2017)

A toxicidade do efluente (*Whole Effluent Toxicity* – WET) é definida pela U.S. EPA como o efeito tóxico de uma amostra aquosa, como efluentes por exemplo, interpretado através da resposta de organismos-teste após a exposição dos mesmos, durante um período de tempo, a esta amostra. Os *WET tests* adotados pela U.S. EPA avaliam os efeitos dos poluentes nos organismos-teste sem precisar determinar quais poluentes, especificamente, estão presentes no ambiente ao qual os organismos foram expostos. *WET tests* são utilizados pela NPDES para determinar se a operação necessita incluir limites WET no seu controle de efluentes. (USEPA, 1972).

Quanto à qualidade das águas, a U.S. EPA divulga o *Water Quality Criteria*, uma série de métodos e limites que refletem o conhecimento científico mais atual sobre o impacto dos poluentes no ambiente aquático e na saúde humana. Assim como o CONAMA 357/2005 no Brasil, a U.S. EPA apresenta uma tabela com a concentração máxima permitida de vários poluentes que não se espera que ofereça riscos a maioria das espécies em determinado ecossistema. Os governos estaduais e órgãos responsáveis podem então traçar seus próprios limites e metas baseados nesta tabela (USEPA, 1972).

A Tabela 15 traz alguns limites de metais apresentados pelo WQC atual (atualizado em 10 de julho de 2017) normalizados para 100 mg CaCO<sub>3</sub>.L<sup>-1</sup>, por conta da toxicidade destes metais ser reconhecidamente dependente da dureza da água. Na verdade, a U.S. EPA disponibiliza uma tabela em anexo com funções e parâmetros a serem utilizados para cada metal de modo a levar em conta a influência da dureza na sua toxicidade, até o limite de 400 mg CaCO<sub>3</sub>.L<sup>-1</sup>. Pode-se observar também que o cobre não apresenta mais limites estabelecidos, em função da

incorporação do BLM ao cálculo da toxicidade deste metal em cada meio diferente, realizada em 2007 (RYAN et al., 2009).

**Tabela 17** - Limites de toxicidade de alguns metais segundo o WQC.

Poluente	Concentrações limite (em µg.L <sup>-1</sup> )				Ano da publicação
	Águas Doces (Agudo)	Águas Doces (Crônico)	Águas Salinas (Agudo)	Águas Salinas (Crônico)	
<b>Cádmio</b>	1,8	0,72	33	7,9	2016
<b>Cobre</b>	"	"	4,8	3,1	2007
<b>Chumbo</b>	65	2,5	210	8,1	1980
<b>Níquel</b>	470	52	74	8,2	1995
<b>Zinco</b>	120	120	90	81	1995

Fonte: Adaptado de USEPA (2017)

Na Europa, a Diretiva 2010/75/EU do Parlamento Europeu, de 24 de novembro de 2010, estabelece uma abordagem parecida com a dos Estados Unidos, em que os limites máximos para os efluentes industriais e urbanos são definidos a partir das Melhores Técnicas Disponíveis (*Best Available Techniques* – BAT) para a redução da toxicidade. Segundo a própria diretiva, esta abordagem permite uma maior flexibilidade para os órgãos reguladores responsáveis para exigir limites menos rígidos quando o custo do tratamento do efluente for muito maior que o ganho ambiental devido à localização geográfica da planta, condições do ecossistema local ou características técnicas da instalação (UNIÃO EUROPEIA, 2010).

A Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD) é a responsável por estabelecer *Test Guidelines (TG)* e *Guidance Documents (GD)* responsáveis pela definição de critérios dos ensaios de toxicidade aquática e terrestres realizados na União Europeia. No que diz respeito a ensaios ecotoxicológicos aplicados a efluentes é destacado que grande parte da análise de toxicidade é realizada com organismos compactos e que fornecem respostas rápidas, mas não descarta a utilização de peixes. As espécies de peixes, recomendadas para esse tipo de teste, são definidas no TG publicado pela OECD: *Danio rerio*, *Pimephales promelas*, *Cyprinus carpio*, *Oryzias latipes*, *Poecilia reticulata*, *Lepomis macrochirus* e *Oncorhynchus mykiss*. Além dos peixes, os ensaios de ecotoxicidade aquática podem ser realizados com um invertebrado aquático e uma espécie de alga (OECD, 1992).

No Canadá, o controle de efluentes é realizado rigidamente baseado na vazão do mesmo. O SOR/2012-139, anexo do *Fisheries Act*, é o documento legal, de 29 de junho de 2012, que trata da regulamentação do lançamento de efluentes industriais. Além de definir uma série de ações a serem tomadas pela instalação, o operador do sistema de despejo do efluente deve garantir que amostras sejam retiradas periodicamente (dependendo da vazão do efluente despejado) e que ensaios de toxicidade aguda padrão sejam realizados, sendo que o efluente não pode apresentar ecotoxicidade aguda, de acordo com a seção 15, parte I, do documento. No caso da toxicidade ser detectada, o operador deve realizar mais dois ensaios ao longo de um mês, com, pelo menos, sete dias de diferença entre as amostragens e identificar se há ou não a presença de ecotoxicidade aguda (CANADÁ, 2012).

Os ensaios ecotoxicológicos podem ser realizados apenas por laboratórios credenciados pelo *Environmental Quality Act* ou pela ISO/IEC 17025:2005 (*General requirements for the competence of testing and calibration laboratories*) ou ainda que sejam certificados no método de teste utilizado, EPS 1/RM/13 (CANADÁ, 2012). Este método foi publicado em 2000 e revisado

em 2007 e usa a truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) como organismo-teste (ENVIRONMENT CANADA, 2007).

Os padrões de qualidade da água (*Water Quality Guidelines – WQG*) canadenses também são muito bem desenvolvidos. Eles começaram a ser pensados na década de 1970, com a introdução de parâmetros numéricos para medir a qualidade da água baseado na concentração de possíveis agentes tóxicos e evoluíram para um complexo apanhado de métodos, diretrizes e dados que são utilizados para calcular WQG's específicos para cada local e ecossistema. Todas essas informações são disponibilizadas pelo CCME (*Canadian Council of Ministers of the Environment*). Apesar de encorajar a determinação da toxicidade local, o governo canadense disponibiliza limites máximos de toxicidade para metais descritos em função da dureza (CCME 2001). Caso a dureza não seja conhecida, o menor limite deve ser adotado. A Tabela 16 abaixo fornece os menores limites para alguns metais em águas para consumo humano, segundo a legislação canadense vigente (CCME, 2001) e uma comparação com os limites estabelecidos no CONAMA 357/2005 para Águas Doces de Classe I no Brasil.

**Tabela 18** - Limites da concentração de metais segundo os WQG's canadenses e segundo a legislação brasileira.

Metal	Menores limites máximos (em $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	
	<i>Drinking Waters –</i> Canadá	Águas Doces Classe I - Brasil
<b>Cádmio</b>	0,11	1
<b>Cobre</b>	2	9
<b>Chumbo</b>	1	10
<b>Níquel</b>	25	25
<b>Zinco</b>	30	180

Fonte: Adaptado de CCME (2001) e CONAMA 357/2005 (CONAMA, 2005)

## 8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Entender e identificar a ecotoxicidade de metais pesados em efluentes é importante não só para evitar o impacto ambiental provocado pelo descarte dos mesmos, mas também para que as indústrias e empresas possam investir em processos de tratamento efetivos. O estudo da toxicidade dos metais em efluentes industriais realizado no presente trabalho mostra que, muitas vezes, os metais podem ter seus efeitos mascarados ou mesmo confundidos com outras substâncias.

Os aspectos físico-químicos se mostraram muito importantes para a avaliação da toxicidade de metais. Limites fixos de concentração máxima podem não ser suficientes para proteger os corpos hídricos da ação tóxica destas substâncias, devido a uma grande variação de sua ação tóxica com algumas características das águas como pH, dureza, alcalinidade, salinidade e concentração de matéria orgânica. Mesmo ensaios de ecotoxicidade, em efluentes industriais, sintéticos ou em águas naturais, devem levar em consideração os aspectos físico-químicos da amostra em questão de modo a obter resultados representativos da real toxicidade dos metais nestas condições.

Analisando todos os aspectos apresentados, as legislações brasileiras (federal e estaduais) para lançamento de efluentes e até para qualidade das águas parece estar incompleta. Por exemplo, a concentração máxima de cobre permitida em Águas de Classe I, segundo o CONAMA 357/2005 é superior a concentrações apresentadas no capítulo 4 que já causam efeitos tóxicos agudos a alguns organismos, como microcrustáceos.

Legislações ambientais como dos Estados Unidos e do Canadá já levam em consideração os aspectos físico-químicos do corpo hídrico para estabelecer os limites permitidos em suas diretrizes de qualidade das águas. Outros países como Austrália, Nova Zelândia, Coreia do Sul e países da Europa caminham também para a criação de leis que contemplem estes fatores. Uma série de estudos sobre desenvolvimento de modelos de toxicidade de metais e identificação da toxicidade de efluentes podem ser encontrados na literatura para diversos países como China, Estados Unidos, Coreia do Sul, Canadá e Austrália. No entanto, muito pouco pode ser encontrado para o Brasil.

O estudo apresentado no presente trabalho mostrou que:

- 1) os metais podem ser extremamente tóxicos para diversos organismos aquáticos e diferentes espécies podem apresentar maior ou menor sensibilidade aos mesmos, daí a importância da utilização de organismos-teste de diferentes níveis tróficos nos ensaios de toxicidade;
- 2) microcrustáceos, de um modo geral, se apresentaram como sendo os organismos mais sensíveis aos metais, sendo um importante bioindicador desses poluentes, enquanto bactérias apresentaram uma grande toelrância aos metais, não sendo muito indicadas para avaliar o potencial toxicológico de corpos hídricos contaminados ou efluentes quando se suspeita que o principal agente tóxico presente é um metal;

- 3) os parâmetros físico-químicos como pH, dureza, alcalinidade, salinidade e presença de matéria orgânica da água influenciam a toxicidade destes metais, tornando-os mais ou menos tóxicos dependendo das condições e do metal em questão;
- 4) a toxicidade de efluentes industriais, principalmente de indústrias de fundição de metais, de eletrônicos e de galvanoplastia, pode estar relacionada à presença de metais nos mesmos, sendo sua identificação e tratamento muito importantes para evitar impactos ambientais no ecossistema aquático;
- 5) a identificação da toxicidade dos metais em efluentes também está muito relacionada com os aspectos físico-químicos do mesmo, podendo inclusive parâmetros como pH e dureza serem utilizados para diferenciar a toxicidade de alguns metais de outras substâncias ou até mesmo de outros metais;
- 6) mesmo se enquadrando nas legislações ambientais nacionais, os efluentes industriais ainda podem apresentar risco ambiental para os corpos hídricos receptores. A combinação de resultados de ensaios ecotoxicológicos com o conhecimento das características físico-químicas dos corpos receptores é a melhor forma de garantir que eles não apresentarão toxicidade aos organismos e minimizar os impactos ambientais causados pelo descarte;
- 7) a legislação brasileira, tanto a federal quanto as estaduais (mesmo as mais rigorosas), se encontram incompletas em relação ao que se é observado em muitos outros países. Muitos dos limites estabelecidos são elevados e, possivelmente, ainda tóxicos para organismos mais sensíveis.

Por fim, sugere-se que mais estudos sejam realizados com relação à toxicidade de metais em diferentes condições de corpos hídricos brasileiros, com espécies representativas dos ecossistemas encontrados no Brasil. O conhecimento e utilização dos modelos para toxicidade de metais pode ser um bom caminho para traçar limites mais protetivos para a biota sem que se torne necessário realizar ensaios locais muito específicos. Também se sugere que mais estudos sejam dedicados não só à medição da toxicidade de efluentes, mas também à caracterização da mesma, levando-se em conta o principal agente responsável pela toxicidade e as condições físico-químicas do efluente, de modo a estabelecer métodos de tratamento economicamente viáveis para as indústrias, porém que também garantam a proteção dos ecossistemas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABEL. P. D.; PAPOUTSOGLU, S. E. Lethal toxicity of cadmium to *Cyprinus carpio* and *Tilapia aurea*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 37, p. 382 – 386, 1986.
- ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR-12648: Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica – Método de ensaio com algas (Chlorophyceae)**. Rio de Janeiro, 2011.
- ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR-15350: Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica de curta duração – Método de ensaio com ouriço-do-mar (Echinodermata: Echinoidea)**. Rio de Janeiro, 2012a.
- ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR-15411-1: Ecotoxicologia aquática – Determinação do efeito inibitório de amostras aquosas sobre a emissão de luz de *Vibrio fischeri* (ensaio de bactéria luminescente) – Parte 1: Método utilizando bactérias recém-cultivadas**. Rio de Janeiro, 2012b.
- ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR-15411-2: Ecotoxicologia aquática – Determinação do efeito inibitório de amostras aquosas sobre a emissão de luz de *Vibrio fischeri* (ensaio de bactéria luminescente) – Parte 2: Método utilizando bactérias desidratadas**. Rio de Janeiro, 2012c.
- ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR-15411-3: Ecotoxicologia aquática – Determinação do efeito inibitório de amostras aquosas sobre a emissão de luz de *Vibrio fischeri* (ensaio de bactéria luminescente) – Parte 1: Método utilizando bactérias liofilizadas**. Rio de Janeiro, 2012d.
- ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR-15470: Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda e crônica – Método de ensaio com *Hyalella spp* (Amphipoda) em sedimentos**. Rio de Janeiro, 2013.
- ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR-15499: Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica de curta duração – Método de ensaio com peixes**. Rio de Janeiro, 2015a.
- ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR-15469: Ecotoxicologia aquática – Coleta, preservação e preparo de amostras**. Rio de Janeiro, 2015b.
- ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR-12713: Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com *Daphnia spp* (Crustacea, Cladocera)**. Rio de Janeiro, 2016a.
- ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR-15088: Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com peixes (Cyprinidae)**. Rio de Janeiro, 2016b.
- ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR-13373: Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica – Método de ensaio com *Ceriodaphnia spp* (Crustacea, Cladocera)**. Rio de Janeiro, 2017a.

ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR-15308: Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com misídeos (Crustacea)**. Rio de Janeiro, 2017b.

ALLEN, H. E.; HALL, R. H.; BRISBIN, T. D. Metal speciation: effects on aquatic toxicity. **Environmental Science and Technology**, v. 14, n. 4, p. 441 – 443, 1980.

ANDREW, R. W.; BIESINGER, K. E.; GLASS, G. E. Effects of inorganic complexing on the toxicity of copper to *Daphnia magna*. **Water Research**, v. 11, p. 309-315, 1977.

ARAGÃO, M.A.; ARAÚJO, R.P.A. Métodos de ensaios de toxicidade com organismos aquáticos. In ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E. (Ed.). **Ecotoxicologia Aquática: Princípios e Aplicações**. São Paulo: Rima, 2008. p. 117 - 147.

ARDIANSYAH, S. et al. Effect of cadmium and zinc in different salinity levels on survival and osmoregulation of white shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone). **Marine and Freshwater Behaviour and Physiology**, v. 45, p. 291 – 302, 2012.

ARENZON, A.; NETO, T. J. P.; GERBER, W. **Manual sobre toxicidade em efluentes industriais**. Porto Alegre: CEP SENAI, 2011. 40 p.

ARNOLD, W. R.; DIAMON, R. I., SMITH, D. S. The effects of salinity, pH, and dissolved organic matter on acute copper toxicity to the rotifer, *Brachionus plicatilis* ("L" strain). **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 59, p. 225 – 234, 2010.

BABICH, H.; STOTZKY, G. Toxicity of zinc to fungi, bacteria, and coliphages: influence of chloride ions. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 36, n. 6, p. 906 – 914, 1978.

BARBIERI, E.; DOI, S. A. The effects of different temperature and salinity levels on the acute toxicity of zinc in the pink shrimp (*Farfantepenaeus paulensis*). **Marine and Freshwater Behaviour and Physiology**, v. 44, n. 4, p. 251 – 263, 2011.

BELANGER, S. E.; CHERRY, D. S. Interacting effects of pH acclimation, pH, and heavy metals on acute and chronic toxicity to *Ceriodaphnia dubia* (Cladocera). **Journal of Crustacean Biology**, v. 10, n. 2, p. 225 – 235, 1990.

BIESINGER, K. E.; CHRISTENSEN, G. M. Effects of various metals on survival, growth, reproduction, and metabolism of *Daphnia magna*. **Journal of the Fisheries Research Board of Canada**, v. 29, p. 1691 – 1700, 1972.

BLEWETT, T. A. et al. Investigating the mechanisms of Ni uptake and sub-lethal toxicity in the atlantic killifish *Fundulus heteroclitus* in relation to salinity. **Environmental Pollution**, v. 211, p. 370 – 381, 2016.

BORGMANN, U. Metal speciation and toxicity of free metal ions to aquatic biota. In: NRIAGU, J. O. (Editor) **Aquatic Toxicology**. New York: Wiley Interscience, p. 47 – 71, 1983.

BRADLEY, R. W.; SPRAGUE, J. B. The influence of pH, water hardness, and alkalinity on the acute lethality of zinc to rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science**, v. 42, p. 731 – 736, 1985.

BRIX, K. V. et al. Acute and chronic toxicity of nickel to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Environmental Toxicology and Science**, v. 23, n. 9, p. 2221 – 2228, 2004.

- BROWN, P. L.; MARKICH, S. J. Evaluation of the free ion activity model of metal-organism interaction: extension of the conceptual model. **Aquatic Toxicology**, v. 51, p. 177 – 194, 2000.
- BUI, T. L. et al. Copper toxicity and the influence of water quality of Dongnai River and Mekong River waters on copper bioavailability and toxicity to three tropical species. **Chemosphere**, v. 144, p. 872 – 878, 2016.
- BURGESS, R. M. et al. Toxicity characterization of an industrial and a municipal effluent discharging to the marine environment. **Marine Pollution Bulletin**, v. 30, n. 8, p. 524 – 535, 1995.
- BURTON, D. T.; JONES, A. H.; CAIRNS JR, J. Acute zinc toxicity to rainbow trout (*Salmo gairdneri*): confirmation of the hypothesis that death is related to tissue hypoxia. **Journal of the Fisheries Research Board of Canada**, v. 29, p. 1463 – 1466, 1972.
- CAMPBELL, P. G. C.; STOKES, P. M. Acidification and toxicity of metals to aquatic biota. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science**, v. 42, p. 2034 – 2049, 1985.
- CAMPBELL, P. G. C. Interactions between trace metals and aquatic organisms: a critique of the free-ion activity model. In: TESSIER, A.; TURNER, D. R. (Eds.), **Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic Systems**. Wiley, Chichester, p. 45 – 102, 1995.
- CAMPBELL, P. G. C.; TWISS, M. R.; WILKINSON, K. J. Accumulation of natural organic matter on the surfaces of living cells and its implication for the interaction of biota with toxic solutes. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science**, v. 54, p. 2543 – 2554, 1997.
- CANADÁ. Consolidação SOR/2012-139, publicada pelo Governador Geral do Conselho, de junho de 2012, como parte do Fisheries Act. 29 junho 2012. Disponível em <<http://laws-lois.justice.gc.ca/>>. Acesso em: 20 julho 2017.
- CCME – Canadian Council of Ministers of the Environment. **Canadian Environmental Quality Guidelines**. Publicação Nº 1299. 1999, atualizado em 2001.
- CEMA – Conselho Estadual do Meio Ambiente (2010). Resolução nº 081/2010, de outubro de 2010. **Diário Oficial nº 8326 [do] Paraná**, Poder Executivo, Paraná, PR, 19 out. 2010.
- CHAPMAN, P. M. et al. Refinery water (intake and effluent) quality: Update of 1970s with 1990s toxicity testing. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 13, n.6, p. 897 – 909, 1994.
- CHRISTENSON, H. K. DLVO (Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek) theory and solvation forces between mica surfaces in polar hydrogen-bonding liquids. **Journal of The Chemist Society, Faraday Transactions**, v. 80, n. 1, p. 1933 – 1946, 1984.
- CLEMENS, S. Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. **Biochimie**, v. 88, p. 1707 – 1719, 2006.
- CONAMA – Conselho Nacional de Meio Ambiente (2005). Resolução n. 357, de março de 2005. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 18 mar. 2005.
- CONAMA - Conselho Nacional de Meio Ambiente (2011). Resolução nº 430, de maio de 2011. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 13 maio 2011.
- CONSEMA – Conselho Estadual do Meio Ambiente (2006). Resolução CONSEMA nº 129/2006, de novembro de 2006. **Diário Oficial [do] Estado de Rio Grande do Sul**, Poder Executivo, Rio Grande do Sul, RS, 7 dez. 2006.



CONSEMA – Conselho Estadual do Meio Ambiente (2010). Resolução CONSEMA nº 251/2010, de dezembro de 2010. **Diário Oficial [do] Estado de Rio Grande do Sul**, Poder Executivo, Rio Grande do Sul, RS, 16 dez. 2010.

CONSEMA – Conselho Estadual do Meio Ambiente (2010). Resolução CONSEMA nº 334/2016, de dezembro de 2016. **Diário Oficial [do] Estado de Rio Grande do Sul**, Poder Executivo, Rio Grande do Sul, RS, 8 dez. 2016.

COOK, D. et al. **Toxicity Reduction and toxicity identification evaluation response for the pulp and paper industry**. In: 5th INTERNATIONAL CONFERENCE ON FATE AND EFFECTS OF PULP AND PAPER MILL EFFLUENTS. Seattle, 2003.

COOPER, C. A. et al. Influence of salinity and dissolved organic carbon on acute Cu toxicity to the rotifer *Brachionus plicatilis*. **Environmental Science and Technology**, v. 48, p. 1213 – 1221, 2014.

COOPER, N. L.; BIDWELL, J. R.; KUMAR, A. Toxicity of copper, lead, and zinc mixtures to *Ceriodaphnia dubia* and *Daphnia carinata*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 72, p. 1523 – 1528, 2009.

COPAM – Conselho Estadual de Política Ambiental (2008). Declaração Normativa Conjunta COPAM/CERH-MG nº 01, de maio de 2008. **Diário Oficial [do] Estado de Minas Gerais**; Poder Executivo, Minas Gerais, MG, 05 maio 2008.

COSTA, C. R. et al. Toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1820 – 1830, 2008.

CUSIMANO, R. F.; BRAKKE, D. F.; CHAPMAN, G. A. Effects of pH on the toxicities of cadmium, copper, and zinc to steelhead trout (*Salmo gairdneri*). **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science**, v. 43, p. 1497 – 1503, 1986.

DAMATO, M.; SOBRINHO, P. A.; MORITA, D. M. **Determinação da toxicidade aguda de efluentes de refinaria de petróleo em diversas etapas de tratamento para *Daphnia similis***. In: 19º CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL. 1997. Foz do Iguaçu. Anais. p. 199 – 212.

DE SCHAMPHELAERE, K. A. C; JANSSEN, C. R. Refinement and field validation of a biotic ligand model predicting acute copper toxicity to *Daphnia magna*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C**, v. 133, p. 243 – 258, 2002.

DE SCHAMPHELAERE, K. A. C; JANSSEN, C. R. Development and field validation of a biotic ligand model predicting chronic copper toxicity to *Daphnia magna*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 23, n. 6, p. 1365 – 1375, 2004a.

DE SCHAMPHELAERE, K. A. C; JANSSEN, C. R. Bioavailability and Chronic Toxicity of Zinc to Juvenile Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*): Comparison with Other Fish Species and Development of a Biotic Ligand Model. **Environmental Science and Technology**, v. 38, n. 23, p. 6201 – 6209, 2004b.

DE SCHAMPHELAERE, K. A. C; JANSSEN, C. R. Toxicity of lead (Pb) to freshwater green algae: development and validation of a bioavailability model and inter-species sensitivity comparison. **Aquatic Toxicology**, v. 155, p. 348 – 359, 2014.

DERUYTTER, D. et al. Salinity and dissolved organic carbon both affect copper toxicity in mussel larvae: Copper speciation or competition cannot explain everything. **Environmental Toxicology and Chemistry**, 2015. No Prelo.

DI TORO, D. M. et al. Biotic ligand model of the acute toxicity of metals. 1. Technical basis. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 20, n. 10, p. 2383 – 2396, 2001.

DORRIS, T. C.; BURKS, S. L.; CURD, M. R.; WALLER, G. R.; BROEMELING, L. D. **Identification of toxic components in oil refinery effluents and determination of their effects upon the aquatic biota**. Stillwater. (National Technical Information Service PB 213). 50p. 1972.

DU LAING, G. et al. Effect of salinity on heavy metal mobility and availability in intertidal sediments on the Scheldt estuary. **Estuarine and Coastal Shelf Science**, v. 77, p. 589 – 602, 2008.

ERICKSON, R. J. et al. The effects of water chemistry on the toxicity of copper to fathead minnows. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 15, n. 2, p. 181 – 193, 1996.

ESTADOS UNIDOS DA AMÉRICA. Code of Federal Regulations (Annual Edition): Title 40 – Protection of Environment. 1 Julho 2017. Disponível em <<https://www.gpo.gov/fdsys/browse/collectionCfr.action?collectionCode=CFR&searchPath=Title+40&oldPath=&isCollapsed=true&selectedYearFrom=2017&ycord=1400>>. Acesso em 20 julho 2017.

ENVIRONMENT CANADA. **Biological test method - reference method for determining acute lethality of effluents to rainbow trout**. Modificado por último em: maio 2007. 2000. 36 p.

FANG, Y. et al. Use of TIE techniques to characterize industrial effluents in the Pearl River Delta region. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 76, p. 143 – 152, 2012.

FATMA - Fundação do Meio Ambiente de Santa Catarina. Portaria n° 017/02, de 18 de abril de 2002. Limites Máximos de Toxicidade Aguda para Efluentes de Diferentes Origens. 2002

FRANKLIN, N. M. et al. pH-Dependent toxicity of copper and uranium to a tropical freshwater alga (*Chlorella sp.*). **Aquatic Toxicology**, v. 48, p. 275 – 289, 2000.

FRANKLIN, N. M. et al. Toxicity of metal mixtures to a tropical freshwater alga (*Chlorella sp.*): the effect of interactions between copper, cadmium and zinc on metal cell binding and uptake. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 21, n. 11, p. 2412 – 2422, 2002.

FROST, R; HALES, M. Synthesis and vibrational spectroscopy characterisation of synthetic hydrozincite and smithsonite. **Polyhedron**, v. 26, p. 4955 – 4962, 2007.

FURLEY, T. H. **Identificação da causa da toxicidade de efluentes de fábricas de celulose e papel da América Latina**. In: SESSÃO TÉCNICA DE MEIO AMBIENTE ABTCP, 2008.

GADD, G. M.; GRIFFITHS, A. J. Microorganisms and heavy metal toxicity. **Microbial Ecology**, v. 4, p. 303 – 317, 1978.

GENSEMER, R. W. et al. Evaluating the role of ion composition on the toxicity of copper to *Ceriodaphnia dubia* in very hard waters. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C**, v. 133, p. 87 – 97, 2002.

GRANDE, M.; ANDERSEN, S. Lethal effects of hexavalent chromium, lead and nickel on young states of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in soft water. **Votten**, v. 39, p. 405 – 416, 1983.

- GREY, B.; STECK, T. R. Concentrations of copper thought to be toxic to *Escherichia coli* can induce the viable but nonculturable condition. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, n. 11, p. 5325 – 5327, 2001.
- GROSSEL, M. et al. Physiology is pivotal for interactions between salinity and acute copper toxicity to fish and invertebrates. **Aquatic Toxicology**, v. 84, p. 162 – 172, 2007.
- HALL JR, L. W.; SCOTT, M. C.; KILLEN, W. D. Ecological risk assessment of copper and cadmium in surface waters of Chesapeake Bay watershed. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 17, n. 6, p. 1172 – 1189, 1998.
- HEIJERICK, D. G.; JANSSEN, C. R.; DE COEN, W. M. The combined effects of hardness, pH and dissolved organic carbon on the chronic toxicity of Zn to *D. magna*: development of a surface response model. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 44, p. 210 – 217, 2003.
- HEIJERICK, D. G. et al. Development of a chronic zinc biotic ligand model for *Daphnia magna*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 62, p. 1 – 10, 2005.
- HO, K. T. et al. Effects of brine addition on effluent toxicity and marine toxicity identification evaluation (TIE) manipulations. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 14, p. 245 – 249, 1995.
- HOCKETT, J. R.; MOUNT, D. R. Use of metal chelating agents to differentiate among sources of acute aquatic toxicity. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 15, n.10, p. 1687 – 1693, 1996.
- HYNE, R. V. et al. Influence of water chemistry on the acute toxicity of copper and zinc to the cladoceran *Ceriodaphnia cf dubia*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 24, n. 7, p. 1667 – 1675, 2005.
- INEA – Instituto Estadual do Ambiente (1986). Norma Técnica NT-202.R10, de dezembro de 1986. **Diário Oficial [do] Estado do Rio de Janeiro**, Poder Executivo, Rio de Janeiro, RJ, 04 dezembro 1986.
- INEA – Instituto Estadual do Ambiente (1990). Norma Técnica NT-213.R4, de setembro de 1990. **Diário Oficial [do] Estado do Rio de Janeiro**, Poder Executivo, Rio de Janeiro, RJ, 04 setembro 1990.
- JANSSEN, C. R.; HEIJERICK, D. G. Algal toxicity tests for environmental risk assessments of metals. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 178, p. 23 – 52, 2003.
- KEITHLY, J. et al. Acute and chronic toxicity of nickel to a cladoceran (*Ceriodaphnia dubia*) and an amphipod (*Hyalella azteca*). **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 23, n. 3, p. 691 – 696, 2004.
- KIM, S. D. et al. Influence of dissolved organic matter on the toxicity of copper to *Ceriodaphnia dubia*: Effect of complexation kinetics. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 18, n. 11, p. 2433 – 2437, 1999.
- KIM, E. et al. Toxicity identification in metal plating effluent: Implications in establishing effluent discharge limits using bioassays in Korea. **Marine Pollution Bulletin**, v. 57, p. 637 – 644, 2008.

- KINRAIDE, T. B. Plasma membrane surface potential ( $\Psi_{PM}$ ) as a determinant of ion bioavailability: A critical analysis of new and published toxicological studies and a simplified method for the computation of plant  $\Psi_{PM}$ . **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 25, n. 12, p. 3188 – 3198, 2006.
- KÖCK, G.; HOFFER, R. Origin of cadmium and lead in clear softwater lakes of high-altitude and high-latitude, and their bioavailability and toxicity to fish. In: BRAUNBECK, T.; HINSTON, D. E.; STREIT, B. (Editores) **Fish Ecotoxicology**, Suíça, 1998. p. 225 – 257.
- KOUKAL, B. et al. Influence of humic substances on the toxic effects of cadmium and zinc to the green alga *Pseudokirchneriella subcapitata*. **Chemosphere**, v. 53, p. 953 – 961, 2003.
- KOZLOVA, T.; WOOD, C. M.; MCGEER, J. C. The effect of water chemistry on the acute toxicity of nickel to the cladoceran *Daphnia pulex* and the development of a biotic ligand model. **Aquatic Toxicology**, v. 91, p. 221 – 228, 2009.
- KRAMER, K. J. M. et al. Copper toxicity in relation to surface water-dissolved organic matter: Biological effects to *Daphnia magna*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 23, n. 12, p. 2971 – 2980, 2004.
- KWOK, K. W. H.; LEUNG, K. M. Y. Toxicity of antifouling biocides to the intertidal harpacticoid copepod *Tigriopus japonicus* (Crustacea, Copepoda): effects of temperature and salinity. **Marine Pollution Bulletin**, v. 51, p. 632 – 636, 2005.
- LADAGGA, R. A.; BESSEN, R.; SILVER, S. Cadmium-resistant mutante of *Bacillus subtilis* 168 with reduced cadmium transport. **Journal of Bacteriology**, v. 162, p. 1106 – 1110, 1985.
- LAM, P. K. S. et al. Individual and combined effects of cadmium and copper on the growth response of *Chlorella vulgaris*. **Environmental Toxicology**, v. 14, p. 347 – 353, 1999.
- LAUREN, D. J.; MCDONALD, D. G. Effects of copper on branchial ionoregulation in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. **Journal of Comparative Physiology B**, v. 155, n. 5, p. 635-644, 1985.
- LAUREN, D. J.; MCDONALD, D. G. Influence of water hardness, pH, and alkalinity on the mechanisms of copper toxicity in juvenile rainbow trout, *Salmo gairdneri*. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science**, v. 43, p. 1488 – 1496, 1986.
- LES, A.; WALKER, R. W. Toxicity and binding of copper, zinc, and cadmium by the blue-green alga, *Chroococcus parisi*. **Water, Air, Soil Pollution**, v. 23, p. 129 – 139, 1984.
- LINBO, T. L. et al. Effects of water hardness, alkalinity, and dissolved organic carbon on the toxicity of copper to the lateral line of developing fish. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 28, p. 1455 – 1461, 2009.
- MACFIE, S. M.; TARMOHAMED, Y.; WELBOURN, P. M. Effects of cadmium, cobalt, copper, and nickel on growth of the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*: the influences of the cell wall and pH. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 27, p. 454 – 458, 1994.
- MAGER, E. M. et al. Effects of water chemistry on the chronic toxicity of lead to the cladoceran, *Ceriodaphnia dubia*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, p. 238 – 243, 2011.
- MANSOUR, S. A.; ABDEL-HAMMID, A. A.; IBRAHIM, A. W.; MAHMOUD, N.H.; MOSELHY, W. A. Toxicity of some pesticides, heavy metals and their mixtures to *Vibrio fischeri* bacteria and

- Daphnia magna*: comparative study. **Journal of Biology and Life Science**, v. 6, n. 2, p. 221 – 240, 2015.
- MARKICH, S. J.; JEFFREE, A. R. Absorption of divalent trace metals as analogues of calcium by Australian freshwater bivalves: an explanation on how water hardness reduces metal toxicity. **Aquatic Toxicology**, v. 29, p. 257 – 290, 1994.
- MARKICH, S. J.; BROWN P. L.; JEFFREE, R. A.; LIM R. P. The effects of pH and dissolved organic carbon on the toxicity of cadmium and copper to a freshwater mussel: Further support for the extended free ion activity model. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 45, n. 4, p. 479 – 491, 2003.
- MARKICH, S. J.; KING, A. R.; WILSON, S. P. Non-effect of water hardness on the accumulation and toxicity of copper in a freshwater macrophyte (*Ceratophyllum demersum*): how useful are hardness-modified copper guidelines for protecting freshwater biota? **Chemosphere**, v. 65, p. 1791 – 1800, 2006.
- MARTINS, C. D. M. G.; BARCAROLLI I. F.; MENEZES, E. J. et al. Acute toxicity, accumulation and tissue distribution of copper in the blue crab *Callinectes sapidus* acclimated to different salinities: *In vivo* and *in vitro* studies. **Aquatic Toxicology**, v. 101, p. 88 – 99, 2011.
- MOUNT, D. I.; STEPHAN, C. E. Chronic toxicity of copper to the fathead minnow (*Pimephales promelas*) in soft water. **Journal of the Fisheries Research Board of Canada**, v. 26, p. 2449 – 2457, 1969.
- MUKHOPADHYAY, M. K.; KONAR, S. K. Toxicity of copper, zinc and iron to fish, plankton and worm. **Geobios**, v. 11, p. 204 – 207, 1984.
- NADELLA, S. R. et al. Toxicity of dissolved Cu, Zn, Ni, and Cd to developing embryos of the blue mussel (*Mytilus trossolus*) and the protective effect of dissolved organic carbon. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 149, p. 340 – 348, 2009.
- NADDY, R. B. et al. The effect of calcium and magnesium ratios on the toxicity of copper to five aquatic species in freshwater. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 21, n. 2, p. 347 – 352, 2002.
- NASU, Y. et al. Comparative studies on the absorption of cadmium and copper in *Lemna paucicostata*. **Environmental Pollution Series A**, v. 32, p. 201 – 209, 1983.
- NEWMAN, M. C.; JAGOE, C. H. **Ecotoxicology: a hierarchical treatment**. Boca Raton: CRC Press, 1996. p. 67 – 83.
- OECD - Organization for Economic Co-operation and Development. Test N°. 203: Fish, Acute Toxicity Test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2. **OECD Publishing**, Paris, 1992. Disponível em: <<http://www.oecdilibary.org/docserver/download/9720301e.pdf?expires=1448899295&id=id&accname=guest&checksum=782A27D54921AEEB49F9264629840280>>. Acesso em 18 junho 2017.
- OTAH, T.; UDAKA, S. Isolation of cadmium- and mercury- sensitive mutants of *Escherichia coli* and some factors influencing their sensitivities. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 41, p. 461 – 466, 1977.

- PAGENKOPF, G. K. Gill Surface Interaction Model for trace-metal to fishes: role of complexation, pH, and water hardness. **Environmental Science and Technology**, v. 17, n. 6, p. 342 – 347, 1983.
- PAQUIN, P. R. et al. The biotic ligand model: a historical overview. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C**, v. 133, p. 3 – 25, 2002.
- PANE, E. F.; MCGEER, J. C.; WOOD, C. M. Effect of chronic waterborne nickel exposure on two successive generations of *Daphnia magna*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 23, p. 1051 – 1056, 2004.
- PARK, J. et al. Effect of salinity on acute copper and zinc toxicity to *Trigriopus japonicus*: The difference between metal ions and nanoparticles. **Marine Pollution Bulletin**, 2014.
- PETERSON, H. G.; HEALEY, F. P.; WAGEMANN, R. Metal toxicity to algae: a highly pH dependent phenomenon. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 41, p. 974 – 979, 1984.
- PLAYLE, R. C.; WOOD, C. M. Water chemistry changes in the gill micro-environment of rainbow trout: experimental observations and theory. **Journal of Comparative Physiology Series B**, v. 159, p. 527 – 537, 1989.
- PLAYLE, R. C.; GENSEMER, R. W.; DIXON, D. G. Copper accumulation on gills of fathead minnows: influence of water hardness, complexation, and pH of the gill micro-environment. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 11, p. 381 – 391, 1992.
- PLAYLE, R. C.; DIXON, D. G.; BURNISON, K. Copper and cadmium binding to fish gills: modification by dissolved organic carbon and synthetic ligands. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science**, v. 50, p. 2667 – 2677, 1993.
- PYLE, G. G.; SWANSON, S. M.; LEHMKUHL, D. M. The influence of water hardness, pH, and suspended solids on nickel toxicity to larval fathead minnows (*Pimephales promelas*). **Water, Air, Soil Pollution**, v. 133, p. 215 – 226, 2002.
- RADIX, P. et al. Comparison of four chronic toxicity tests using algae, bacteria and invertebrates assessed with sixteen chemicals. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 47, p. 186 – 194, 2000.
- RAINBOW, P. S.; MALIK, I.; O'BRIEN, P. Physicochemical and physiological effects on the uptake of dissolved zinc and cadmium by the amphipod crustacean *Orchestia gammarellus*. **Aquatic Toxicology**, v. 25, p. 15 – 30, 1993.
- RAINBOW, P. S. Trace metal bioaccumulation: models, metabolic availability and toxicity. **Environment International**, v. 33, p. 576 – 582, 2007.
- RATHNAYAKE, I. V. N. et al. Heavy metal toxicity to bacteria – Are the existing growth media accurate enough to determine heavy metal toxicity? **Chemosphere**, v. 90, p. 1195 – 1200, 2013.
- RENSING, C.; GRASS, G. *Escherichia coli* mechanisms of copper homeostasis in a changing environment. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 27, p. 197 – 213, 2003.
- RYAN, A. C.; TOMASSO, J. R., STEPHEN, J. K. Influence of pH, hardness, dissolved organic carbon concentration and dissolved organic matter source on the acute toxicity of copper to *Daphnia magna* in soft waters: implications for the biotic ligand model. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 28, n. 8, p. 1663 – 1670, 2009.

- SANTORE, R. C. et al. Biotic ligand model of the acute toxicity of metals. 2. Application to acute copper toxicity in freshwater fish and *Daphnia*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 20, n. 10, p. 2397 – 2402, 2001.
- SCHUBAUER-BERINGAN, M. K. et al. pH-Dependent toxicity of Cd, Cu, Ni, Pb, and Zn to *Ceriodaphnia dubia*, *Pimephales promelas*, *Hyalella azteca* and *Lumbriculus variegatus*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 12, p. 1261 – 1266, 1993a.
- SCHUBAUER-BERINGAN, M. K. et al. The Behavior and Identification of Toxic Metals in Complex Mixtures: Examples from Effluent and Sediment Pore Water Toxicity Identification Evaluations. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 24, p. 298 – 306, 1993b.
- SCHWARTZ, M. L.; CURTIS, J. P.; PLAYLE, R. C. Influence of natural organic matter source on acute copper, lead, and cadmium toxicity to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 23, n. 12, p. 2889 – 2899, 2004.
- SCHWARTZ, M. L.; VIGNEAULT, B. Development and validation of a chronic copper biotic ligand model for *Ceriodaphnia dubia*. **Aquatic Toxicology**, v. 84, p. 247 – 254, 2007.
- SCIERA, K. L. et al. Influence of multiple water-quality characteristics on copper toxicity to fathead minnows (*Pimephales promelas*). **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 23, n. 12, p. 2900 – 2905, 2004.
- SHEPHERD, K. L.; SIMKISS, K. The effects of heavy metals on Ca<sup>2+</sup> ATPase extracted from fish gills. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B**, v. 61, p. 69 – 72, 1978.
- SIGG, L.; XUE, H. Metal speciation: concepts, analysis, and effects, In: BIDOGLIO, G.; STUMM, W. **Chemistry of Aquatic Systems**. Kluwer Academic Publishers, 1994. p. 153 – 181.
- SMA - Secretaria do Meio Ambiente (2000). Resolução SMA nº 03, de fevereiro de 2000. **Diário Oficial [do] Estado de São Paulo**, Poder Executivo, São Paulo, SP, 22 fev. 2000.
- SMA - Secretaria do Meio Ambiente (2006). Resolução SMA nº 03, de agosto de 2006. **Diário Oficial [do] Estado de São Paulo**, Poder Executivo, São Paulo, SP, 30 ago. 2006.
- SOUPILAS, A. et al. Monitoring of industrial effluent ecotoxicity in the greater Thessaloniki area. **Desalination**, v. 224, p. 261 – 270, 2008.
- SPEHAR, R. L.; FIANDT, J. T. Acute and chronic effects of water quality criteria-based metal mixtures on three aquatic species. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 5, p. 917 – 931, 1986.
- SPRY, D. J.; WIENER, J. G. Metal bioavailability and toxicity to fish in low-alkalinity lakes: a critical review. **Environmental Pollution**, v. 71, p. 243 – 304, 1991.
- STARY, J. et al. Cumulation of zinc, cadmium and mercury on the alga *Scenedesmus obliquus*. **Acta Hydrochimica et Hydrobiologica**, v. 11, p. 401- 409, 1983.
- STAUBER, J. L.; FLORENCE, T. M. The mechanism of toxicity of ionic copper and copper complexes to algae. **Marine Biology**, v. 94, p. 511 – 519, 1987.
- SUNDA, W.; GUILLARD, R. R. L. The relationship between cupric ion activity and the toxicity of copper to phytoplankton. **Journal of Marine Research**, v. 34, p. 511 – 529, 1976.

SUNDA, W. G.; ENGEL, D. W.; THUOTTE, R. M. Effect of chemical speciation on toxicity of cadmium to grass shrimp, *Palaemonetes pugio*: Importance of free cadmium ion. **Environmental and Science Technology**, v. 12, p. 409 – 413, 1978.

TCHOUNWOU, P. B. et al. Heavy Metals Toxicity and the Environment. In: LUCH, A. **Molecular, Clinical and Environmental Toxicology: Volume 3: Environmental Toxicology**, v. 101, p. 133-164, 2012.

TEODOROVIC, I. et al. Sensitivity of bacterial vs. acute *Daphnia magna* toxicity tests to metals. **Central European Journal of Biology**, v. 4, p. 482 – 492, 2009.

TREVORS, J. T.; STRATTON, G. W.; GADD, G. M. Cadmium transport, resistance, and toxicity in bacteria, algae and fungi. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 32, p. 447 – 464, 1986.

TREVORS, J. T.; COTTER, C. M. Copper toxicity and uptake in microorganisms. **Journal of Industrial Microbiology**, v. 6, p. 77 – 84, 1990.

TSUI, M. T. K.; WANG, W.; WONG, M. H. Influences of macroalga-derived dissolved organic carbon on the aquatic toxicity of copper and cadmium. **Chemosphere**, v. 65, p. 1831 – 1835, 2006.

UNIÃO EUROPEIA. Diretiva 2010/75/EU do Parlamento Europeu e do Conselho, de novembro de 2010. **Jornal Oficial da União Europeia**, 24 nov. 2010.

USEPA - United States Environmental Protection Agency (1972). Public Law 92-500, de outubro de 1972. **Federal Water Pollution Control Act Amendments of 1972**, Estados Unidos, US, 18 out. 1972.

USEPA - United States Environmental Protection Agency. **Technical Support Document for Water Quality-Based Toxics Control**. Washington DC: U.S. EPA; 1991.

USEPA – United States Environmental Protection Agency. **National Recommended Water Quality Criteria – Aquatic Life Criteria Table**. 10 julho 2017. Disponível em <<https://www.epa.gov/wqc/national-recommended-water-quality-criteria-aquatic-life-criteria-table>>. Acesso em: 18 Julho 2017.

VAN GENDEREN, E. J. et al. Evaluation of acute copper toxicity to larval fathead minnows (*Pimephales promelas*) in soft surface waters. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 24, n. 2, p. 408 – 414, 2005.

VAN GENDEREN, E. J.; GENSEMER, R.; SMITH C. et al. Evaluation of the Biotic Ligand Model relative to other site-specific criteria derivation methods for copper in surface waters with elevated hardness. **Aquatic Toxicology**, v. 84, p. 279 – 291, 2007.

VEIGA, L. B. E.; MAGRINI, A. **Gestão da Qualidade de Água: O Modelo Brasileiro e o Modelo Americano**. In: INTERNATIONAL WORKSHOP OF ADVANCES IN CLEANER PRODUCTION, 2., 2009, São Paulo.

WANG, W. Factors affecting metal toxicity to (and accumulation by) aquatic organisms – Overview. **Environment International**, v. 13, p. 437 – 457, 1987.

WANG, P. et al. Plasma membrane surface potential: Dual effects upon ion uptake and toxicity. **Plant Physiology**, v. 155, n. 2, p. 808 – 820, 2011.



- WANG, W. Prediction of metal toxicity in aquatic organisms. **Chinese Science Bulletin**, v. 58, p. 194 – 202, 2013.
- WANG, Z.; MEADOR, J. P.; LEUNG, K. M. Y. Metal toxicity to freshwater organisms as a function of pH: a meta-analysis. **Chemosphere**, v. 144, p. 1544 – 1552, 2016.
- WHITTON, B. A.; SAY, P. J.; JUPP, B. P. Accumulation of zinc, cadmium, and lead by the aquatic liverwort *Scapania*. **Environmental Pollution**, v. 3, p. 299 – 316, 1982.
- WILDE, K. L. et al. The effect of pH on the uptake and toxicity of copper and zinc in a tropical freshwater alga (*Chlorella sp.*). **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 51, p. 174 – 185, 2006.
- WINNER, R. W.; FARREL, M. P. Acute and chronic toxicity of copper to four species of *Daphnia*. **Journal of the Fisheries Research Board of Canada**, v. 33, p. 1685-1691, 1976.
- WONG, L. C. et al. Relative sensitivity distribution of freshwater planktonic crustaceans to trace metals. **Human and Ecological Risk Assessments: An International Journal**, v. 15, n. 6, p. 1335-1345, 2009.
- YIM, J. H.; KIM, K. W.; KIM, S. D. Effect of hardness on acute toxicity of metal mixtures using *Daphnia magna*: Prediction of acid mine drainage toxicity. **Journal of Hazardous Materials B**, v. 138, p. 16 – 21, 2006.
- ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia Aquática: Princípios e Aplicações**. 2ª edição. São Carlos: RiMa, 2008. 486 p.